

Université de Montréal

**Modélisation par éléments finis de la micro-indentation du tube
pollinique : rôles de paramètres géométriques**

par
Jean-François Bolduc

Département de Physique
Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.)
en Physique

Juin, 2005

© Jean-François Bolduc, 2005.



QC

3

U54

2006

v.002

Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

**Modélisation par éléments finis de la micro-indentation du tube
pollinique : rôles de paramètres géométriques**

présenté par:

Jean-François Bolduc

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Jean-Yves Lapointe	président-rapporteur
Laurent J. Lewis	directeur de recherche
Anja Geitmann	codirecteur
Isabelle Villemure	membre du jury

Mémoire accepté le: ..11.....11/05

RÉSUMÉ

Le tube pollinique est une cellule végétale située au coeur de la reproduction sexuelle des plantes à fleurs. Il offre un système biologique unique et facilement accessible pour des études dans le domaine de la cytomécanique. Ses propriétés mécaniques ont été étudiées avec un micro-indenteur, un appareil expérimental permettant d'obtenir des données sur la résistance aux déformations mécaniques produites par indentation à l'aide d'une aiguille. Ces travaux furent menés par d'autres chercheurs et ne sont pas le sujet de ce mémoire. Une interprétation des résultats en fonction de l'architecture cellulaire a déjà été publiée [1-4]. Toutefois, cette interprétation de la rigidité cellulaire en fonction sa structure architecturale nécessite une attention particulière. Certains paramètres géométriques difficilement contrôlables ou mesurables tels la géométrie de la cellule, son rayon, l'épaisseur de la paroi cellulaire et le rayon de l'aiguille d'indentation pourraient affecter l'interprétation. C'est pourquoi il est important de connaître leur impact pour la micro-indentation. Le but de la présente recherche est de clarifier le rôle joué par ces paramètres, forme/géométrie et dimensions, à la fois de l'appareillage et de la cellule, susceptibles d'affecter les données de micro-indentation. Des résultats de simulations par la méthode des éléments finis sont présentés et montrent l'influence des quatre facteurs mentionnés ci-haut. Tous ces facteurs ont une influence significative sur la résistance de la cellule :

l'apex est 5 fois plus rigide que la région distale, la rigidité diminue rapidement entre 5 et 16 μm de l'apex et reste approximativement constante en s'éloignant plus de l'apex.

Les tubes polliniques ayant un rayon de 3 μm sont 3 fois plus rigide à l'apex et 5 fois plus rigide en distal que ceux ayant un rayon de 7 μm . La relation rigidité-rayon du tube est linéaire pour l'apex et non-linéaire en distale.

L'épaisseur de la paroi cellulaire est le facteur qui a le plus d'influence dans la

région distale ; une paroi de 300 nm est 27 fois plus rigide qu'une paroi de 100 nm et à l'apex environ 4 fois plus rigide seulement. La relation rigidité-épaisseur paroi est linéaire dans les deux entre 150 et 300 nm.

La comparaison entre des aiguilles d'indentation de rayon variant de 1,5 μm à 5,5 μm montre que la rigidité obtenue est 5 fois plus grande à l'apex et 2 fois plus grande dans la région distale pour les aiguilles de plus grande dimension. L'augmentation de rigidité est plus rapide à l'apex lorsque le rayon de l'aiguille est supérieur à celui du tube. En distale l'augmentation est linéaire.

. Mots-clés : Éléments fins, micro-indentation, tube pollinique, cytomécanique, paroi cellulaire.

ABSTRACT

The pollen tube is a plant cell at the heart of the sexual reproduction of flowering plants. It offers a unique and easily accessible biological system for studies in the field of cytomechanics. Its mechanical properties were previously investigated using micro-indentation, an experimental technique that provides data on the resistance to mechanical deformation performed by an indenting stylus. These results were obtained by other researchers and are not the subject of the present work. An interpretation of those results in terms of the cell structural architecture is already published [1-4]. However, the relation between the stiffness of the cell and its structural architecture requires special attention. Some hardly controllable or measurable experimental parameters like the geometry of the cell, its radius, the thickness of the cell wall and the radius of the stylus could lead to a false interpretation of the micro-indentation data. The aim of the present research is therefore to clarify the role played by parameters such as shape/geometry and dimensions, of both the experimental setup and the cell, on the micro-indentation results. We present data obtained from finite elements simulations showing the influence of the four geometrical factors mentioned above. All these factors prove to have a significant influence on the stiffness of the cell : the stiffness of the apex is fivefold that of the distal region, it decreases rapidly between 5 and 16 μm from the apex whereas further away it remains approximately constant. The pollen tubes with a 3 μm radius are threefold stiffer at the apex and fivefold stiffer in the distal region than those with a 7 μm radius. The relationship between stiffness and pollen tube radius appears almost linear for the apex region, whereas it was rather non-linear for the distal one. The cell wall thickness is the most influential parameter affecting the stiffness of the cell in the distal region ; a 300 nm thick cell wall provides 27 times more rigidity to the cell than a 100 nm cell wall while it provides only 4 times more rigidity at the apex. The stiffness curves are almost linear except for cell wall

thicknesses lower than 150 nm. The stiffness at the apex is highly sensitive to the size of the stylus when its radius exceeds that of the cell and two linear parts could be distinguished in the stiffness curve. The first exhibiting a raise by a factor of 1.7 between 1.5 and 3.5 μm and the second a much steeper increase by a factor of 3 between 3.5 and 5.5 μm for an overall fivefold increase in stiffness for the total range of stylus radii tested. The distal region were not that much affected by the stylus radius but did show a noticable linear twofold increase in stiffness between 1.5 and 5.5 μm stylus radius.

Key-words : Finite-elements, micro-indentation, pollen tube, cytom mechanics, cell wall.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	iv
ABSTRACT	vi
TABLE DES MATIÈRES	viii
LISTE DES TABLEAUX	xi
LISTE DES FIGURES	xii
LISTE DES ANNEXES	xv
REMERCIEMENTS	xvi
PRÉFACE	xvii
CHAPITRE 1 : INTRODUCTION	1
CHAPITRE 2 : REVUE DES CONNAISSANCES	2
2.1 Le tube pollinique	2
2.1.1 Fonction	2
2.1.2 Croissance	2
2.1.3 Architecture	3
2.2 Cytomécanique	7
2.2.1 Modèles d'architecture cellulaire	9
2.2.2 Mécanotransduction	11
2.2.3 Historique des études sur la compression de cellules entre deux plaques	12
2.2.4 Tonométrie	22
2.2.5 Micro-indenteur	23

2.2.6	Microscopie à force atomique	26
2.3	Méthode des éléments finis	30
CHAPITRE 3 :ARTICLE <i>FINITE-ELEMENT ANALYSIS</i>		
 <i>OF GEOMETRICAL FACTORS IN MICRO-</i>		
 <i>INDENTATION OF POLLEN TUBES</i>		33
3.1	Introduction	34
3.2	Micro-indentation	36
3.3	The pollen tube as a model system	36
3.4	Objectives of the modeling approach	38
3.5	Finite-element model of the interaction between pollen tube and micro-indenter	39
3.5.1	Contact areas	39
3.5.2	Micro-indenter stylus	40
3.5.3	Glass bottom	40
3.5.4	Pollen tube	41
3.5.5	Boundary conditions	44
3.5.6	Vertical stylus displacement and type of analysis	45
3.5.7	Positions along the pollen tube	45
3.6	Definition of stiffness	46
3.7	Results	47
3.7.1	Geometry of the tube	47
3.7.2	Pollen tube radius	47
3.7.3	Cell wall thickness	48
3.7.4	Radius of the micro-indenter stylus	50
3.8	Discussion	53
CHAPITRE 4 :DISCUSSION GÉNÉRALE		58

CHAPITRE 5 : AMÉLIORATIONS DU MODÈLE	62
5.1 Paroi cellulaire	62
5.2 Turgescence	62
5.3 Rhéologie du cytoplasme	63
5.4 Cytosquelette	65
CHAPITRE 6 : CONCLUSION	67
BIBLIOGRAPHIE	68

LISTE DES TABLEAUX

3.1	Values of the physical parameters values which are kept constant for all models throughout the four analyses.	42
3.2	Parameters used in the present model. The range of tested values is limited to those that are biologically and technically relevant. . . .	43
3.3	Summary of results, \nearrow (\searrow) X% means increase (or decrease) of the stiffness by X%.	52

LISTE DES FIGURES

2.1	Chemin parcouru par le tube pollinique dans les tissus de la fleur réceptive.	3
2.2	Composition et structure du tube pollinique.	4
2.3	Aspiration par micropipette. Source : Fig. 2 et 4 de Jones et al. 1999 [26].	8
2.4	Schéma de la microsonde à pression. Source : Fig. 1 de Tomos 2000 [12].	9
2.5	Cytométrie par rotation magnétique. Source : Fig. 1 de Fabry et al. 2001 [27].	9
2.6	Illustration du modèle de tenségrité (MT - microtubule, MF - microfilament ou filament d'actine). Source : Fig. 2 de Ingber 2003 [28]. .	10
2.7	Illustration du modèle de solide alvéolaire. Source : Fig. 1 de Wendling et al. 2000 [29].	11
2.8	Illustration du modèle cellulaire de membrane entourant un fluide. Source : Fig. 2 de Hiramoto 1963 [30].	12
2.9	Oeuf d'oursin vu au microscope. Source : © Exploratorium — The museum of science, art and human perception [37].	13
2.10	Schéma illustrant l'expérience de Cole sur la compression d'un oeuf d'oursin entre deux plaques parallèles. Source : Fig. 1 de Cole 1932 [38].	14
2.11	Illustration du modèle de Cheng. Source : Fig. 1 de Cheng 1987 [46].	17
2.12	Schéma du montage pour la compression entre deux plaques de Liu et al. Source : Fig. 1 de Liu et al. 1996 [47].	19
2.13	Modèle par éléments finis de Smith et al. Source : Fig. 2 de Smith et al. 1998 [32].	20
2.14	Compression d'une cellule de tomate avec le micromanipulateur. Source : Fig. 1 de Wang et al. 2004 [35].	21

2.15	Schéma de l'appareil de tonométrie. Source : Fig. 1 de Lintilhac et al. 2000 ^[20]	23
2.16	Schéma du micro-indenteur. Source : Fig. 1 de Zahalak et al. 1990 ^[53]	24
2.17	Modèle analytique et par éléments finis de Zahalak et al. Source : Fig. 4 et 7 de Zahalak et al. 1990 ^[53]	25
2.18	Schéma du cytoindenteur. Source : Fig. 2 de Shin et Athanasiou ^[22]	27
2.19	Expérience de cytoindentation et modèle par éléments finis de Shin et al. Source : Fig. 5 de Shin et Athanasiou ^[22]	28
2.20	Schéma du microscope à force atomique. Source : © Copyright 2002 Pacific Nanotechnology, Inc. et Chang 2002 ^[62,63]	29
2.21	Illustration d'un maillage par éléments finis. Source : Fig. 7.6 de ANSYS Modeling and Meshing Guide 2003 ^[71]	31
2.22	Représentation de types d'éléments finis. Source : Fig. Éléments de volume (Solides 3D) de McIntyre et Marchand 2003 ^[43]	32
3.1	Micro-indenter stylus seen in the optical microscope (left) and finite-element model used for the simulations (right). When varying the stylus radius (R) in the models, we kept the ratio F/R at 30% and H/R at 55%.	41
3.2	Isometric view (upper left) and front view (lower right) of a typical finite-element representation of the three parts composing the model of the micro-indentation experiment on a pollen tube.	44
3.3	Determination of positions along the tube's longitudinal axis.	46
3.4	a Force-displacement curves of micro-indentation simulations at different positions along the longitudinal axis of the tube. The legend gives these positions in μm calculated from the very tip of the apex. b Stiffness of the cell (y -axis) plotted against position on the tube (x -axis, corresponding to the positions given in the legend of figure a).	47

3.5	a, b Influence of pollen tube (PT) radius on force-displacement curves for the apex and distal regions, respectively. c, d Stiffnesses for pollen tube radius varying from 3 to 7 μm	48
3.6	a, b Influence of the cell wall thickness on force-displacement curves for the apex and distal regions, respectively. c, d Stiffnesses for cell wall thickness varying from 100 to 300 nm.	49
3.7	a, b Influence of micro-indenter stylus on force-displacement curves. c, d Stiffnesses for stylus radius varying from 1.5 to 5.5 μm	50

LISTE DES ANNEXES

Annexe I :	Théorie de l'élasticité	i
I.1	Linéaire	i
I.1.1	Tenseur de contraintes	i
I.1.2	Tenseur de déformations	ii
I.1.3	Loi de Hooke généralisée	iii
Annexe II :	Membranes, plaques et coques	v

REMERCIEMENTS

Je désire remercier,

Anja et Laurent pour leur patience extraordinaire. Carl-Éric Aubin et son labo pour leurs accueil et conseils sur les éléments finis. Julie, Jean-Philippe, Nancy et Élodie pour un été inoubliable au Jardin. Geneviève L. pour son aide, sa persévérance et sa confiance dans son projet de fin d'études. Geneviève D., une voisine de bureau exceptionnelle. Les participants au congrès *4th International Plant Biomechanics Conference*, particulièrement Guy L. Steucek, C. R. Thomas et Bruno Moulia pour leurs conseils techniques qui contribuèrent à faire avancer le projet ainsi que les discussions riches en savoir, expérience et ouverture. Rabah et Leila pour leurs encouragements.

À tous mes amis, tout particulièrement Max G.S., Dave, Steve et Pierre Cha., Alex Chi., Yan Pom., Juju, et J-F Bon., pour leur support moral indispensable à la réussite de ce projet.

Merci à jamais.

PRÉFACE

La cellule est la plus petite unité d'être vivant telle que définie par la biologie. Du point de vue de la physique, la cellule pourrait être définie comme étant le quantum de vie.

Le présent projet se situe à la croisée des chemins entre la biologie, la physique mécanique, et l'informatique. Il s'insère bien dans le courant multidisciplinaire voulant créer une synergie entre des domaines de recherche entretenant à la base peu de relations. Les projets impliquant le croisement et l'intégration de plusieurs disciplines nécessitent un investissement considérable d'efforts d'apprentissage pour arriver à maîtriser tous les concepts, théories et outils indispensables à leur réalisation.

Celui-ci ne fait pas exception à la règle : il s'agit d'étudier les effets de déformations mécaniques sur une cellule, le tube pollinique, avec la technique de modélisation numérique des éléments finis.

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

Comprendre la relation entre la composition et la structure moléculaire des constituants cellulaires tels le cytosquelette, le noyau, la membrane plasmique, la paroi cellulaire (dans le cas d'une cellule végétale) et leurs propriétés mécaniques particulières constitue un défi de taille. Il en est de même pour ce qui est des interactions entre ces éléments structuraux pour produire un comportement mécanique global de la cellule et des réponses coordonnées aux stimuli externes, qu'ils soient produits artificiellement ou qu'ils proviennent de leur environnement naturel. Les difficultés proviennent majoritairement de la taille microscopique de ces systèmes, du fait que la cellule constitue une entité vivante où toutes les composantes sont en constante interaction et que l'étude d'un de ses éléments, isolé et dénaturé, n'est pas garant de ses propriétés *in vivo*.

Une approche souvent utilisée consiste à déformer la cellule pour ensuite relier les données expérimentales à des modèles théoriques simplifiés où certains constituants cellulaires sont présents et définis de manière à pouvoir identifier leur fonction et/ou propriétés mécaniques. Ce mémoire présente les résultats de simulations par la méthode des éléments finis sur le tube pollinique (une cellule végétale) soumis au micro-indenteur. Le deuxième chapitre fait une revue des connaissances sur le tube pollinique et la cytomécanique, et donne une brève explication de la méthode des éléments finis. Le troisième chapitre présente la méthodologie et les résultats sous la forme d'un article, le tout suivi d'une discussion générale, des améliorations à apporter, et de la conclusion.

CHAPITRE 2

REVUE DES CONNAISSANCES

2.1 Le tube pollinique

2.1.1 Fonction

Le tube pollinique joue un rôle clé dans la délivrance des gamètes mâles vers l'ovaire, l'organe de reproduction femelle ^[5]. C'est une excroissance du grain de pollen dont la vie peut se résumer ainsi. Le grain de pollen se dépose sur un pistil d'une fleur compatible, la germination du grain de pollen génère ensuite le tube pollinique. Celui-ci se met alors à croître à l'intérieur des tissus du style de la fleur (Figure 2.1 ^[6] ^[7]). Son but est de former un passage/tunnel entre le grain de pollen, et l'ovule, permettant aux gamètes mâles d'atteindre ce dernier pour le féconder. Le tunnel engendré par le tube pollinique est très dynamique ; la partie active du tube se maintient près de la zone de croissance par la formation de bouchons de callose dans le tube lorsque celui-ci atteint une certaine longueur ^[8]. Les sections situées derrière le bouchon de callose deviennent donc inactives et, une fois son devoir accompli, le tube meurt.

2.1.2 Croissance

La croissance du tube pollinique se fait dans la partie la plus en aval de la cellule ; cette extrémité du tube montre une géométrie plus ou moins hémisphérique et se nomme apex ; d'où l'expression de cellule à croissance apicale pour le tube pollinique. Cette croissance unidirectionnelle engendre un tube cylindrique de diamètre constant variant entre 5 et 15 μm selon l'espèce ^[9]. Les mécanismes responsables de cette croissance ne sont pas encore totalement élucidés. Le processus de croissance ne sera pas abordé dans la présente étude. Notons simplement que la croissance se fait par ajout de matériel pariétal à la pointe de l'apex et est probablement le fruit

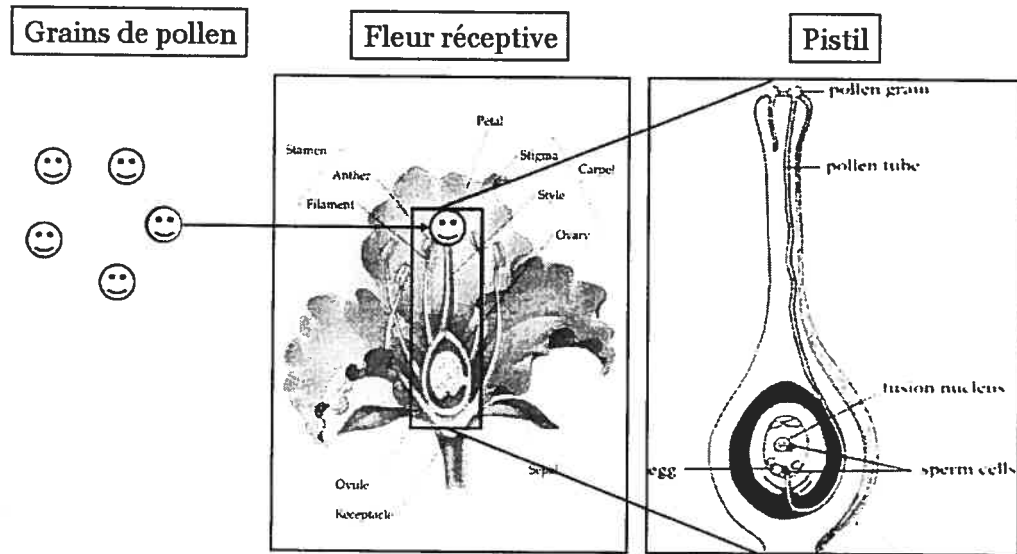


FIG. 2.1: Chemin parcouru par le tube pollinique dans les tissus de la fleur réceptive.

de complexes interactions entre la paroi cellulaire (et ses propriétés mécaniques), la pression de turgescence, la présence d'ions de calcium à l'intérieur et à l'extérieur du tube, ainsi que le cytosquelette [9].

2.1.3 Architecture

2.1.3.1 Paroi cellulaire

La paroi cellulaire distingue les cellules végétales des cellules animales, et fait donc partie de la structure des tubes polliniques (Figure 2.2). Cette paroi offre aux cellules des plantes une plus grande résistance mécanique qui permet ainsi le maintien d'une pression interne positive appelée turgescence. Dans le cas des tubes polliniques, cette paroi est constituée de trois composantes majeures, soit les polymères suivants : la pectine (un polysaccharide obtenu à partir de l'acide polygalacturonique), la callose (un β -1,3 glucan) et la cellulose (un polysaccharide fait de résidus de glucose lié par des liens glycosidiques $\beta(1\rightarrow4)$).

La paroi, prise dans son entier, doit nécessairement avoir des propriétés mécaniques anisotropes pour accommoder une croissance unidirectionnelle comme

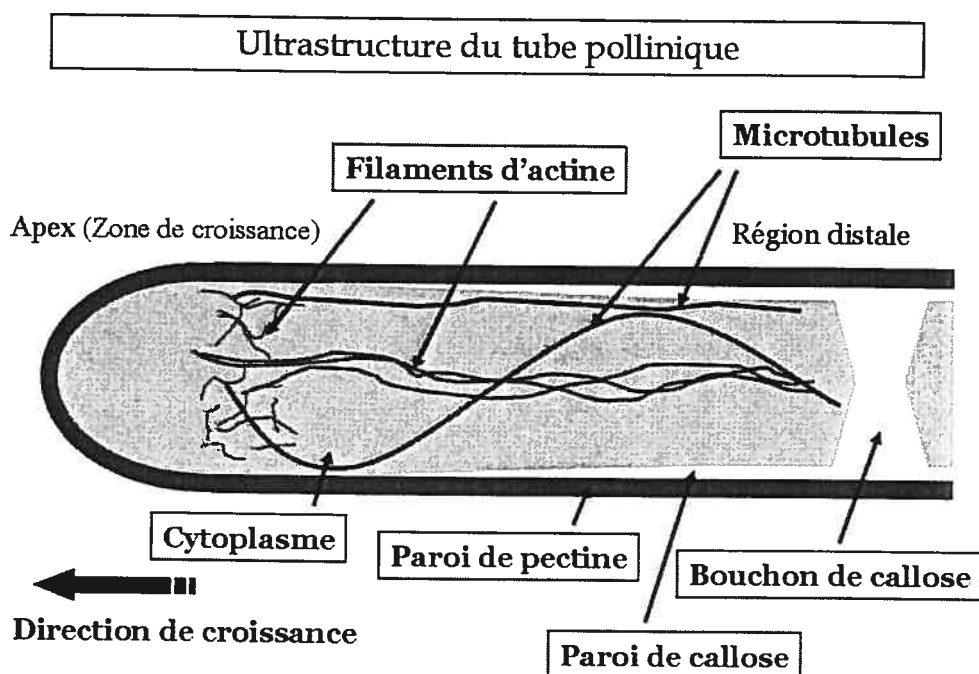


FIG. 2.2: Composition et structure du tube pollinique.

celle des tubes polliniques [8]. Par contre, comme elle est constituée de plusieurs types de polymères distribués en couches inhomogènes le long de la paroi, il se peut que, même si chaque couche de polymère est isotrope, il en résulte un arrangement global dont les propriétés sont anisotropes. Il se peut aussi qu'une ou plusieurs couches de polymères aient des propriétés anisotropes et que l'arrangement global soit également anisotrope. Pour illustrer cette inhomogénéité, un survol descriptif de la répartition des polymères dans la paroi est présenté dans les prochaines sections.

2.1.3.1.1 Pectines Les pectines forment la partie extérieure de la paroi et présentent un gradient de composition chimique, la méthyl-estérification. Les pectines situées entre 0 et 15 μm de l'apex ont un haut degré de méthyl-estérification tandis que celles situées plus loin de l'apex ont un faible degré de méthyl-

estérification. La dé-estérification, passage d'un haut degré à un plus bas degré de méthyl-estérification, provoque une gelation des pectines due à l'action d'ions de calcium ^[10]. Cette caractéristique des pectines mène à l'hypothèse que les propriétés mécaniques de la paroi pourraient être différentes dans ces deux régions ^[1]. Tout degré de méthyl-estérification confondu, la couche de pectines semble être plus épaisse à l'apex qu'en distal (Figure 2.2).

2.1.3.1.2 Callose La callose forme la partie intérieure de la paroi mais est absente de l'apex, où l'on ne retrouve que des pectines. L'épaisseur de la couche de callose s'accroît graduellement dans la direction du grain de pollen à partir d'environ 30 μm de l'apex ^[4]. Après un certain temps, il se forme des bouchons de callose dans la partie distale du tube afin de réduire et maintenir la partie active de la cellule près de la zone apicale. Ces bouchons de callose sont simplement un renflement de la paroi interne.

2.1.3.1.3 Cellulose La répartition de la cellulose n'est pas très claire. Elle peut ou non être concentrée dans une couche intermédiaire entre les pectines et la callose ^[5], dépendamment des espèces. On la retrouve sous forme de microfibrilles orientées approximativement à 45° de l'axe longitudinal. Elle peut également se retrouver à l'intérieur de la couche de callose. On la retrouve en beaucoup plus petite quantité que les pectines et la callose ce qui est atypique pour la paroi d'une cellule végétale.

2.1.3.2 Membrane plasmique

Comme toutes les cellules, animales et végétales, les tubes polliniques possèdent une membrane plasmique. Pour les cellules végétales, celle-ci est située immédiatement sous la paroi. Cependant, elle n'est composée que d'une bicouche de phospholipides d'épaisseur négligeable comparée à la paroi cellulaire, sa contribution à la résistance mécanique de la cellule végétale est donc considérée comme

négligeable.

2.1.3.3 Pression de turgescence

La turgescence est une pression engendrée par accumulation d'eau dans la cellule due à une différence de valeurs osmotiques entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule. Benkert et al. ^[11] ont mesuré la pression de turgescence des tubes polliniques de *Lilium longiflorum* avec une sonde à pression adaptée pour les cellules de plantes ^[12]. Les valeurs stables obtenues varient entre 0,1 et 0,4 MPa avec comme moyenne $0,209 \pm 0,064$ MPa. Ils ont également observé qu'en doublant la pression de turgescence les tubes éclataient à l'apex et que la turgescence était indépendante de la longueur des tubes. Les pressions d'éclatement enregistrées allaient de 0,19 à 0,58 MPa. Bien que la pression de turgescence soit considérée comme essentielle pour la croissance, aucune corrélation ne fut observée entre celle-ci et la vitesse de croissance des tubes.

2.1.3.4 Cytosquelette

À l'intérieur du cytoplasme des tubes polliniques se trouve un réseau de polymères nommé cytosquelette. Il est composé principalement de deux types de chaînes polymériques, les filaments d'actine et les microtubules. Plusieurs rôles de cette structure dans différents processus ont été identifiés, notamment dans la croissance apicale, le transport des vésicules, des organelles et du noyau, et la division cellulaire ^[9,13]. Bien que des études aient permis de déterminer les propriétés mécaniques intrinsèques des éléments du cytosquelette ^[14-18], leur fonction en tant que structure offrant de la résistance aux déformations dans les tubes polliniques est encore inconnue. Dans la cytomécanique des cellules animales, le cytosquelette est un élément incontournable puisque la membrane plasmique ne peut pas à elle seule fournir le support mécanique dont la cellule a besoin ^[19]. Dans le cas des cellules végétales, cette fonction de support mécanique associée au cytosquelette

est plus floue compte tenu de la présence de la paroi cellulaire et de la pression de turgescence procurant déjà un tel support [3,4,20].

2.1.3.4.1 Microtubules Les microtubules sont faits de deux monomères, α -tubuline et β -tubuline qui s'assemblent pour former un hétérodimère. Ceux-ci s'alignent en alternant les α -tubuline et les β -tubuline pour former un protofilament, et treize protofilaments s'associent parallèlement formant ainsi un tube ayant un diamètre externe de 25 nm, le microtubule [21]. Dans les tubes polliniques, les microtubules sont disposés près de la membrane plasmique en suivant l'axe de croissance du tube de façon linéaire ou parfois de façon hélicoïdale. Ils sont habituellement peu ou pas présents dans la région apicale [9].

2.1.3.4.2 Filaments d'actine Les filaments d'actine, aussi appelés microfilaments, sont le résultats de l'alignement polaire entre plusieurs monomères identiques, les G-actines, qui forment une fibre hélicoïdale à double brins orientée main gauche. Leur diamètre est d'environ 7 nm. Ils se retrouvent sous deux formes, de longs filaments orientés selon l'axe longitudinal du tube et concentrés dans sa partie centrale, et de très courts filaments sans orientation précise formant une maille dense dans la région subapicale, soit entre 5 et 15 μm environ de l'apex, et en très petite quantité dans la pointe de l'apex [9].

2.2 Cytomécanique

La cytomécanique * est l'étude de la mécanique au niveau cellulaire. Les techniques utilisées pour investiguer ce domaine sont assez diversifiées. Pour faire un survol rapide de ce champ d'étude, nous allons en décrire quelques-unes, ainsi que les modèles cellulaires associés, s'il y a lieu.

L'aspiration par micropipette (Figure 2.3) semble être la plus populaire des techniques [22]. Elle consiste à aspirer une cellule à l'intérieur d'une pipette de

*Cyto- Élément, du grec *kutos* «cavité, cellule». - Le Petit Robert

taille microscopique dont l'ouverture doit être plus petite que la cellule de telle sorte que celle-ci doit se déformer pour y entrer. Les propriétés rhéologiques des cellules peuvent alors être obtenues directement ou déterminées avec l'aide de modèles [23-26].

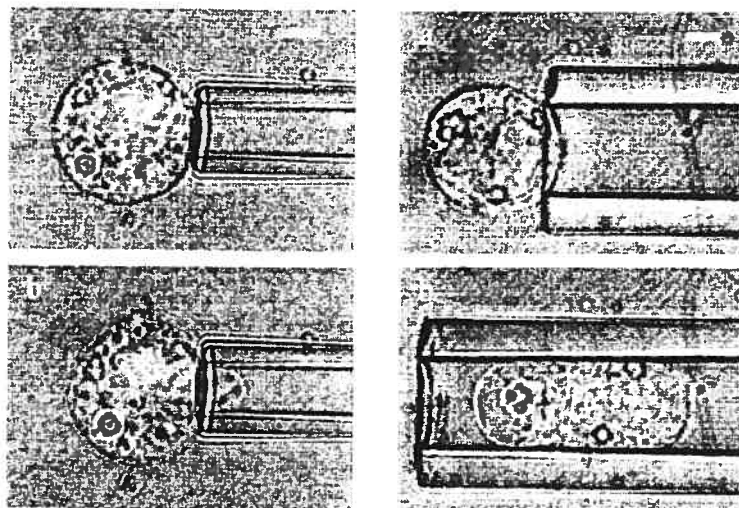


FIG. 2.3: Aspiration par micropipette. Source : Fig. 2 et 4 de Jones et al. 1999 [26].

Pour les cellules végétales, la microsonde à pression (Figure 2.4) (*pressure probe*) sert à mesurer et manipuler la pression de turgescence [12]. Un microcapillaire relié à un réservoir d'huile est inséré au travers de la paroi cellulaire. Le réservoir est muni d'une jauge à pression et d'un contrôleur de pression.

Une autre technique utilisée dans l'étude des propriétés rhéologiques des cellules est celle de la cytométrie par rotation magnétique (*magnetic twisting cytometry*) (Figure 2.5). Elle consiste à introduire une particule magnétique dans le cytoplasme de la cellule ou de la faire coller sur sa surface. Un champ magnétique est alors appliqué pour faire déplacer la particule [27]. Les données de déplacement de la particule selon l'intensité du champ magnétique peuvent être utilisées pour établir une relation mathématique décrivant le comportement mécanique de la cellule.

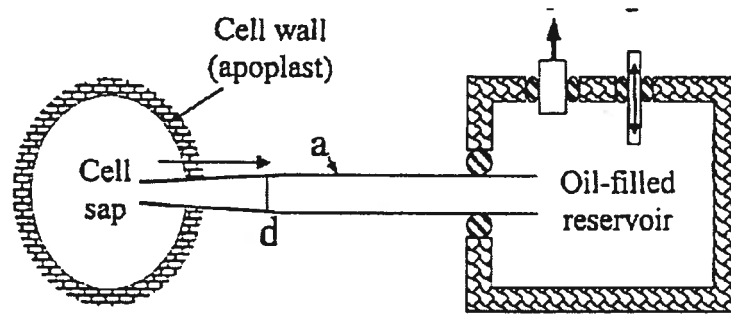


FIG. 2.4: Schéma de la microsonde à pression. Source : Fig. 1 de Tomos 2000 [12].

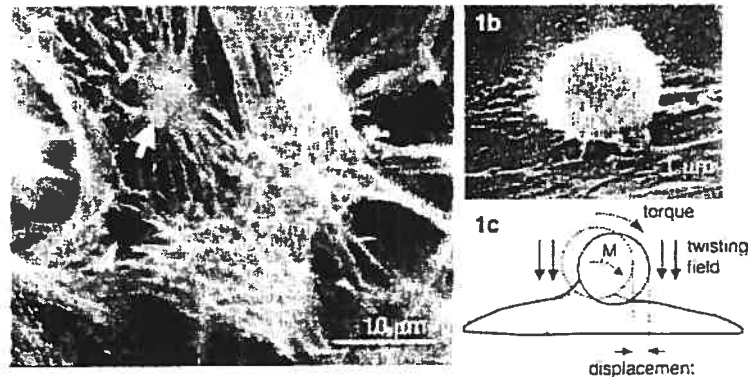


FIG. 2.5: Cytométrie par rotation magnétique. Source : Fig. 1 de Fabry et al. 2001 [27].

2.2.1 Modèles d'architecture cellulaire

Les études en cytomécanique ont mené à l'élaboration de plusieurs modèles d'architecture cellulaire. Pour les cellules animales, plusieurs modèles sont en compétition, notamment ceux de tenségrité [28] (Figure 2.6), du solide alvéolaire [29] (Figure 2.7), celui d'une membrane entourant un fluide [30,31] (Figure 2.8) et le modèle du matériau vitreux mou près d'une transition de phase [27].

Le cas des cellules végétales a été traité jusqu'ici en ignorant le rôle mécanique des éléments présents dans le cytoplasme compte tenu de la présence de la paroi cellulaire et de la pression de turgescence qui sont considérées dominantes dans

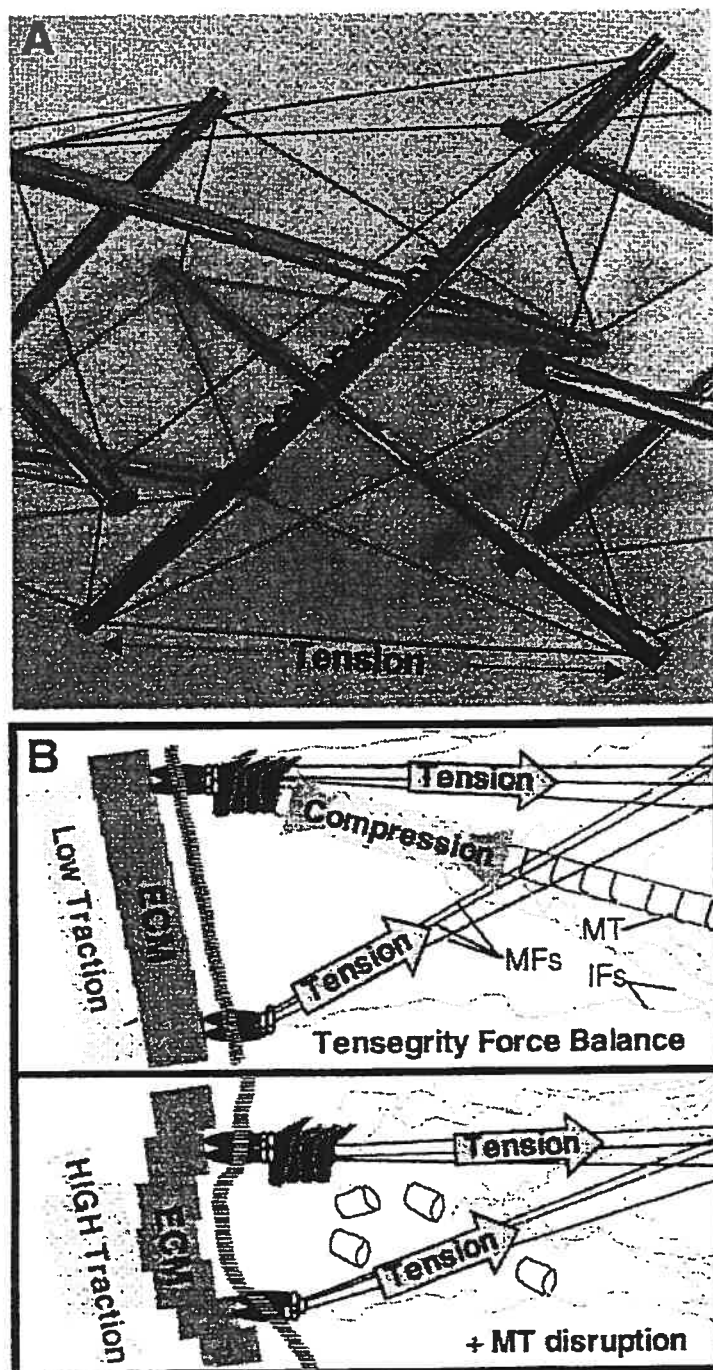


FIG. 2.6: Illustration du modèle de tenségrité (MT - microtubule, MF - microfilament ou filament d'actine). Source : Fig. 2 de Ingber 2003 [28].

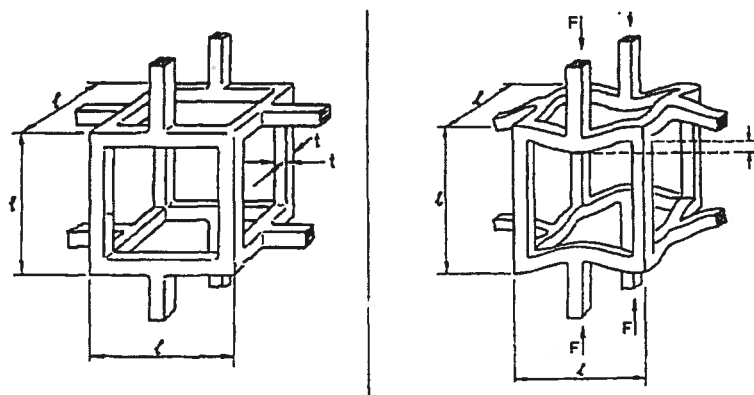


FIG. 2.7: Illustration du modèle de solide alvéolaire. Source : Fig. 1 de Wendling et al. 2000 [29].

la mécanique de la cellule. Les modèles développés sont donc plus uniformes, se regroupant autour du concept de membrane entourant un fluide. Les analyses faites des expériences sur la compression de cellules utilisent majoritairement ce type de modèle [32-35].

2.2.2 Mécanotransduction

Un champ très intéressant de la cytomécanique est la mécanotransduction [36], soit l'étude des relations entre les forces mécaniques appliquées à la cellule et les réactions biochimiques se produisant à l'intérieur, c'est-à-dire la modification de l'activité biologique d'une cellule provoquée par des stimuli mécaniques externes telles les déformations. Cette branche étudie donc la façon dont les cellules détectent les changements dans leur environnement mécanique et les intègrent en altérant leur biochimie cellulaire, créant ainsi une réponse cellulaire coordonnée en réaction aux stimuli externes. La mécanotransduction montre qu'il y a un lien important entre la mécanique et le fonctionnement physiologique de la cellule.

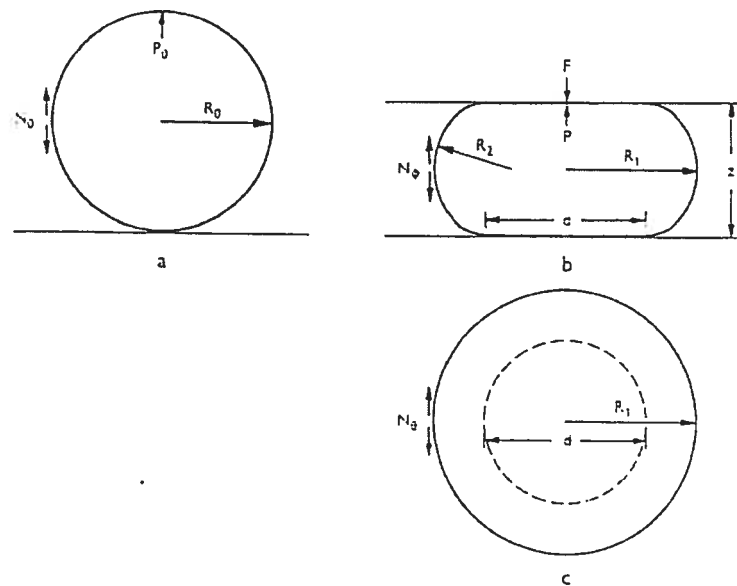


FIG. 2.8: Illustration du modèle cellulaire de membrane entourant un fluide. Source : Fig. 2 de Hiramoto 1963 [30].

2.2.3 Historique des études sur la compression de cellules entre deux plaques

La compression de cellules est un moyen d'obtenir de l'information sur la résistance aux déformations mécaniques. Kenneth S. Cole effectua la première expérience de compression de cellules pouvant ressembler à la micro-indentation. En 1932, il étudia des oeufs d'oursins (*Arbacia punctulata*), cellules animales approximativement sphériques ayant un diamètre d'environ $80 \mu\text{m}$ (Figure 2.9 [37]), dans le but d'examiner les variations de la force de surface en fonction de la compression. Cette étude permet de déterminer si la force de surface est due à une tension interfaciale ou à une tension de membrane. Il compressa les oeufs, un à la fois, entre deux plaques parallèles (Figure 2.10).

Sachant par des expériences préliminaires que de très petites forces devaient être appliquées, Cole réalisa son expérience avec des fibres d'or obéissant à la théorie des poutres élastiques. Il compressa la cellule entre une de ces fibres et une lame

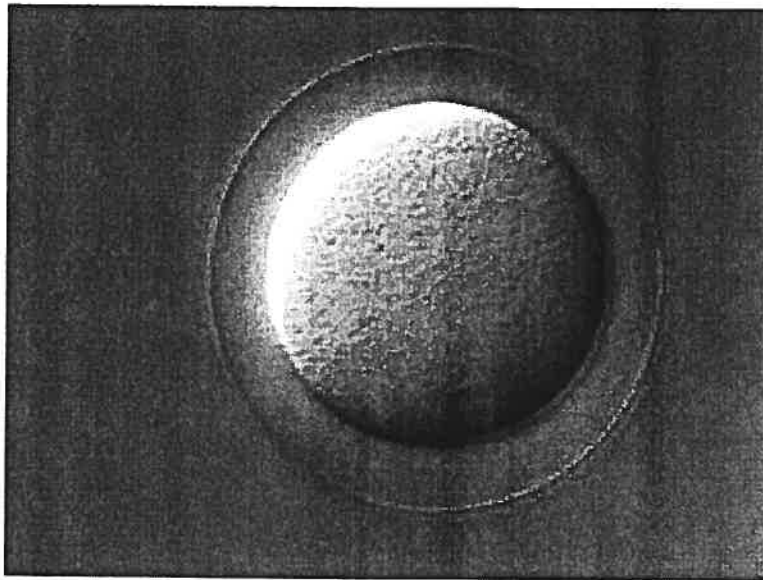


FIG. 2.9: Oeuf d'oursin vu au microscope. Source : © Exploratorium — The museum of science, art and human perception ^[37].

de microscope et mesura la force de compression en se servant de la courbure de la fibre et de sa constante d'élasticité. Les principes de son montage sont les mêmes que ceux du micro-indenteur soient ceux d'une poutre en porte-à-faux (*cantilever*). La différence entre l'expérience de Cole et la micro-indentation vient de la déformation produite sur la cellule. Cole déforme la cellule entière en la comprimant entre deux plaques parallèles plus grandes que ses dimensions, tandis qu'en micro-indentation une déformation locale sur la cellule est produite avec une aiguille, fixée à l'extrémité de la poutre en porte-à-faux, dont le diamètre peut être plus petit que les dimensions de la cellule. Avec les données de la force de résistance en fonction de la distance de compression, Cole calcula la pression interne et la force de surface. Il trouva que la force de surface augmente en fonction de la distance de compression, ce qui favorise l'hypothèse d'une membrane élastique plutôt qu'une tension interfaciale à la surface des oeufs d'oursins.

La suite de ce chapitre fait une revue de plusieurs publications portant sur la

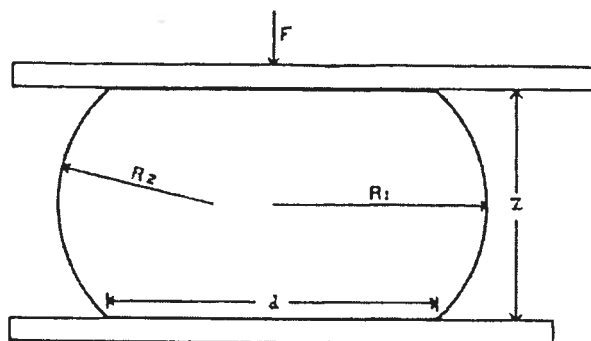


FIG. 2.10: Schéma illustrant l'expérience de Cole sur la compression d'un oeuf d'oursin entre deux plaques parallèles. Source : Fig. 1 de Cole 1932 ^[38].

compression de cellules, la plupart étant similaires à celle de Cole ; dans plusieurs cas des modèles mathématiques ou par éléments finis sont utilisés pour extraire et/ou comparer les propriétés mécaniques obtenues expérimentalement.

Hiramoto publia deux articles en 1963 ^[30,31] décrivant une étude des propriétés mécaniques des oeufs d'oursin durant les étapes précédant la fécondation et durant le processus de division cellulaire. La technique utilisée était très proche de celle de Cole ^[38] : les oeufs d'oursin sont comprimés entre deux plaques parallèles et la force de compression est mesurée à l'aide d'une fibre de verre fixée à une des plaques et courbée par la force de compression. La force de surface, la pression interne des cellules ainsi que le module d'élasticité (Young) de la membrane sont ensuite calculés en se servant de la force de compression et de l'aire de la surface de contact entre la cellule et les plaques. La rigidité globale des oeufs a également été mesurée en fonction des étapes du cycle de division cellulaire. L'utilisation de la théorie des membranes (voir Annexe II) dans l'analyse de la compression des oeufs d'oursin fut validée en utilisant une balle de caoutchouc remplie d'eau comme modèle d'architecture cellulaire et soumise à une compression entre deux plaques parallèles. Les résultats obtenus sont que la force de surface, la pression interne et le module d'Young de la membrane augmentent durant le cycle de division cellulaire.

L'expérience de Cole fut critiquée par Yoneda en 1964 ^[39]. Il reproduisit

l'expérience en apportant quelques améliorations au montage pour éliminer certaines incertitudes expérimentales. Avec des résultats plus précis, il arriva à une conclusion différente de celle émise par Cole, i.e. la membrane cellulaire n'est pas élastique. Yoneda critiqua aussi l'emploi du mot membrane qui fait référence à une structure solide ; or, aucune des composantes de la membrane des oeufs d'oursin ne forme une structure stable. La «membrane» serait plutôt une structure labile dont la cohésion serait due aux interactions entre les micelles. Il est important de noter que la membrane des oeufs d'oursin, une cellule animale, a son équivalent chez la cellule végétale mais celle-ci possède en plus une paroi cellulaire.

En 1970, Hiramoto ^[40] fit une revue des propriétés rhéologiques des oeufs d'oursin dans laquelle sont décrites plusieurs techniques expérimentales dont celles de compression de cellules décrites ci-dessus.

Continuant sa pensée au sujet de la «membrane» des oeufs d'oursin, Yoneda publia un autre article en 1973 réexaminant la tension de surface, auparavant attribuée à une membrane, en fonction du concept d'une «goutte de liquide» ^[41]. Dans cet article il fit une revue des techniques expérimentales de compression de cellules et des analyses faites jusqu'alors.

Feng et Yang ^[42] publièrent en 1973 un papier sur le problème de contact et de compression entre deux plaques parallèles d'une membrane sphérique gonflée sous pression interne et faite de matériau non-linéairement élastique. Le modèle est formulé mathématiquement sous forme de trois équations différentielles ordinaires de premier ordre avec dérivées explicites pour la région de la membrane qui n'est pas en contact avec les plaques et de deux équations seulement pour la partie en contact avec les plaques. Le contact des plaques sur la membrane est géré comme une contrainte dans les équations de la membrane libre, ce qui élimine une équation. Le modèle est axisymétrique et le contact est sans friction. La membrane élastique est incompressible, homogène et isotrope avec une épaisseur constante. L'épaisseur de la membrane est petite en comparaison des autres dimensions : les moments de

flexion sont donc négligeables. La théorie des membranes (selon McIntyre et Marchand ^[43], voir Annexe II) est alors applicable. La membrane est d'abord gonflée avec une pression interne et ensuite compressée entre les plaques parallèles. La résolution se fait avec la méthode numérique de Runge-Kutta. La solution donne une courbe de la force de compression en fonction de la distance de compression, et le comportement global est celui d'un ressort durcissant sous compression (*hardening compressive spring*, Fig. 7 de Feng et Yang 1973 ^[42]).

La prochaine étape dans l'étude de la compression de cellules fut proposée par Lardner et Pujara ^[44]. Dans leur publication de 1980, ils présentèrent une analyse sur la compression d'une membrane mince et sphérique, non-linéairement élastique et gonflée sous pression interne avec comme application la détermination des propriétés mécaniques de la membrane en utilisant deux modèles de matériaux. Leur analyse se base sur les travaux de Feng et Yang ^[42] mentionnés ci-dessus mais avec la condition supplémentaire que le volume contenu par la membrane reste constant. Les deux modèles de matériaux utilisés sont Mooney-Rivlin, supposé représenter une membrane de caoutchouc, et Skalak, Tozeren, Zarda et Chien (modèle STZC), développé pour les membranes des globules rouge. Leurs résultats théoriques pour les modèles de Mooney-Rivlin et STZC corroborent assez bien les résultats expérimentaux de Yoneda ^[41] et Hiramoto ^[30].

La première analyse par éléments finis de la compression de cellules fut réalisée par Cheng en 1987 ^[45,46]. Dans son modèle (Figure 2.11), les cellules sphériques sont représentées par une coquille axisymétrique contenant un matériau incompressible.

La coque est faite d'un matériau linéaire obéissant à la loi de Hooke généralisée (voir Annexe I). La formulation éléments finis comprend trois ingrédients d'abord, un traitement mathématique pour la coquille basé sur la théorie 3D de la mécanique des milieux continus, c'est-à-dire une coque épaisse où l'on tient compte du cisaillement, le deuxième est une contrainte appliquée sur la coque pour simuler l'intérieur comme un matériau incompressible, i.e. avec un volume constant, basé sur la

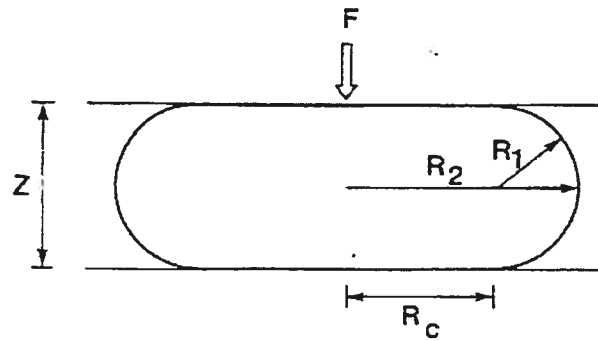


Fig. 1(a) The compression of an egg

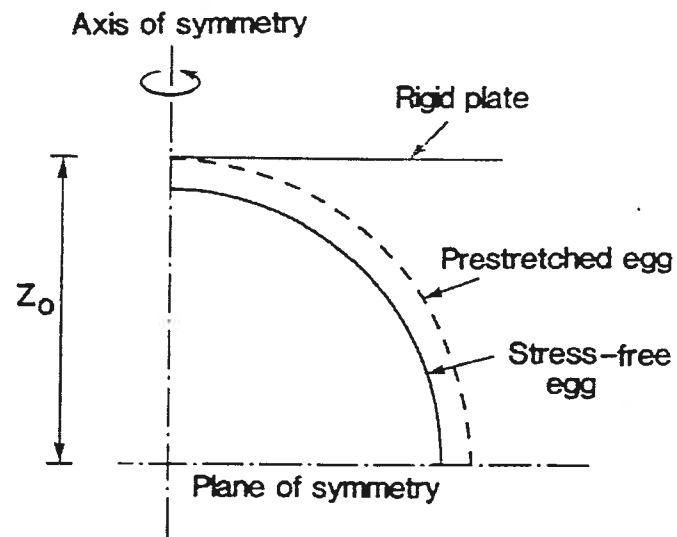


Fig. 1(b) Analysis model for the compression experiment

FIG. 2.11: Illustration du modèle de Cheng. Source : Fig. 1 de Cheng 1987 [46].

méthode des multiplicateurs de Lagrange. Le troisième est un algorithme de contact entre corps déformables utilisant la méthode de pénalité. Les grandes déformations de la coque et le contact contribuent à rendre le problème global hautement non-linéaire. La résolution est alors faite par la méthode itérative de Newton-Raphson en faisant 10 pas de chargement (*load steps*). La technique consiste en fait à minimiser l'énergie potentielle du système. Armé de cette technique, Cheng examina trois expériences couramment effectuées sur les cellules, soit la compression, l'aspiration par micropipette et la déformation par particule magnétique. Les résultats de leurs simulations pour la compression de cellules corroborent bien certains résultats expérimentaux tels la forme de la cellule compressée, la courbe force vs distance de compression, ainsi que l'aire de contact entre la cellule et les plaques en fonction du rayon de la cellule déformée. Les résultats concernant les deux autres expériences ne seront pas discutés ici puisque moins pertinents au présent projet.

En 1996, Liu et al. ^[47] firent l'étude de la compression d'une microcapsule entre deux plaques parallèles (Figure 2.12).

Une microcapsule est une entité cellulaire approximativement sphérique composée d'une mince membrane de polymères remplie de liquide et ayant un diamètre d'environ $65 \mu\text{m}$. Elles ont de multiples applications comme la production de cellules synthétiques pour les organes et le sang artificiels, et la délivrance de médicaments. Ils firent l'expérience et une analyse théorique basée sur le modèle mathématique développé par Feng et Yang ^[42] et Lardner et Pujara ^[44]. Leur modèle théorique de microcapsule se compose donc d'une coque sphérique ($2 \mu\text{m}$ d'épaisseur) remplie d'un fluide incompressible (volume constant). Deux lois constitutives furent comparées pour la coque, Mooney-Rivlin et néo-Hookien. Pour les deux matériaux, les courbes de force vs distance de compression correspondent très bien aux résultats expérimentaux pour des déformations allant jusqu'à 40% du diamètre initial. En ajustant les courbes théoriques aux courbes expérimentales avec une méthode de moindres carrés, ils ont obtenu le module d'élasticité de la coque, 2,68 MPa pour

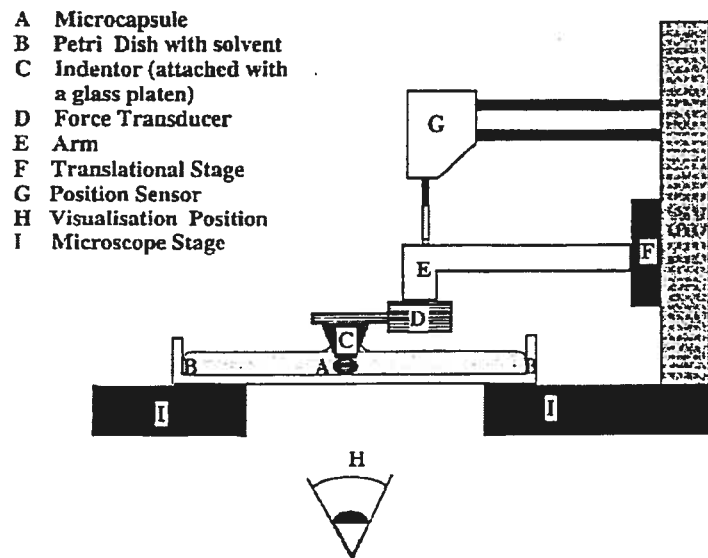


FIG. 2.12: Schéma du montage pour la compression entre deux plaques de Liu et al. Source : Fig. 1 de Liu et al. 1996 [47].

Mooney-Rivlin et 2,69 MPa pour néo-Hookien. La différence minimale entre les deux valeurs montre que les deux types de matériaux peuvent être utilisés pour représenter la coque des microcapsules.

Combinant des résultats expérimentaux à ceux obtenus avec un modèle éléments finis (Figure 2.13) sur la compression de cellules entre deux plaques parallèles, Smith et al. [32] ont démontré qu'il n'était pas possible de déterminer de façon unique la loi constitutive, ainsi que ses paramètres, décrivant le comportement de la membrane cellulaire.

L'incertitude sur les paramètres géométriques/structuraux tels l'épaisseur de la membrane et le ratio d'étirement initial font en sorte que les résultats expérimentaux peuvent accommoder plus d'une solution. Leur modèle de cellule sphérique est composé d'une paroi mince (une coque selon McIntyre et Marchand [43]), incompressible (ratio de Poisson = 0,5), perméable et remplie de liquide incompressible. La perte de volume interne est donc prise en considération lors de

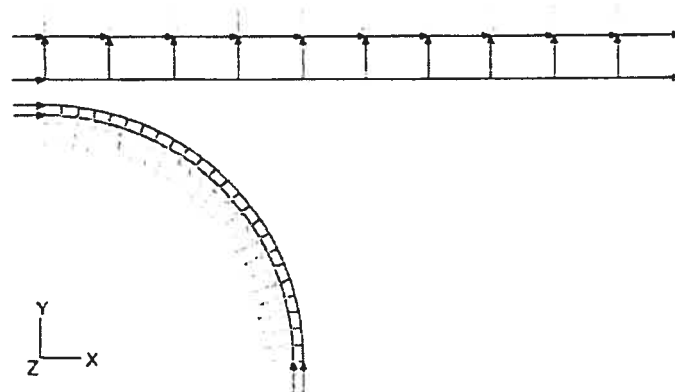


FIG. 2.13: Modèle par éléments finis de Smith et al. Source : Fig. 2 de Smith et al. 1998 ^[32].

la compression. Le liquide est simplement représenté par une pression appliquée sur la face interne de la paroi. La cellule est soumise à un gonflement initial avant la compression. Les paramètres de structure du modèle correspondent à ceux des levures.

Malgré l'article de Smith et al. ^[32] concernant les difficultés d'obtenir une solution unique pour les propriétés mécaniques de la paroi cellulaire, Wang et al. ^[35] ont quand même réalisé l'expérience mais en fixant certains paramètres du modèle pour éviter la multiplicité des solutions. La valeur initiale de l'épaisseur de la paroi cellulaire fut déterminé comme étant 126 ± 16 nm par cryodécoupage et microscopie électronique à balayage. Un deuxième paramètre fut fixé, la pression de turgescence, à 0,363 MPa. Leur modèle mathématique est le même que celui de Lardner et Pujara ^[44] (voir description plus haut) à l'exception que la paroi est considérée comme perméable et compressible, son matériau linéairement élastique et isotrope. La méthode de résolution suit celle du modèle de Liu et al. ^[47]. L'effet de trois paramètres du modèle fut étudié : la conductivité hydraulique, le ratio de Poisson et le ratio d'étirement initial de la paroi sous pression. Seul le ratio d'étirement initial se révéla important et donc, avec le module d'Young, cela fait deux paramètres à ajus-

ter avec les données expérimentales. Conséquemment, la conductivité hydraulique fut négligée et le ratio de Poisson fixé à 0,4. Les valeurs moyennes trouvées sont $2,3 \pm 0,2$ GPa et $1,010 \pm 0,002$ pour le module d'Young et le ratio d'étirement initial de la paroi cellulaire respectivement. Ils remarquèrent que leur estimation du module d'Young dépendait grandement du choix de l'épaisseur de la paroi. Aucun effet viscoélastique ne fut considéré puisque le temps de compression de l'ordre de 1 sec est beaucoup plus court que ceux observés dans le phénomène de fluage (*creep*) de la paroi ainsi que les processus physiologiques dépendant du temps pouvant affecter la réponse de la cellule soumise à une contrainte mécanique. Leur appareil expérimental est similaire à ceux décrits précédemment : la cellule est comprimée entre une lame de microscope et une fibre de verre à bout plat (Figure 2.14). Le diamètre de la fibre étant beaucoup plus grand que celui de la cellule, cela revient à une compression entre deux plaques parallèles. La force de résistance de la cellule est mesurée en fonction de la distance de compression ^[48]. Ce montage, nommé pour la première fois micro-manipulateur en 1991, fut aussi utilisé pour mesurer la force d'éclatement de cellules animales ^[49] et de levures (*yeast cells*) ^[50].

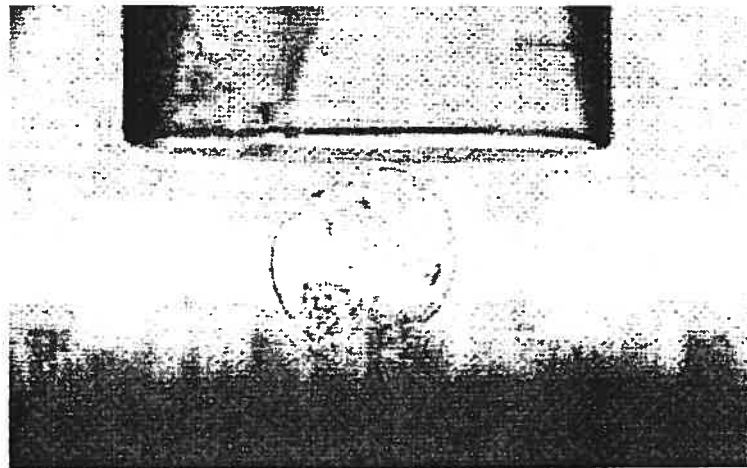


FIG. 2.14: Compression d'une cellule de tomate avec le micromanipulateur. Source : Fig. 1 de Wang et al. 2004 ^[35].

Shiu et al. ^[51] adaptèrent le micro-manipulateur pour étudier des bactéries. Smith et al. ^[33] utilisèrent un micro-manipulateur pour évaluer l'effet de la pression osmotique et de la vitesse de compression sur la force d'éclatement, la déformation à l'éclatement et le diamètre cellulaire. Ils ont aussi effectué un test de relaxation en maintenant la distance de compression constante tout en mesurant la force de compression. La pression osmotique se révéla avoir une influence sur tous les résultats mais pas la vitesse de compression. Une analyse de ces résultats fut réalisée dans un second article ^[34] en utilisant le modèle de compression de cellule publié par Smith et al. ^[32], décrit plus haut.

2.2.4 Tonométrie

Lintilhac et al. ^[20] proposèrent un instrument pour mesurer la pression de turgescence des cellules de plantes. Les principes derrière cet instrument ressemblent beaucoup à ceux de la compression de cellule et du micro-indenteur décrit plus loin. Une boule de verre est attachée à une extrémité libre d'une tige rigide supportée par un pivot placé près de l'autre extrémité (Figure 2.15).

La boule de verre est positionnée de façon à déformer la cellule avec une force connue, l'aire de la région de contact entre la boule et la cellule est mesurée et la pression de turgescence est obtenue par le rapport de la force appliquée à la cellule sur l'aire de contact générée. La contribution de la paroi cellulaire dans la résistance de la cellule est négligée. Cette méthode, nommée tonométrie[†] de boule (*ball tonometry*) par les auteurs, permet un échantillonnage rapide sans détruire la cellule - contrairement à la microsonde à pression qui requiert la pénétration de la cellule par une aiguille.

Cette technique fut réutilisée par Wei et al. ^[52] dans l'étude des propriétés élastiques de cellules épidermales d'oignon. Dans un premier temps, des mesures de tonométrie de boule furent menées pour obtenir des données. Dans un deuxième

[†]Tonométrie, du grec *tonos* «tension» et -métrie, mesure des tensions.

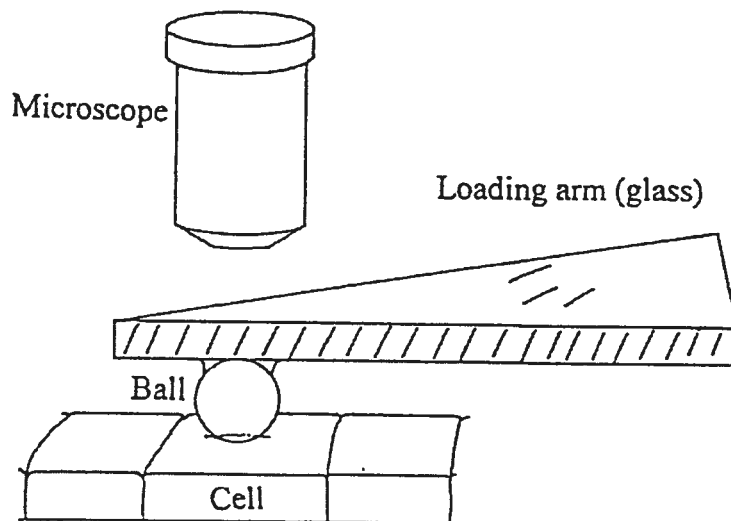


FIG. 2.15: Schéma de l'appareil de tonométrie. Source : Fig. 1 de Lintilhac et al. 2000 [20].

téms, des expériences d'étirements furent effectuées sur les cellules d'oignon pour obtenir le module d'Young et le ratio de Poisson, considérant les cellules entières comme une entité élastique sans structure interne. Les paramètres élastiques ainsi trouvés furent utilisés dans un modèle mathématique basé sur les solutions de Boussinesq pour un corps élastique semi-infini indenté par une force. Finalement, les résultats de tonométrie de boule sont comparés avec ceux du modèle et montrent un bon accord pour les cellules turgides mais un moins bon pour les cellules flasques (sans turgescence).

La différence entre cette méthode et celles de compression de cellule décrites jusqu'à présent se situe principalement au niveau de la déformation engendrée sur la cellule.

2.2.5 Micro-indenteur

Le micro-indenteur 2.16 [53] (aussi appelé *cell poker*) [53-55] est l'appareil utilisé dans la présente étude. D'autres appareils semblables existent et portent soit

le même nom ^[56,57] soit cytoindenteur ^[22] ou, sans donner de nom particulier, un appareil se servant de fibres de quartz pour faire une indentation ^[58,59]. Des similarités existent également entre le micro-indentateur et le microscope à force atomique ; les deux appareils utilisent le principe du *cantilever*. Ils sont dans la catégorie des appareils effectuant une déformation locale sur la cellule produite par un indenteur plus petit que les dimensions de celle-ci. La description du micro-indentateur est donnée dans la section 3.2. La suite de la présente section donne une description de quelques expériences menées avec ce type de montage.

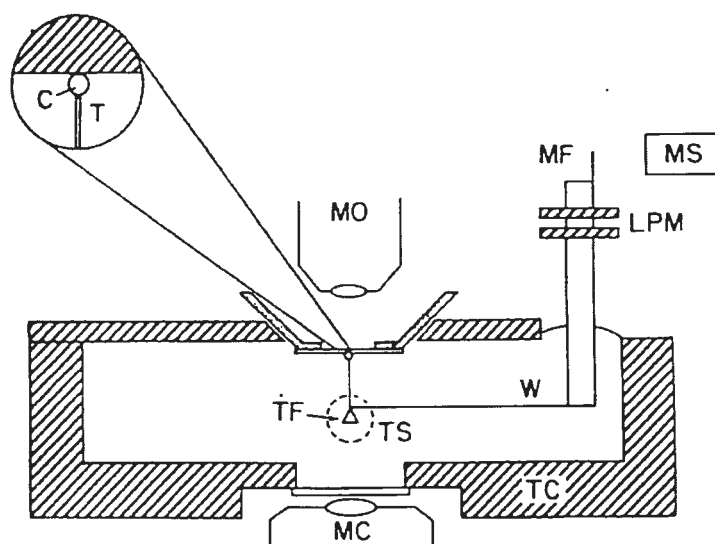


FIG. 2.16: Schéma du micro-indentateur. Source : Fig. 1 de Zahalak et al. 1990 ^[53].

Daily et al. ^[55] utilisèrent un modèle mathématique du processus d'indentation sur une cellule sphérique pour obtenir le module de compressibilité élastique (*elastic area compressibility modulus*) en ajustant les courbes théoriques aux données expérimentales d'indentation cellulaire (*cell poking*) sur des erythrocytes d'humain. L'analyse mathématique utilise la minimisation de la fonctionnelle d'énergie potentielle élastique de la membrane cellulaire ^[60]. Le modèle néglige le cisaillement et les moments de flexion de la membrane mais maintient le volume interne constant.

Zahalak et al. ^[53] présentèrent deux modèles cellulaires pour analyser les données

expérimentales d'indentation cellulaire sur des leukocytes. Dans chacun d'eux, un indenteur cylindrique comprime la cellule (le bout plat entre en contact avec celle-ci) contre un substrat rigide. Le premier est un modèle mathématique d'une goutte de liquide (Figure 2.17) tandis que le second est un modèle éléments finis (développé avec le logiciel ADINA, Figure 2.17) d'une sphère pleine faite de matériau incompressible et hyperélastique (néo-hookien). Dans les deux modèles, le chargement est fait de façon statique (analyse quasi-statique). En définissant la rigidité comme le ratio de la force de résistance sur la profondeur d'indentation lorsque celle-ci égale le rayon de l'indenteur (gardé constant), la goutte de liquide et la sphère hyperélastique montrent des dépendances opposées de la rigidité sur le rayon de la cellule : pour la goutte, la rigidité augmente lorsque le rayon diminue et inversement pour le modèle de la sphère hyperélastique.

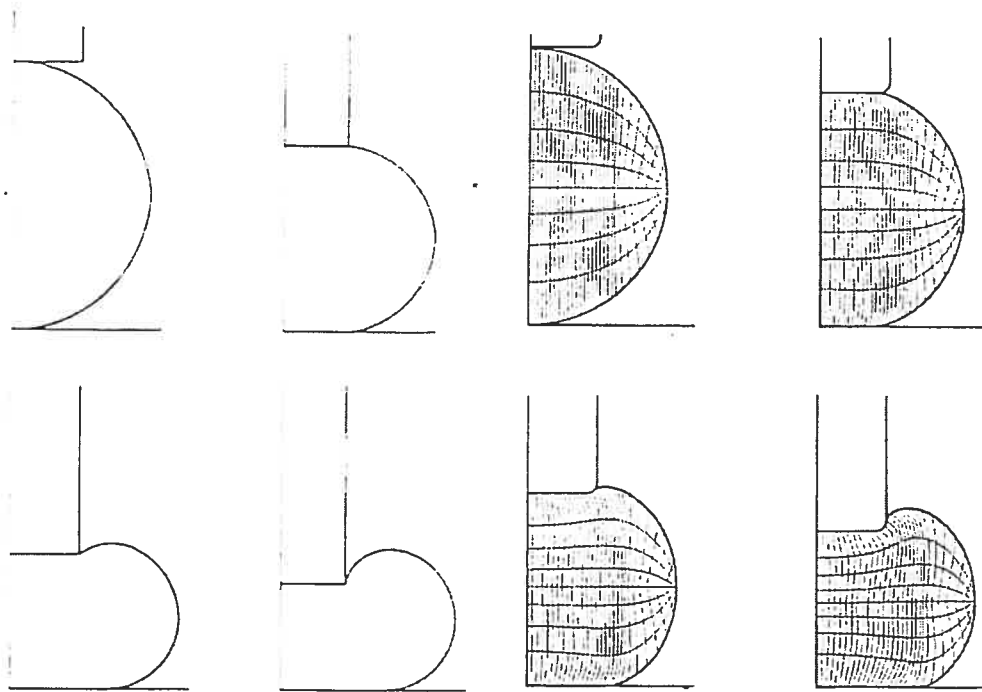


FIG. 2.17: Modèle analytique et par éléments finis de Zahalak et al. Source : Fig. 4 et 7 de Zahalak et al. 1990 ^[53].

Duszyk et al. ^[56] ont mené des expériences d'indentation sur des membranes

viscoélastiques épaisses. Ils ont comparé leurs résultats avec ceux effectués sur des matériaux dont les propriétés mécaniques sont connues. Un modèle théorique du processus d'indentation sur une membrane épaisse viscoélastique fut aussi comparé aux résultats expérimentaux.

Shin et al. [22] construisirent un cytoindenteur (Figure 2.18) et un modèle par éléments finis (Figure 2.19) d'indentation cellulaire pour tenter d'extraire les propriétés mécaniques intrinsèques de cellules individuelles osteoblastes. Leur modèle se sert de la théorie biphasique linéaire [61] pour représenter la cellule comme une mixture binaire d'un cytosquelette solide et d'un fluide cytoplasmique. Le processus d'indentation est simulé et un algorithme d'optimisation utilisé avec comme paramètres les propriétés mécaniques de la cellule dans le but de les déterminer en ajustant les courbes force-déplacement théoriques à celles obtenues expérimentalement. Les résultats sont : ratio de Poisson = $0,37 \pm 0,03$, perméabilité = $1,18 \pm 0,65 \times 10^{-10} \text{ m}^4/\text{N}\cdot\text{s}$ et le *compressive aggregate modulus* = $2,05 \pm 0,89 \text{ kPa}$.

2.2.6 Microscopie à force atomique

Le microscope à force atomique (AFM) (Figure 2.20 [62,63]) a vu le jour en 1986 et fut mis au point par Binnig et al. [64] Cet instrument sert à mesurer de très petites forces avec une résolution spatiale de l'ordre de l'Ångström. Il permet également un échantillonnage spatial rapide et occupe une place importante dans les études biologiques. Il consiste en une aiguille montée à l'extrémité libre d'une poutre en porte-à-faux. La déflexion de la poutre suite au contact (direct ou par force répulsive) de l'aiguille avec l'échantillon permet de déterminer la force de résistance. Le microscope à force atomique ressemble au micro-indenteur car il utilise la poutre en porte-à-faux mais l'AFM est à une échelle beaucoup plus petite que le micro-indenteur. Ce dernier ne peut pas effectuer de mesures à partir d'une force de répulsion seulement, il doit entrer en contact direct avec l'échantillon.

Voici quelques utilisations récentes du microscope à force atomique dans le

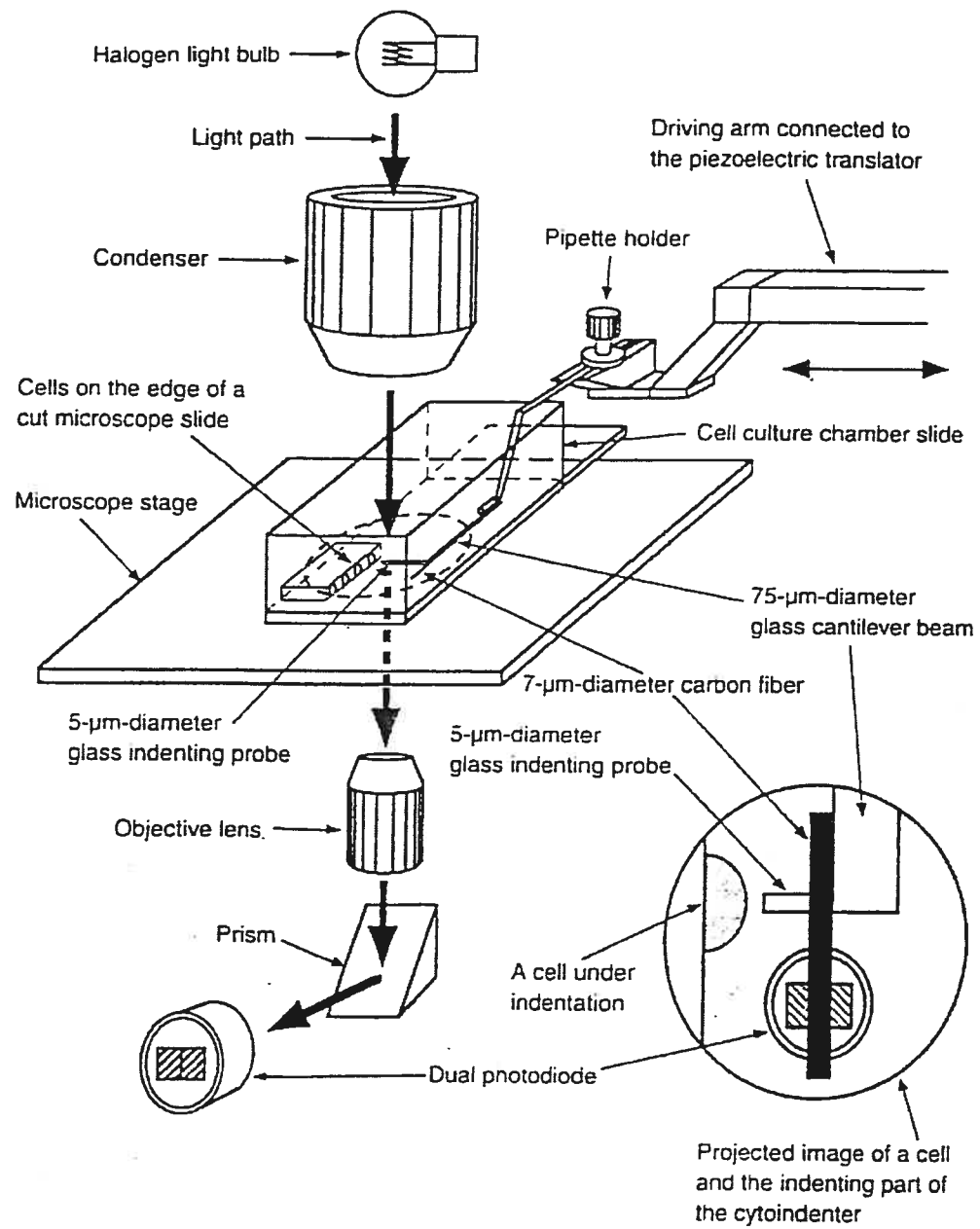


FIG. 2.18: Schéma du cytoindenteur. Source : Fig. 2 de Shin et Athanasiou [22].

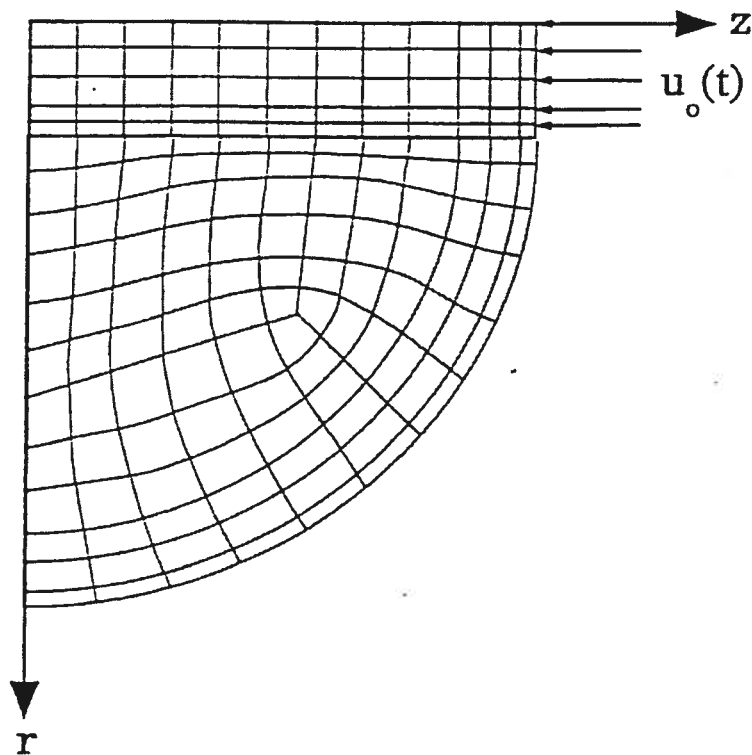
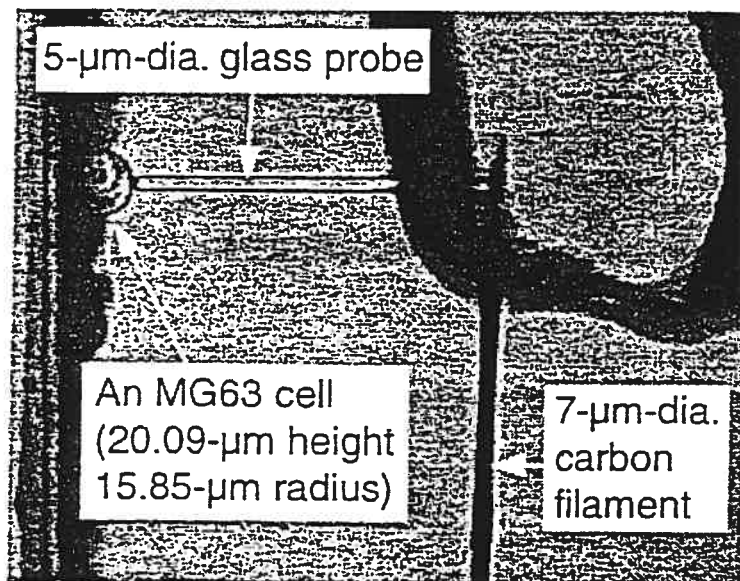


FIG. 2.19: Expérience de cytoindentation et modèle par éléments finis de Shin et al. Source : Fig. 5 de Shin et Athanasiou ^[22].

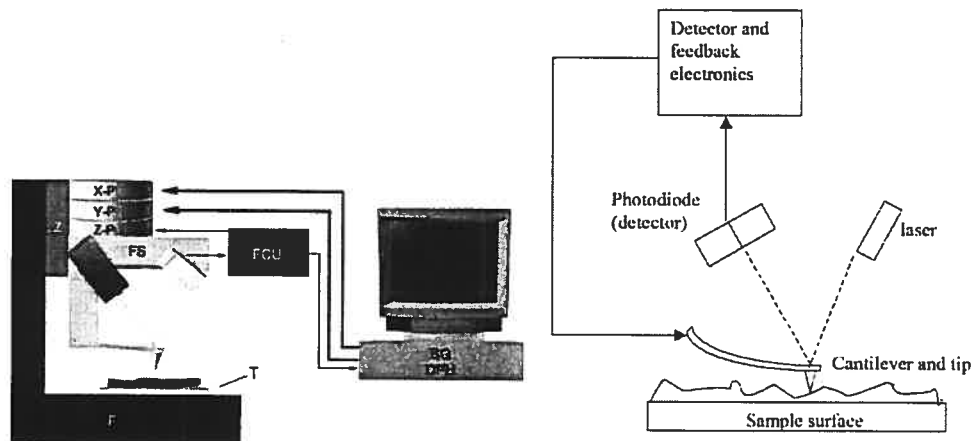


FIG. 2.20: Schéma du microscope à force atomique. Source : © Copyright 2002 Pacific Nanotechnology, Inc. et Chang 2002 [62,63].

domaine de la biologie cellulaire.

A-Hassan et al. [65] s'en sont servi pour établir des cartes géographiques basées sur l'élasticité relative entre deux positions sur la cellule, montrant ainsi les variations spatiales dans ses propriétés mécaniques.

Hutter et al. [66] utilisèrent la microscopie à force atomique pour étudier les effets de la fixation par glutaraldéhyde sur le module d'élasticité de cellules rhabdomyosarcoma d'humain. Les résultats ont montré qu'une fixation moyenne (0.5% glutaraldéhyde pour 60 s) augmente dramatiquement la valeur du module d'élasticité et améliore la reproductibilité des images.

La dynamique spatiale et temporelle des propriétés mécaniques du cytoplasme des keratocytes épidermale de poisson durant les étapes du processus de migration cellulaire ont été étudié par Laurent et al. [67] La rigidité des *lamellipodia* en fonction du temps et de la distance fut mesurée par microscopie à force atomique. Un gradient décroissant de rigidité est observé à partir de la pointe des *lamellipodia*. Le profile temporelle de la rigidité semble suivre celui de la densité d'actine.

Takai et al. [68] ont mesuré avec un microscope à force atomique le module d'élasticité apparent de cellules *osteoblast-like MC3T3-E1* en fonction de l'adhésion à différents substrats. Il dépend du substrat et du cytosquelette d'actine mais pas

des microtubules.

L'AFM a été utilisé par Zhao et al. ^[69] pour faire l'indentation d'hyphes fongiques. En combinant les résultats expérimentaux avec des simulations par éléments finis ils ont obtenus des valeurs pour le module d'Young de la paroi. Leurs observations montrent que la rigidité d'indentation dépend du module d'Young, du rayon de l'hyphe et de l'épaisseur de la paroi mais ne dépend pas de la pression de turgescence.

Obataya et al. ^[70] ont testé plusieurs aiguilles de forme (cône, pyramide, cylindre et prisme) et de dimensions (diamètre entre 200 et 800 nm) différentes montées sur un AFM afin d'étudier l'effet sur le processus de pénétration de membranes cellulaires. Ils ont observé que la forme joue un rôle significatif sur la probabilité de pénétration de la membrane.

2.3 Méthode des éléments finis

La méthode des éléments finis est une méthode d'approximation numérique utilisée pour la résolution de problèmes d'ingénierie et de physique. Cette méthode permet d'obtenir une solution approximative (mais souvent très précise) d'un problème défini par un système d'équations aux dérivées partielles dont une solution analytique est impossible à trouver. Le concept consiste à transformer ces équations en un système équivalent mais plus simple à résoudre, soit un système d'équations algébriques. Pour obtenir un tel système d'équations, l'objet ou l'espace étudié, qui est en réalité un milieu continu, doit être discrétisé, c'est-à-dire subdivisé en régions plus petites que l'on nomme éléments 2.21 ^[71]. À chaque éléments est associé un nombre fini de points lesquels sont appelés les noeuds 2.22 ^{[43]†}. Les équations définissant le problème sont d'abord formulées pour chacun des éléments finis et ensuite combinées par l'intermédiaire des noeuds afin d'obtenir la solution

[†]Généralement les noeuds sont situés à chacun des sommets des éléments finis mais certains noeuds peuvent être situés sur la frontière d'un élément, entre deux sommets. ou à l'intérieur de l'élément.

du système pour chaque noeud. La solution pour tout point (x, y, z) à l'intérieur du domaine étudié est donnée par une approximation (une fonction continue) faite sur chaque élément à partir de la solution trouvée pour les noeuds. L'ensemble de tous les éléments finis constitue le maillage (*mesh*). La continuité entre les éléments est imposée. Il existe plusieurs méthodes pour calculer la solution d'un problème par éléments finis. Les formulations intégrales sont souvent les plus flexibles. Des détails sur la modélisation sont donnés dans le chapitre 3.

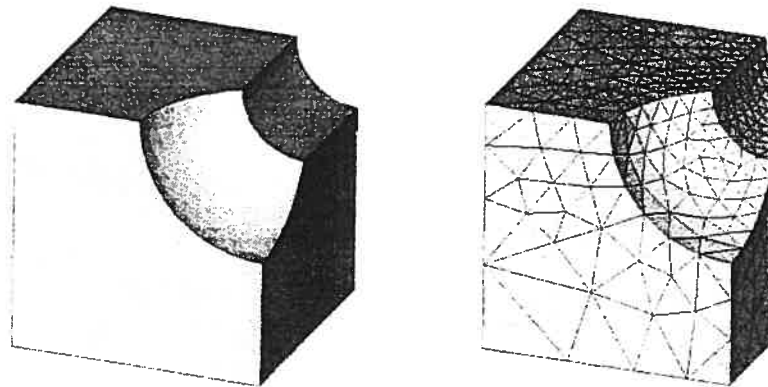


FIG. 2.21: Illustration d'un maillage par éléments finis. Source : Fig. 7.6 de ANSYS Modeling and Meshing Guide 2003 ^[71].

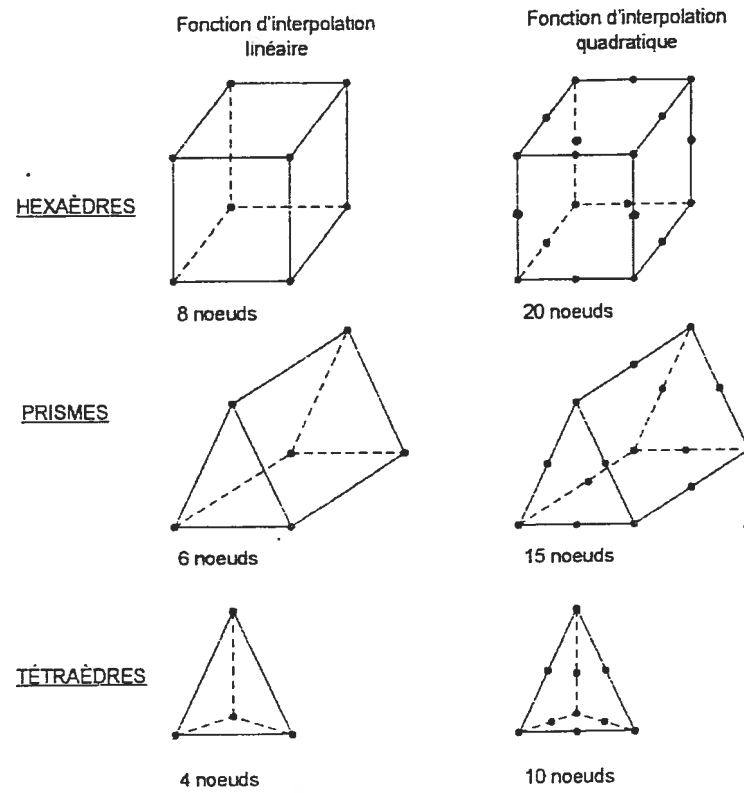


FIG. 2.22: Représentation de types d'éléments finis. Source : Fig. Éléments de volume (Solides 3D) de McIntyre et Marchand 2003 ^[43].

CHAPITRE 3

ARTICLE *FINITE-ELEMENT ANALYSIS OF GEOMETRICAL FACTORS IN MICRO-INDENTATION OF POLLEN TUBES*


Le troisième chapitre est composé de l'article *Finite-element analysis of geometrical factors in micro-indentation of pollen tubes* soumis à la revue *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology* de Springer. En tant que premier auteur, j'ai mené toutes les recherches, effectué tous les modèles et les analyses de résultats présentés dans cet article. J'ai écrit une première version complète de l'article et procédé à l'intégration des améliorations apportées par les co-auteurs, Anja Geitmann, codirectrice, Laurent J. Lewis, directeur et Carl-Éric Aubin, collaborateur. Les sections 3.1 à 3.4 furent presque complètement réécrites par Anja Geitmann qui suggéra également plusieurs points de discussion. L'annexe I détaille la théorie de l'élasticité utilisée dans les modèles présentés dans l'article.

Finite-element analysis of geometrical factors in micro-indentation of pollen tubes

Jean-François Bolduc¹, Laurent J. Lewis¹, Carl-Éric Aubin³, Anja Geitmann²

¹*Département de Physique, Université de Montréal, C.P. 6128 Succursale
Centre-Ville, Montréal, Québec, H3C 3J7, Canada*

²*Institut de Recherche en Biologie Végétale, Université de Montréal, 4101 rue
Sherbrooke est, Montréal, Québec, H1X 2B2, Canada*


Tel. : +1-514-872 8492, Fax : +1-514-872 9406

³*Mechanical Engineering Dept., École Polytechnique de Montréal, PO BOX 6079,
Station Centre-ville, Montréal, Québec, H3C 3A7, Canada*

Micro-indentation is a new experimental approach to assess physical cellular properties. Here we attempt to quantify the contribution of geometrical parameters to a cylindrical plant cell's resistance to lateral deformation. This information is important to correctly interpret data obtained from experiments using the device, such as the local cellular stiffness in pollen tubes. We built a simple finite-element model of the micro-indentation interacting partners - micro-indenter, cell (pollen tube), and underlying substratum, that allowed us to manipulate geometric variables, such as geometry of the cell, cell radius, thickness of the cell wall and radius of the indenting stylus. Performing indentation experiments on this theoretical model demonstrates that all four parameters influence stiffness measurement and can therefore not be neglected in the interpretation of micro-indentation data.

3.1 Introduction

An integrative approach to understanding the biology of the cell cannot be confined to biochemical and genetic processes; it has to take into account the mechanical interaction between cellular components. The importance of the mechanical

aspects of cell biology is evident in cellular functions such as mechanotransduction, in which biochemical signaling cascades are triggered upon mechanical stimulation of a cell. Cellular architecture is determined essentially by the interaction between the cytoskeletal elements and the plasma membrane. The architecture of plant cells is more complex due to the presence of two additional structural features : the cell wall - a more or less stiff extracellular matrix surrounding the cell - and the turgor - a hydrostatic pressure whose establishment depends on the presence of the cell wall.

To understand the physical properties and the mechanical interactions between these structural components, various techniques have been used in the past. All of them had the purpose to measure physical properties of individual cellular components or structural entities on subcellular level. They include magnetic twisting cytometry [27, 72], ball tonometry [20, 52], micro-manipulation [35, 73], micropipette aspiration [26], atomic force microscopy (AFM) [65], optical tweezers [72], cytoindentation [22], and turgor pressure probe [12]. Another powerful tool that has delivered very interesting data is micro-indentation. The principle of this technique is similar to that used in AFM as it is based on a cantilever, the deformation of which gauges the local cellular stiffness. The difference lies in the experimental setup and the scale of deformations which is an order of magnitude above that common for AFM. Micro-indentation has been applied to both animal [53, 54] and plant cells [1-4]. In animal cells, local deformations carried out by micro-indentation essentially measure the resistance exerted by intracellular cytoskeletal structures, since the surrounding plasma membrane is very pliable. Having a cell wall and a turgor pressure, living plant cells on the other hand possess an exoskeleton and a hydrostatic skeleton in addition to the cytoskeleton. Both are likely to produce considerable resistance to mechanical deformation. Since deformations applied during micro-indentation are large enough to affect cell shape, the geometrical structure of the investigated cell as well as that of the indenting stylus need to be taken into consideration in the

case of plant cells. The present work aims at developing a mechanical model for the interaction between plant cell and the micro-indentation stylus in order to be able to correctly analyze quantitative data obtained by micro-indentation of this type of cell. We used finite-element modeling to be able to accommodate complex cellular geometries in the future.

3.2 Micro-indentation

The micro-indenter performs local deformations on a cell and measures its resistive force as a function of the depth of the deformation. Similar to AFM, the technique is based on the cantilever principle: details of this instrument have been published elsewhere ^[53,54]. Briefly, a horizontal Vycor glass beam with known bending constant is controlled by a linear piezoelectric motor (LPM) which is programmed to perform vertical movements. A vertical cylindrical glass stylus attached to the free end of the Vycor glass beam makes contact with the cell. Optical sensors monitor the vertical positions of the stylus and the motor. The extent to which the Vycor glass beam is bent is proportional to the force exerted on the stylus by the cell and is determined by comparing tip displacements in the presence and absence of cell contact. This force is determined with the help of the force constant of the beam, which is obtained by prior calibration. The cellular stiffness is obtained by calculating the slope of the linear part of the force-deformation graph.

3.3 The pollen tube as a model system

As a first attempt to model the interaction between the micro-indenter and a plant cell, we chose pollen tubes as a model system. These cells grow individually, thus are independent of surrounding tissues. They are readily manipulated for micro-indentation and their simple cylindrical geometry makes them an ideal object for modeling. Pollen tubes are the carrier of the males gametes in flowering plants. They are formed from a pollen grain upon contact with the stigma of a receptive

flower. Their function is the transport of the gametes from the pollen grain to the ovule thus permitting fertilization.

Pollen tubes have a cylindrical shape with a diameter of 5 to 15 μm , depending on the plant species. Their length can reach several cm with the viable part of the cytoplasm being confined to the apical region of the cell having a length of several hundred μm . The latter is separated from the distal degenerating region by a plug consisting of callosic cell wall material. The apex of the rapidly elongating cell is roughly hemisphere-shaped and all growth activity is confined to this region. Pollen tubes grow by tip growth, a process that is characterized by the local confinement of secretory activity to the growing apex. Some secondary addition of cell wall material in the form of cellulose and callose, that are produced by plasma membrane located synthases, occurs at distal parts of the cell. These polymers are believed to enhance mechanical support and resistance. However, the bulk of new cell wall material in the form of pectin polymers is added at the apex by secretion resulting in the non-uniform expansion of the cell. The result of this polar mode of growth is a cell wall the thickness of which does not vary very much around the cell (100 to 200 nm), but which shows a high degree of non-uniformity along the longitudinal axis concerning the distribution of its components. Methyl-esterified pectins are the major component in the apex, and pectins with a decreasing degree of esterification as well as cellulose and callose form the distal cell wall. This biochemical non-uniformity has long been purported to cause the apical cell wall to be less stiff than the distal regions. And it is this non-uniform distribution of physical properties which is necessary to explain the growth behavior of the cell. If physical cell wall properties were uniform on the entire cell surface, turgor pressure would cause a balloon-like swelling, since circumferential tensile stress in a cylinder is twice as high as wall stress in the hemisphere-shaped apex. Instead, expansion occurs only at the apex. For the turgor to drive this local expansion, the cylindrical part of the cell wall must be stiffer than the apex.

While the structural and theoretical evidence for a softer cell wall at the apex is compelling, it is nevertheless circumstantial. It was only recently that mechanical experiments confirmed that the non-uniform distribution of the physical properties of the cell wall might actually exist ^[3,4]. Micro-indentation showed that local cellular stiffness is considerably lower at the apex of a growing pollen tube than at the distal part of the cell. In addition, visco-elastic behavior differed between the two parts of the cell. However, several structural features can be involved in the dramatic difference in cellular stiffness measured between the apical region and the shank of the pollen tube : a) the almost complete absence of a substantial actin cytoskeleton in the apex, whereas a dense mesh of actin filament is present in the subapical area ^[1] ; b) the non-uniform distribution of cell wall components ^[1,3] ; c) the geometry of the cell which differs between the hemisphere-shaped apex and the cylindrical distal region. The last point is critical for the interpretation of the data obtained by micro-indentation, since it has the potential to mask effects caused by the non-uniform distribution of structural cellular molecules. Therefore, in the present paper, we attempt to determine numerically how much the geometry of the cell influences quantitative measurements in micro-indentation experiments.

3.4 Objectives of the modeling approach

The following geometrical parameters will be considered when analyzing the effect of geometry on quantitative data obtained by micro-indentation experiments on pollen tubes : a) cellular geometry (hemisphere vs. cylinder), b) radius of the cylindrical cell, c) thickness of the cell wall, d) radius of the indenting stylus. The first is pertinent for the evaluation of semi-quantitative data already published ^[1,3,4], whereas the others will be pivotal for future quantitative approaches to determine the physical properties of pollen tubes and other cylindrical cells such as root hairs, fungal hyphae and moss protonemata. Therefore, the objective of this paper is to use modeling to obtain quantitative micro-indentation data showing the effect of

each of the four parameters mentioned above.

3.5 Finite-element model of the interaction between pollen tube and micro-indenter

We chose finite-element methods to model the interaction between pollen tube and micro-indenter because they allow us to control and isolate geometrical parameters in a much better way than what can be done experimentally. We used the program ANSYS 8.0 (ANSYS Inc.) for its non-linear analysis capabilities like large deformation and contact algorithms which are required to solve our problem. In a micro-indentation experiment, the cell lies on a flat rigid surface (the glass bottom of the experimental chamber). A rigid object (the stylus of the micro-indenter) can be placed at various positions on the top of the cell and moved downward thus compressing the cell against the underlying substratum. The finite-element model is composed of these three parts. The central part is the pollen tube; its representation as a finite-element model will change according to the question to be answered, as detailed below. The bilateral symmetry allows us to reduce the number of nodes and elements by modeling only half of the structure. The figures show the complete model, however.

3.5.1 Contact areas

The micro-indentation process involves a contact between the stylus and the cell and another one between the cell and the rigid substrate. Thus, the finite-element problem at hand necessitates the generation of two contact pairs. A contact pair consists of two surfaces, one called the target surface and the other called the contact surface, made of special elements designed to detect, control and perform contact between parts of a finite-element model. Here, both could be considered as rigid-to-flexible since the cell is a soft deformable object. There was no need to model the stylus and the substratum as volume objects; modeling them as

rigid (target) surfaces using ANSYS TARGE170 elements (3 nodes triangular plane shape) was sufficient and computationally more efficient. Possible regions of contact on the pollen tube with each rigid surface (for the stylus, the upper half of the tube twice as large as the indenter, and for the substrate, the lower half of the tube) were covered with CONTA173 elements (3 nodes triangular plane shape), thus making the contact surfaces to create the two contact pairs discussed above.

3.5.2 Micro-indenter stylus

The micro-indenter stylus consists of a glass cylinder and is the part of the micro-indenter apparatus that makes contact with the cell. Its shape was approximated by a rigid surface made of 256 TARGE170 elements, 283 nodes and one pilot node. A pilot node is a special element consisting of a single node and used to control the movement of its associated rigid target surface, like a handle. It allows the displacement to be applied and the resistive force to be obtained at this particular node for the entire rigid surface that is associated with it. The stylus radius was set to $R = 5.5 \mu\text{m}$ in all analyses that did not involve a change in this parameter. Other stylus dimensions (see Fig. 3.1) were set according to the following ratios, F/R at 30% and H/R at 55% which were chosen to approximate the real shape of the indenter. These ratios were kept constant when varying the stylus radius. To simulate the indentation process a vertical (downward) displacement of $2.0 \mu\text{m}$ (with initially no space between the indenter and the tube) was imposed on the pilot node while keeping all other degrees of freedom fixed at zero (see Sect. 3.5.6 for analysis procedure).

3.5.3 Glass bottom

The glass bottom of the experimental chamber on which the pollen tube lies is represented by the rigid substratum. In the model, it only has to be large enough to support the compression of the tube by the stylus. The width of the rigid sub-

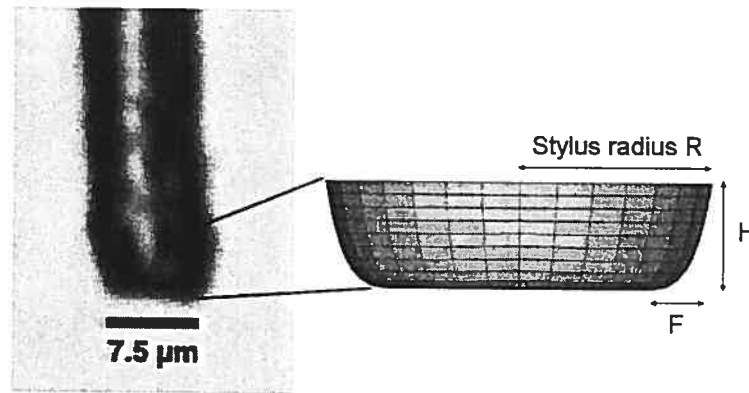


FIG. 3.1: Micro-indenter stylus seen in the optical microscope (left) and finite-element model used for the simulations (right). When varying the stylus radius (R) in the models, we kept the ratio F/R at 30% and H/R at 55%.

stratum was chosen to be as large as the tube diameter and its length to be longer than the tube by one time its radius. The substratum ends flush with the distal end of the tube and protrudes at the apex. A total of 204 nodes and 150 TARGE170 elements plus 1 pilot node were used (Fig. 3.2). Using the pilot node, all degrees of freedom of the substratum were fixed to zero thus preventing any movement of the substrate.

3.5.4 Pollen tube

The present approach focuses on finding the role of geometrical parameters of the pollen tube cell and micro-indenter apparatus for micro-indentation results. More specifically, our goal is to quantify the influence of pollen tube geometry, radius, cell wall thickness and micro-indenter stylus radius. Considering the type of questions asked, a simple model of the pollen tube seems appropriate. The regions of interest for our micro-indentation simulations are far from the pollen grain, at a distance of at least $200\ \mu\text{m}$. The grain is therefore very unlikely to influence our results and therefore was not modeled (see Sect. 3.5.5).

Any cytoplasmic structures, such as cytoskeletal elements and turgor, were neglected. We considered the cell wall in the model, because its features are the object

of biological studies in our laboratory. Plant cell mechanical models previously proposed by other researchers share common global features, the plant cell wall being a major structural component. The derivation of a mathematical model for the mechanical behavior of the plant cell wall from its structural molecular and/or network configuration is still not feasible. Although the mechanical properties of the cell wall for elongating cells are believed to be anisotropic, no mathematical formulation exists to describe it [74]. Therefore our model consists of an isotropic homogeneous linear elastic membrane, as suggested by Bruce [74] and used by many others [75,76], futur studies might include cell wall inhomogeneity. It surrounds a linear elastic core, also isotropic and homogeneous. Throughout the four analyses, physical parameters were kept constant ; they are shown in Table 3.1. The Young's modulus and Poisson's ratio of the cell wall were obtained from published data on the mechanical properties of primary plant cell wall analogues like cellulose/pectin composites [77]. Wang et al. [35] reported that the Poisson's ratio of the shell had very little effect on force-deformation data from modeling compression of spherical plant cells ; they used 0.4. We used the value of 0.3 given in Chanliaud et al. [77]. Estimations of the Young's modulus for plant cell walls span one order of magnitude, from several hundreds MPa to a few GPa [35] ; our 185 MPa value is taken from the same paper as the Poisson's ratio and corresponds to the lower end of that range. While the living pollen tube is filled with cytoplasm - an aqueous solution, we modeled it as a solid. To mimic the behavior of water we set its physical properties to produce a small resistance to shear and elongation but large resistance to compression (high bulk modulus).

Cell wall Young's modulus	Cell wall Poisson's ratio	Core Young's modulus	Core Poisson's ratio
185 MPa	0.3	1 Pa	0.49

TAB. 3.1: Values of the physical parameters values which are kept constant for all models throughout the four analyses.

The pollen tube geometry is idealized by a 150 μm long cylindrical shell cap-

ped at one end by a hemispherical shell of the same radius representing the apex (Fig. 3.2); the other end is flat. Table 3.2 shows the standard values of the geometrical parameters used in the model and the range of tested values to evaluate their role. Note that the tube length was identical in all analyses.

	Pollen tube radius	Cell wall thickness	Stylus radius
Standard value	3 μm	200 nm	5.5 μm
Range of tested values	3 to 7 μm	100 to 300 nm	1.5 to 5.5 μm

TAB. 3.2: Parameters used in the present model. The range of tested values is limited to those that are biologically and technically relevant.

While the ranges of values for the different structural features represents the variability encountered in different plant species, the dimensions used for standard cell wall thickness (200 nm) and pollen tube radius (3 μm) (Table 3.2) are those of a typical *Solanum chacoense* pollen tube - the species used in previous publications employing micro-indentation.

Generation of the mesh was done with ANSYS free meshing algorithm. The tube's core was meshed first using ANSYS SOLID185 elements (8 nodes 3D structural solid) in tetrahedral shape. The region of the tube beneath the stylus had a denser mesh with element size approximately 1/10 of the stylus radius; element size in the regions away from the deformation zone could reach the tube's radius. The cell wall membrane was made of SHELL181 elements (4 nodes structural shell) generated around the core thus using the same nodes already at the surface of the tube which are attached to the solid elements. However, the rotational degrees of freedom of the shells could not be transferred to the solid elements because they do not have these degrees of freedom. The number of nodes (between 4000 and 10 000) and elements (between 20 000 and 50 000) present in the pollen tube model were highly dependent on its dimensions, the position and the radius of the stylus.

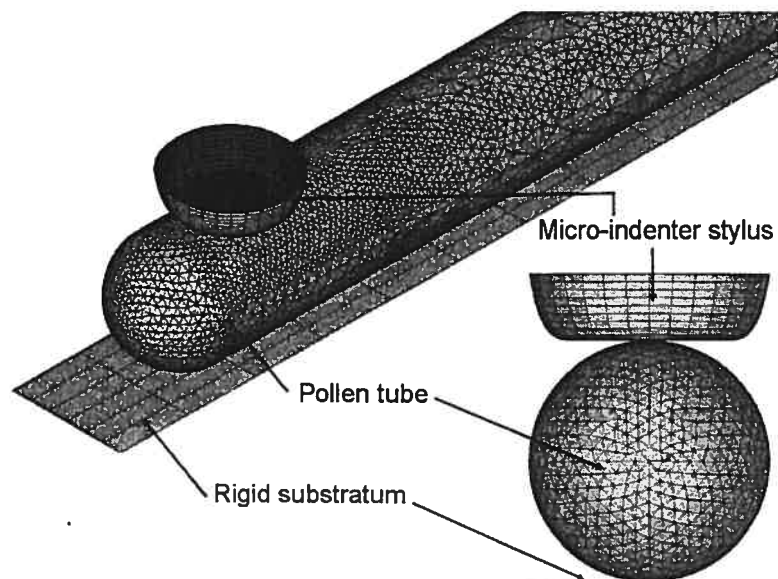


FIG. 3.2: Isometric view (upper left) and front view (lower right) of a typical finite-element representation of the three parts composing the model of the micro-indentation experiment on a pollen tube.

3.5.5 Boundary conditions

For all nodes intersecting the plane of bilateral symmetry, translational and rotational degrees of freedom that take them out of the plane of symmetry were constrained to zero. For the pollen tube, fixed boundary conditions were set at the flat end of the tube where the continuation of the tube and the pollen grain should be. In practice the boundary conditions serve as constraints to prevent the tube from rigid body motion. In the micro-indentation experiments the tubes are glued to the bottom of the experimental chamber using poly-L-lysine or stigmatic exudate. Therefore, for the nodes located at the bottom line of the tube, which is already in contact with the rigid substrate, all three translational degrees of freedom were set to zero. This boundary condition prevents the tube from slipping away when the indentation is performed. Boundary conditions on pilot nodes of stylus and substrate are given in their respective descriptions (Sect. 3.5.2 and 3.5.3).

3.5.6 Vertical stylus displacement and type of analysis

Simulation of the micro-indentation process was done by imposing a vertical downward displacement on the surface representing the micro-indenter stylus and measuring the resistive force exerted on it by the tube. The contact problem and expected large deformation of the tube make the problem highly non-linear. Therefore, the total displacement of $2.0 \mu\text{m}$ was applied by increments of $0.2 \mu\text{m}$, each of these representing a load step. Since all materials in the model are time-independent, a quasi-static analysis could be used and we solved it using the sparse solver and the Newton-Raphson iterative method provided in ANSYS.

3.5.7 Positions along the pollen tube

The position of the micro-indenter stylus along the longitudinal axis of the tube was determined in the following way. The stylus position was measured from the very tip (position zero) of the pollen tube apex up to the center of the stylus (Fig. 3.3). For the three parameters, pollen tube radius, cell wall thickness and stylus radius, indentations were performed at two positions, one at $5 \mu\text{m}$ thus indenting the tube where its geometry undergoes a change in shape passing from a cylinder to an hemisphere, and another at $35 \mu\text{m}$ deforming the tube where its shape is a cylinder. In the following these two positions will be called apex and distal respectively. This choice of positions, although arbitrary, is justified by the shape difference mentioned above as well as by the first result presented below showing the variation of stiffness along the tube's longitudinal axis. For the investigation of the role of the pollen tube radius, these positions have to be adjusted to compensate for the longer (or shorter) hemisphere that a change in tube radius implies. The apex $5 \mu\text{m}$ and distal $35 \mu\text{m}$ positions were chosen for a tube radius of $3 \mu\text{m}$. Increasing the tube radius required an increase of both positions by the same amount in order to compare only the effect of pollen tube radius and not that of the change in position of the stylus due to the change in length of the tube. For example, for a

tube radius of $4\ \mu\text{m}$ the positions will be $6\ \mu\text{m}$ and $36\ \mu\text{m}$ for the apex and distal positions, respectively.

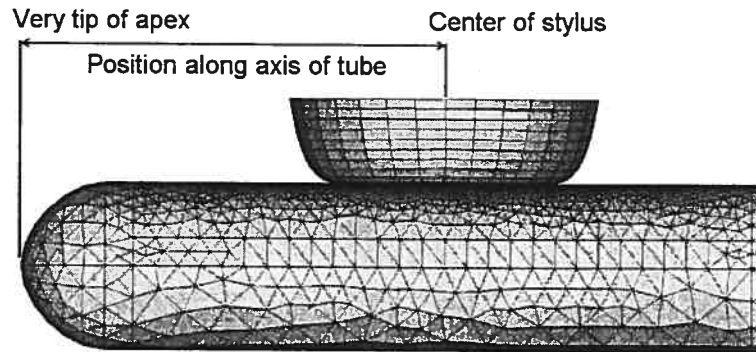


FIG. 3.3: Determination of positions along the tube's longitudinal axis.

3.6 Définition of stiffness

Previous publications of micro-indentation data on pollen tubes ^[1-4] defined the stiffness of the tubes as the slope of the linear part of the force-displacement graphs at constant maximal deformation depth. A similar definition was given by Petersen et al. ^[54] for micro-indentation on fibroblasts and by Mitchison and Swann ^[78] for compression tests on sea urchin eggs. This method could not be used for our finite-element results because we do not have enough data points to clearly identify the linear part of the curve. Since in the experiments the linear part generally corresponded to the interval between $1.0\ \mu\text{m}$ and $2.0\ \mu\text{m}$ of vertical displacement of the stylus, we chose to do a linear regression on this portion of our theoretical force-displacement graphs. The obtained slope was defined as the stiffness of the tube.

3.7 Results

3.7.1 Geometry of the tube

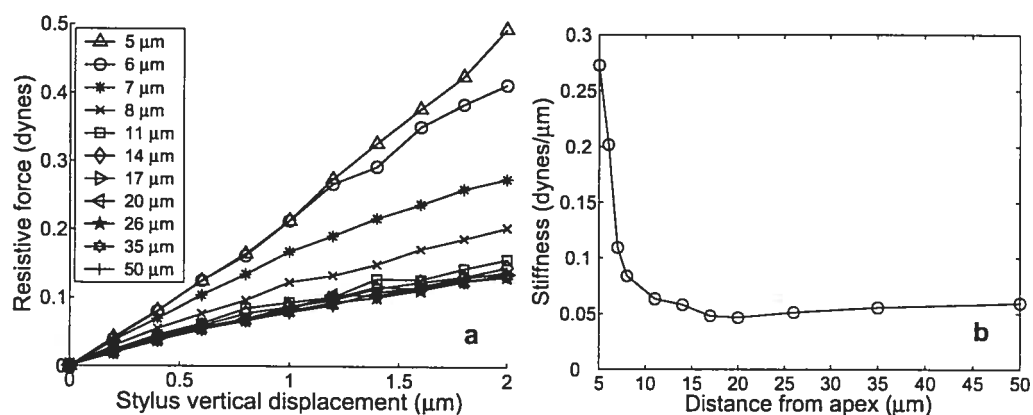


FIG. 3.4: a Force-displacement curves of micro-indentation simulations at different positions along the longitudinal axis of the tube. The legend gives these positions in μm calculated from the very tip of the apex. b Stiffness of the cell (y -axis) plotted against position on the tube (x -axis, corresponding to the positions given in the legend of figure a).

Using the finite-element model we calculated the stiffness of the pollen tube at discrete positions, from 5 to 50 μm (see Sect. 3.5.7), along its longitudinal axis. Figure 3.4 shows that the stiffness is high at the apex and decreases rapidly between 5 and 16 μm from the apex whereas further away it remains approximately constant. The stiffness at the apex (5 μm) is almost fivefold higher than the distal (35 μm) value. This result reveals the impact of the difference in geometry between the apex and the distal region on the pollen tube's resistance to lateral deformation by micro-indentation.

3.7.2 Pollen tube radius

The pollen tube radius varies from one species to another: investigating the influence of this parameter will reveal how experimental results should be interpreted when comparing species with different radii. Figures 3.5a and b show the force-displacement curves for various pollen tube radii for the apex (a) and the

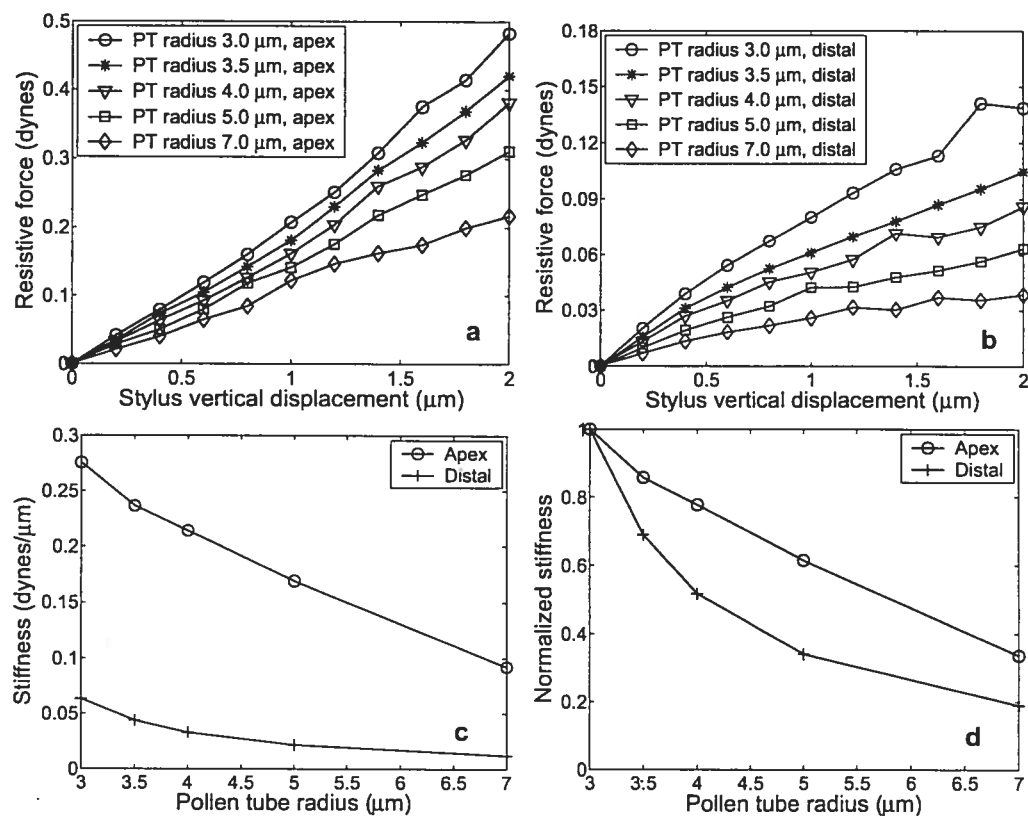


FIG. 3.5: **a, b** Influence of pollen tube (PT) radius on force-displacement curves for the apex and distal regions, respectively. **c, d** Stiffnesses for pollen tube radius varying from 3 to 7 μm .

distal (b) regions. In Fig. 3.5c and d we can observe that smaller pollen tubes offer more resistance to deformation in both regions. The stiffness is three times higher and five times higher for the apical and distal positions, respectively, when going from a 7 μm to a 3 μm pollen tube radius.

3.7.3 Cell wall thickness

Previous studies on compression of spherical plant cells have demonstrated that the thickness of the cell wall plays an important role in the resistance to deformation [35]. Electron microscopical analysis of this parameter for pollen tubes has revealed that it is generally within a range of 100 to 200 nm. This range of values contains sufficient uncertainty to warrant analysis of the effect of cell wall thickness on

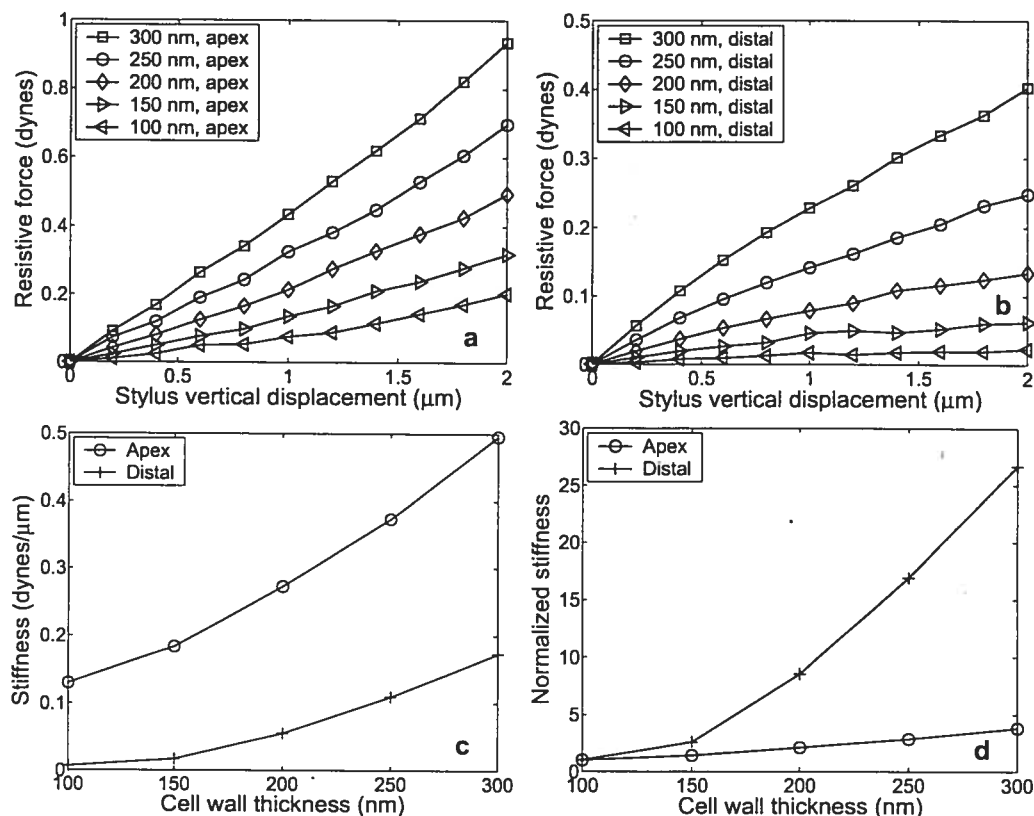


FIG. 3.6: a, b Influence of the cell wall thickness on force-displacement curves for the apex and distal regions, respectively. c, d Stiffnesses for cell wall thickness varying from 100 to 300 nm.

stiffness. We tested 5 different thicknesses : 100, 150, 200, 250 and 300 nm. The cell wall was composed of shell elements (SHELL181 in ANSYS) of constant thickness, i.e. for each of the simulations there was no thickness variation along the tube (nor was there any variation in mechanical properties). The effect of thickness was investigated at two positions on the tube, the apex and distal, as shown in Fig. 3.6. As expected, changing the thickness of the cell wall affect the stiffness of the cell, the apex stiffen by a factor of 4 and the distal region by a factor of 27 when increasing the thickness from 100 to 300 nm.

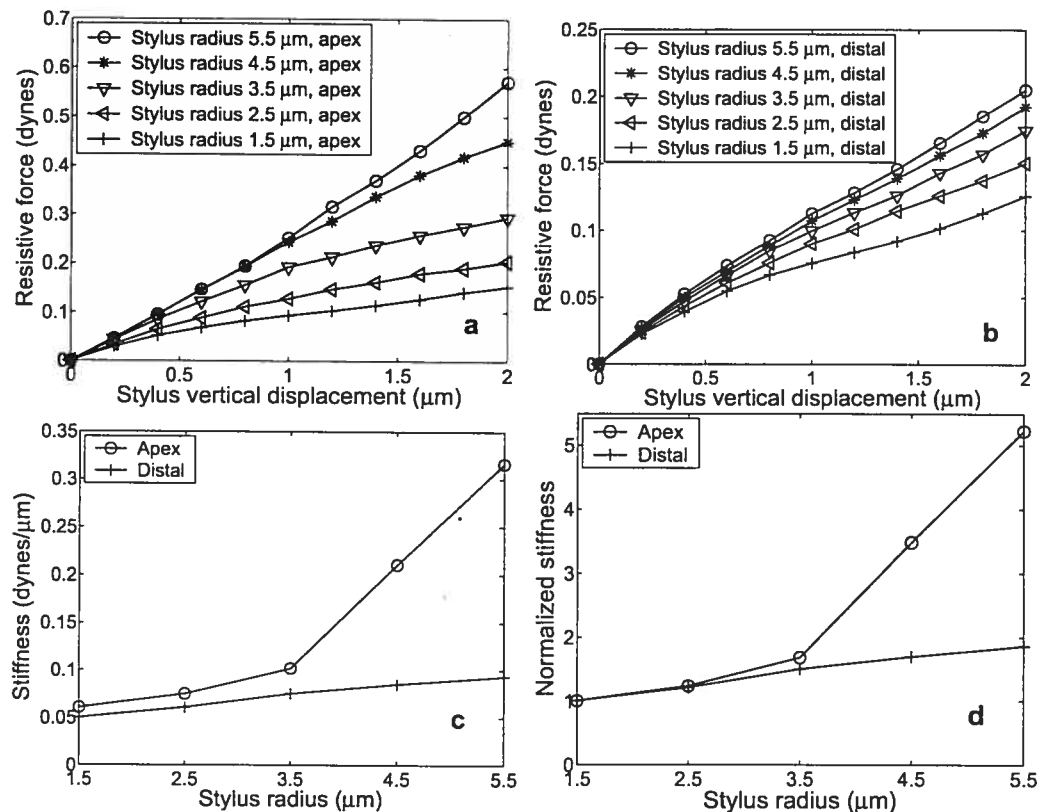


FIG. 3.7: a, b Influence of micro-indenter stylus on force-displacement curves. c, d Stiffnesses for stylus radius varying from 1.5 to 5.5 μm .

3.7.4 Radius of the micro-indenter stylus

The real micro-indenter stylus is made of glass; its dimensions and shape make it a very fragile component of the micro-indenter apparatus. It can easily be broken and thus needs to be replaced. Producing a stylus of exactly the same size and shape is rather difficult with the procedure presently used. Therefore, we wanted to know to which degree stiffness values are influenced by the diameter of the stylus. For both the apex and distal regions, the apparent stiffness increases significantly when the stylus radius is increased from 1.5 to 5.5 μm (Fig. 3.7). However, the effect is greater at the apex, with a fivefold increase than at the distal region which only had a twofold increase. Interestingly the apex showed a much steeper increase in stiffness for stylus radius higher than 3.5 μm which is nearly equal to the standard

3 μm pollen tube radius used for the analysis. The stiffness in the distal part on the other hand showed a smooth linear increase.

Stiffness	Tube geometry	Pollen tube radius	Cell wall thickness	Stylus radius
Apex ($5 \mu\text{m}$)	5x distal value	$7 \rightarrow 3 \mu\text{m}$, ↗ $3x$	$100 \rightarrow 300 \text{ nm}$, ↗ $4x$	$1.5 \rightarrow 5.5 \mu\text{m}$, ↗ $5x$
-10% standard value	Does not apply	Value not available	↘ 15%	Does not apply
+10% standard value	Does not apply	↘ 9%	↗ 14%	Does not apply
Distal ($35 \mu\text{m}$)	1/5 of apex value	$7 \rightarrow 3 \mu\text{m}$, ↗ $5x$	$100 \rightarrow 300 \text{ nm}$, ↗ $27x$	$1.5 \rightarrow 5.5 \mu\text{m}$, ↗ $2x$
-10% standard value	Does not apply	Value not available	↘ 33%	Does not apply
+10% standard value	Does not apply	↘ 19%	↗ 36%	Does not apply

TAB. 3.3: Summary of results, ↗ (↘) X% means increase (or decrease) of the stiffness by X%.

3.8 Discussion

We analysed four geometrical parameters that might have an influence on the values measured for stiffness of cylindrical plant cells such as pollen tubes using micro-indentation. The first parameter is the tube geometry, which changes from hemispherical to cylindrical when moving from the apex to the distal region. Previously we had shown that the stiffness of the pollen tube exhibits a gradient along the longitudinal axis ^[1]. Starting with a lower value at the apex the stiffness increases rapidly within the first 20 μm of the tube and then remains approximately constant further away from the apex. In *Solanum chacoense* pollen tubes, which is the species on which the geometrical parameters in this modeling approach are based on, the distal stiffness amounted to around $0.48 \text{ dynes}\cdot\mu\text{m}^{-1}$, whereas the apical stiffness was around $0.41 \text{ dynes}\cdot\mu\text{m}^{-1}$, thus significantly lower ^[3]. In other species this difference is even more pronounced ^[1]. We wanted to know whether this effect was partly or maybe even completely due to the geometry of the cell as opposed to the gradient in the biochemical composition of the cell wall. Our model shows a behavior in opposite to the experimental data. In a hypothetical tube with uniform cell wall properties, the apex is expected to be much stiffer than the tubular distal part. If anything, geometry therefore masks part of the softening effect that the biochemical gradient has on living pollen tubes. With a stiffness of $0.05 \text{ dynes}\cdot\mu\text{m}^{-1}$ in the distal part and $0.27 \text{ dynes}\cdot\mu\text{m}^{-1}$ in the apex, the values obtained by our modeling approach are in the same order of magnitude but not identical to the experimental values. This is probably due to several factors : the turgor pressure is not considered in the model, and the physical parameters for the mechanical cell wall properties are not based on experimental data specifically from pollen tubes but more general material properties obtained from literature. Nevertheless, the fact that the values obtained with our model are in the correct order of magnitude allows us to conclude that this is a good model to start out with when building a more complex version.

The pollen tube radius is rather stable in *in vitro* cultures of individual species but varies considerably between species. Therefore we wanted to investigate how changes in pollen tube radius could affect micro-indentation results. We compared a range of pollen tube radii that can be encountered in the plant species generally used in our lab. Our simulations reveal a strong influence of the radius on the values measured for stiffness with augmentation as high as threefold for the apex and fivefold for the distal region when comparing a pollen tube with a 3 μm radius to another one having a 7 μm radius. These values represent the extremes on a biologically relevant range of pollen tube dimensions. Keeping all other variables constant, smaller tubes are stiffer. This is not surprising, since if the absolute wall thickness is kept constant, the ratio between wall thickness and tube radius is bigger in smaller tubes. However, even if we look at the presumed small variability of the radius within a single species (estimated to be around $\pm 10\%$ of the average value), our results show that we must expect a considerable effect on stiffness. For example, the stiffness decreases by 9% and 19% for the apex and distal regions, respectively (Table 3.3) for a pollen tube radius 10% bigger than 3 μm that would be the typical value for *Solanum chacoense* pollen tubes. Interestingly, the relationship between stiffness and pollen tube radius appears almost linear for the apex region, whereas it was rather non-linear for the distal one (Fig. 3.5d). The decrease of 19% for the distal part corresponds to the steepest part of the curve. This implies that species with larger radii should show a smaller variability within a population of cells.

Cell wall thickness *in vivo* is rather constant. However, according to our model an estimated variability of $\pm 10\%$ in thickness in the cell wall of a single pollen tube could result in changes in stiffness of approximately $\pm 15\%$ and $\pm 35\%$ for apex and distal regions, respectively (Table 3.3). The stiffness curves are almost linear except for cell wall thicknesses lower than 150 nm, as shown in Fig. 3.6d. Even more dramatic were the changes observed for the range of thicknesses investigated (100 to 300 nm) which showed an increase by a factor of 4 in apex stiffness and by a factor of

27 for the distal region. These results demonstrate clearly that the cell wall thickness is a very important variable that strongly influences micro-indentation results. As a consequence, drug or enzyme treatments used to alter cell wall biochemistry need to be carefully analysed for their effect on cell wall thickness.

In the past, while we worked with different sizes of stylus, we never changed the stylus within a series of experiments. This care proves to be sensible, since the model shows that the stiffness measurements made at the apex were highly sensitive to the size of the stylus when its radius exceeds that of the cell. The standard value of pollen tube radius being $3\ \mu\text{m}$, two linear parts could be distinguished in the stiffness curve for the apex. The first exhibiting a raise by a factor of 1.7 between 1.5 and $3.5\ \mu\text{m}$ and the second a much steeper increase by a factor of 3 between 3.5 and $5.5\ \mu\text{m}$ for an overall fivefold increase in stiffness for the total range of stylus radii tested (Fig. 3.7d). On the other hand, measurements at the distal region were less affected by the stylus radius but did show a noticeable linear twofold increase in stiffness between 1.5 and $5.5\ \mu\text{m}$ stylus radius. Obataya et al. ^[70] demonstrated that the shape of the indenter used in atomic force microscopy has an important impact on the probability of penetration of a cellular membrane. Albeit not being directly applicable to our experimental system, this finding is consistent with our results.

Simulation results also indicate that experimental values of stiffness can only be evaluated in a semi-quantitative manner to indicate changes as opposed to absolute values. In the past we have interpreted our data correspondingly. Modeling shows that none of the four factors could be neglected in the interpretation of experimental results. A summary of these results is presented in Table 3.3, quantification of stiffness variations are given for the four parameters at the two positions previously mentioned and variation of $\pm 10\%$ around standard value are also indicated where applicable/available.

Another parameter that is likely to influence experimental deformation values

is the exact position of the stylus. Both in the experiments and in our model we presume that deformation always occurs on the center line of the tube. Due to our experimental setup this position can be controlled rather precisely by microscopical observation, but it would certainly be interesting to investigate the sensitivity of the experimental data to the variations in the position of the stylus in the direction perpendicular to the longitudinal axis of the pollen tube.

Another limitation of our present model is the fact that the mechanical properties of the pollen tube cell wall and core are only approximations. Furthermore, the model is extremely simplified, since it neglects an important feature of plant cells, the turgor pressure. Considering the cell wall as a linear, homogeneous and isotropic elastic shell the model neglects any anisotropic properties the cell wall might have. It is therefore comparable to the model developed by Cheng ^[45,46], which modeled, using finite-element method, the compression of a spherical shell containing an incompressible material. Interestingly, the authors prestretched the membrane, whereas our present model does not. Further approaches should include the presence of the turgor pressure by modeling the pollen tube as a shell inflated under an internal pressure. That type of mathematical model has already been proposed for the spherical nonlinear membrane applicable to sea urchin eggs ^[42,44], microcapsules ^[47], yeast cells ^[32] and tomato cells ^[35]. Zhao et al. ^[69] demonstrated experimentally and by using FE modeling that turgor pressure does not affect indentation of hyphae by atomic force microscopy (AFM). However, deformations using AFM have a much smaller amplitude (in the order of nm) than those done by micro-indentation (in the order μm) and are furthermore performed by an indenter of extremely small dimension that is considered as a point force compared to the size of the deformed cell. We therefore think that contrary to AFM deformations, our micro-indentations will need to consider turgor as a factor influencing deformation curves and will incorporate this parameter in a future version of the model. While the present model is certainly limited, it has however provided us with in-

formation that is essential for the development of our experimental approaches. It has shown that within their biologically or technically relevant ranges all parameters investigated here - cell geometry, pollen tube radius, cell wall thickness and micro-indenter stylus radius - need to be considered as influential elements in the interpretation of micro-indentation results.

Acknowledgements - This work was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and the *Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies* (FQRNT).

CHAPITRE 4

DISCUSSION GÉNÉRALE

La micro-indentation permet d'obtenir des données sur les propriétés de résistance aux déformations mécaniques effectuées avec une aiguille sur un objet de taille microscopique. Le tube pollinique a déjà été étudié par cette méthode et les résultats publiés jusqu'à présent requièrent une analyse particulière pour être bien interprétés ; comme les déformations engendrées modifient de façon non-négligeable la forme de la cellule, certains facteurs géométriques reliés au montage et au spécimen pourraient avoir une influence marquée sur les résultats. Dans le but d'y voir plus clair, nous nous sommes donc lancés dans l'élaboration de modèles avec la méthode des éléments finis nous permettant de simuler le processus de micro-indentation sur un tube pollinique tout en nous donnant un contrôle précis sur les facteurs suivants : la géométrie de la cellule, son rayon, l'épaisseur de la paroi cellulaire et le rayon de l'aiguille d'indentation. Ces nouveaux résultats indiquent que tous les paramètres étudiés ont une influence importante dans les intervalles de valeurs testés. Les faits saillants sont résumés dans le tableau 3.3.

Zhao et al. ^[69] ont effectué des simulations par éléments finis d'indentation d'AFM sur un cylindre sous pression représentant une hyphe fongique. Leur indentation est produite par une force ponctuelle appliquée sur le cylindre et diffère donc de notre modèle. Cependant, leurs résultats sont intéressants en ce sens qu'ils observent une dépendance de la rigidité (définie de manière similaire à la nôtre) sur les propriétés physiques et géométriques de la paroi du cylindre. Soient le module d'Young, le rayon et l'épaisseur. Ces résultats nous permettent donc de valider les nôtres.

Les résultats de Obataya et al. ^[70] sur les effets de la forme de l'aiguille sur la probabilité de pénétration d'une membrane cellulaire sont très intéressants puisqu'ils montrent qu'effectivement la forme joue un rôle important lors de l'indentation.

Malheureusement, bien que les aiguilles utilisées aient des dimensions différentes, ils n'ont pas analysé l'effet de ce paramètre en particulier. Leurs résultats permettent quand même de corroborer de façon qualitative ceux que l'on a obtenu lors de notre analyse du rayon de l'aiguille du micro-indenteur en ce sens que celle-ci peut avoir une influence sur les résultats d'indentation.

Les données de micro-indentation de Geitmann et Parre 2004 ^[1] pour les tubes polliniques de *Papaver rhoeas* montrent une courbe de rigidité croissante en fonction de la distance de l'apex. La valeur à l'apex est environ 3/4 celle de la région distale et l'augmentation se fait rapidement entre 5 et 20 μm de l'apex et ensuite la rigidité reste approximativement constante. Plusieurs aspects de la cytoarchitecture des tubes polliniques ont été suggérés comme hypothèses pour expliquer ces résultats. Notamment, la distribution des composantes de la paroi cellulaire et la configuration du cytosquelette (voir section 2.1.3.1 et Figure 2.2). La région apicale est également caractérisée par une différence de géométrie, passant d'un hémisphère à un cylindre. Les résultats de ce mémoire présentés dans la figure 3.4 évaluent uniquement la part jouée par la géométrie dans la rigidité de la cellule. Le modèle du tube pollinique utilisé possède une paroi d'épaisseur constante avec des propriétés mécaniques uniformes et aucune structures internes autre qu'une représentation simplifiée du cytoplasme. Les résultats montrent une dépendance de la rigidité opposée à celle observée expérimentalement, c'est-à-dire que la rigidité est supérieure à l'apex et décroît rapidement entre 5 et 16 μm de l'apex pour ensuite rester approximativement constante le long du tube. Ceci nous dit que, pour les tubes polliniques *in vivo*, possédant une paroi cellulaire composée de plusieurs types de polymères et des structures internes complexes tel le cytosquelette, l'effet de la géométrie sur leur rigidité est complètement masqué. Nous pouvons donc conclure qu'il doit effectivement y avoir un rôle joué par la paroi cellulaire et/ou le cytosquelette des tubes polliniques dans leur capacité de résister aux déformations mécaniques. Ce rôle n'est cependant pas clairement identifiable avec les modèles présentés ici. Il est

alors souhaitable d'effectuer d'autres simulations avec des modèles plus raffinés.

L'épaisseur de la paroi de callose le long du tube montre une croissance régulière jusqu'à environ $120 \mu\text{m}$ de l'apex. La cellulose suit également un patron similaire. Il est donc peu probable que ces deux composantes contribuent de façon significative à l'augmentation rapide de rigidité observée dans la figure 1 de Geitmann et Parre 2004 ^[1]. Cependant, les pectines ont un gradient de méthyl-estérification ayant une correspondance spatiale avec les caractéristiques de cette courbe. La dé-estérification engendre la gélification des pectines qui pourrait avoir comme effet l'augmentation de la rigidité ^[1]. Ceci étant dit, les futurs modèles devraient inclure une paroi multi-couches (représentant les trois types de polymères) et les éléments du cytosquelette.

Les expériences de Parre et Geitmann 2005 ^[4] avec la lyticase montrent que le diamètre du tube augmente d'environ $1 \mu\text{m}$ à l'apex et en distale suite à l'application d'un $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de cette enzyme. La présence de callose est aussi diminuée telle qu'observée par une diminution du marquage par aniline bleu fluorescent. Il s'en suit que la rigidité à l'apex reste identique mais que la rigidité en distale diminue. Le rigidité de l'apex est maintenant presque 2 fois plus grande que celle en distale. Selon les simulations, une augmentation d'un μm en diamètre, tout en gardant la paroi intacte, devrait mener à une diminution de la rigidité en apex et en distale.

Bien que notre modèle soit limité il permet d'isoler le facteur d'augmentation de diamètre et de voir son impact sur la rigidité. Il est clair que ce facteur ne peut uniquement expliquer les résultats expérimentaux. Maintenant, la paroi de callose est aussi modifiée par la lyticase mais la façon exacte dont cela se fait n'est toujours pas bien connue. En effet, on ne sait pas si elle réduit l'épaisseur de la paroi ou en modifie les propriétés mécaniques en la digérant de façon aléatoire créant ainsi des trous à l'intérieur de celle-ci, ou peut-être les deux en même temps. Il en est de même pour la pectinase qui modifie la paroi de pectines et fait diminuer la rigidité des tubes en apex et en distale ^[3].

Les simulations révèlent que l'épaisseur de la paroi joue un rôle très important dans la région distale mais a moins d'influence à l'apex. Dans les deux cas la rigidité diminue lorsque l'épaisseur de la paroi est réduite.

Les modèles se limitent à une paroi élastique, homogène, isotrope et d'épaisseur constante. La pression de turgescence fut négligée et tout le cytoplasme remplacé par un corps élastique homogène et isotrope ; les structures internes du tube tel le cytosquelette n'ont donc pas été représentées. Plusieurs améliorations et tests sont suggérés dans la section suivante.

CHAPITRE 5

AMÉLIORATIONS DU MODÈLE

5.1 Paroi cellulaire

Une meilleure précision quant à la valeur de l'épaisseur de la paroi cellulaire est nettement souhaitable. Une technique souvent utilisée est celle de la microscopie électronique à transmission. Plusieurs mesures de l'épaisseur le long de l'axe de croissance du tube pollinique devraient être effectuées pour identifier les possibles variations. L'épaisseur de la paroi peut être ajustée dans le modèle pour tenir compte de telles variations.

5.2 Turgescence

Parmi les améliorations importantes et les plus pertinentes, l'ajout de la pression de turgescence menant à la pré-tension de la paroi est sans doute la plus pressante. Les essais menés jusqu'à présent n'ont pas été concluants. Simuler une micro-indentation sur un tube pollinique avec turgescence se fait en deux étapes : la première consiste à mettre le tube sous pression et la deuxième à faire l'indentation. La première étape fut réussie mais pas la seconde. Cela peut paraître absurde car le processus d'indentation fut correctement accompli pour les résultats présentés auparavant. Le problème vient du fait qu'en mettant le tube sous pression il devient très rigide et donc beaucoup plus difficile à déformer ce qui entraîne des problèmes au niveau des surfaces de contact.

Les modèles réalisés montrent des temps de convergence beaucoup plus longs que ceux sans pression interne mais convergent tout de même. Cependant, les surfaces de contact s'interpénètrent de façon inacceptable et les résultats obtenus pour la force de résistance de la cellule sont alors extrêmement élevés. Compte tenu de la

grande pénétration des surfaces de contact, ces valeurs sont sans doute un artefact numérique.

Le modèle du tube pollinique avec turgescence est différent de ceux présentés précédemment. Il consiste uniquement en une paroi à laquelle on applique une pression vers l'extérieur sur la face interne. La différence est donc la façon de représenter l'intérieur du tube, le reste étant identique.

Les tentatives effectuées jusqu'à présent pour résoudre le problème ont utilisé trois paramètres, soient deux systèmes de contrôle pour les surfaces de contact dans ANSYS ^[79], FKN, la rigidité de pénalité, et FTOLN, la tolérance de pénétration, le troisième étant la valeur de la pression imposée sur la face interne de la paroi. Les recommandations de ANSYS étaient d'augmenter FKN et/ou FTOLN. Les valeurs testées pour FKN allaient de 1 à 100, la valeur standard étant de 1 ; pour FTOLN, de 5% à 20%, la valeur standard étant de 5%. La pression initialement appliquée était de 0,2 MPa ^[11] mais elle fut réduite jusqu'à 200 Pa. Aucun de ces changements n'apporta de solution au problème. Des recherches supplémentaires sont donc requises pour résoudre ce problème.

Zhao et al. ^[69] ont obtenu, expérimentalement et par simulations éléments finis, que la rigidité des hyphes fongiques observée par AFM est indépendante de la pression de turgescence. La déformation provoquée par AFM est cependant beaucoup plus petite (ordre de l'Ångström) que celle de micro-indentation (ordre de micron) ce qui permet de croire que dans le cas de la micro-indentation la pression de turgescence pourrait avoir un effet significatif sur la rigidité.

5.3 Rhéologie du cytoplasme

La membrane plasmique (et la paroi cellulaire dans le cas des cellules végétales) contient un fluide : le cytoplasme. Il est composé de plusieurs éléments dont le cytosol dans le lequel baignent des organelles, des protéines, des enzymes ainsi que des molécules de toutes tailles ^[21]. Le cytoplasme est le site de production

de la grande majorité des protéines et constitue le médium par lequel le transport intracellulaire s'effectue. C'est un environnement très dynamique où synthèse, dégradation et mouvement de molécules se côtoient. De plus, le cytosquelette, une structure également très dynamique pouvant se polymériser et se dépolymériser au besoin, s'enchevêtre au travers de ce mélange formant un tout dont les propriétés mécaniques sont susceptibles de se modifier selon l'activité cellulaire. Cette composante de la cytomécanique fut rarement mise à contribution dans les modèles de cellules végétales. Les physiciens se montrent encore une fois pionniers ; Fabry et al. [27] proposèrent un modèle suivant lequel la rhéologie cellulaire s'adapte à la fonction mécanique. Une façon d'intégrer une telle composante au modèle du tube pollinique est proposée ci-dessous.

L'auto-incompatibilité (*AI-Self-incompatibility*), est un processus de contrôle génétique servant à empêcher l'autofécondation [2]. Un effet démontré de ce phénomène est un réarrangement et la dépolymérisation des F-actines du cytosquelette du tube pollinique et l'arrêt graduel du mouvement des organelles comme si elles étaient prises à l'intérieur d'un fluide dont la viscosité augmenterait de façon graduelle suite à l'AI.

Des études indépendantes sur les effets de la dépolymérisation des F-actines ont montré que cela n'empêchait pas les organelles de bouger. L'hypothèse fut alors proposée que la viscosité du cytoplasme augmente à cause d'un facteur autre que le cytosquelette suite à l'auto-incompatibilité. Geitmann et al. [2] ont donc soumis des tubes normaux et des tubes avec AI au micro-indenteur. Le micro-indenteur permet d'obtenir les courbes de force vs profondeur d'indentation pour la descente et le retrait de l'indenteur : la différence entre les deux courbes, l'hystérèse, donnant alors une mesure de la perte d'énergie dans le système dont l'origine, quoiqu'inconnue, pourrait être reliée à la viscosité du cytoplasme.

Leurs résultats tendent à supporter cette hypothèse mais ne sont toutefois pas concluants puisque rien ne prouve que les résultats observés avec le micro-indenteur

sont bien dûs à des changements dans les propriétés du cytoplasme ; les tubes normaux réagissent de façon élastique et ceux avec AI montrent une grande hystérèse. Une étude éléments finis comparant deux modèles de tube, un avec cytoplasme non-visqueux et l'autre avec cytoplasme visqueux, permettrait d'identifier si un tel changement dans les propriétés du cytoplasme permet d'obtenir le même type de courbes que les résultats expérimentaux.

5.4 Cytosquelette

Une autre étape importante dans la modélisation serait l'ajout du cytosquelette ; une telle inclusion est cependant loin d'être triviale. Plusieurs questions sont encore sans réponses, dont la façon d'intégrer le réseau de polymères, de distribuer (longueur, position et orientation) les filaments d'actine et les microtubules, et comment représenter leurs interactions. Ces choix risquent d'être critiques puisque des études montrent que les propriétés mécaniques de gels formés de ces polymères sont fortement dépendantes de la longueur et des associations entre les polymères [17]. On peut s'attendre à ce que les filaments d'actine et les microtubules situés le long de l'axe du tube et parallèles à celui-ci n'apportent pas beaucoup de support dans la résistance aux déformations par micro-indentation puisqu'ils sont dans le cytoplasme et ne sont pas intégrés à la paroi et leur densité est faible [1]. Par contre, les filaments d'actine présents dans la région apicale forment un réseau dense occupant tout le diamètre du tube et sont donc plus susceptibles de contribuer au support mécanique de la cellule.

Quelques éléments de réponse sur la façon d'intégrer le cytosquelette pourraient être trouvés dans le modèle de tenségrité [28], quoique ce modèle ne s'applique en fait qu'aux cellules animales, la façon dont sont traités les éléments du cytosquelette pourrait être utilisée dans un modèle d'architecture cellulaire végétale. Le modèle de tenségrité définit la cellule comme un système sous tension composé de deux types d'éléments : un supportant la compression (les microtubules) et l'autre, la

tension (les filaments d'actine) (Figure 2.6 ^[28]).

CHAPITRE 6

CONCLUSION

Les connaissances apportées par la présente recherche sont nécessaires à la compréhension de comportement mécanique du tube pollinique. Elles permettent une meilleure interprétation des résultats expérimentaux de micro-indentation dont la portée touche la compréhension fondamentale du volet cytomécanique du développement cellulaire.

Les outils disponibles pour étudier la cytomécanique en sont encore à leurs débuts malgré l'existence de plusieurs techniques déjà mentionnées ; ces outils restent cantonnés aux études de déformations cellulaires, globales ou locales. Aucun outil jusqu'à présent ne permet d'étudier, de comprendre et de quantifier la distribution des forces ainsi que les interactions entre les constituants cellulaires, de la paroi aux simples protéines et acides nucléiques ^[72]. Beaucoup de recherches expérimentales comme théoriques restent donc à faire pour percer les mystères de la cellule et le secret de la vie!

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Geitmann A and Parre E. The local cytommechanical properties of growing pollen tubes correspond to the axial distribution of structural cellular elements. *Sexual Plant Reproduction*, 17 :9–16, 2004. DOI 10.1007/s00497-004-0210-3.
- [2] Geitmann A, McConnaughey WB, Lang-Pauluzzi I, Franklin-Tong VE, and Emons AMC. Cytomechanical properties of *papaver* pollen tubes are altered after self-incompatibility challenge. *Biophysical Journal*, 86 :3314–3323, 2004.
- [3] Parre E and Geitmann A. Pectin and the role of the physical properties of the cell wall in pollen tube growth of *Solanum chacoense*. *Planta*, 220(4) :582–592, 2005a. DOI 10.1007/s00425-004-1368-5.
- [4] Parre E and Geitmann A. More than a leak sealant : the mechanical properties of callose in growing plant cells. *Plant Physiology*, 137 :274–286, 2005b. DOI 10.1104/pp.104.050773.
- [5] Heslop-Harrison J. Pollen germination and pollen-tube growth. *International Review of Cytology*, 107 :1–78, 1987.
- [6] <http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/lecturesf04am/flower.jpg>, June 2005.
- [7] <http://www.waycross.edu/faculty/gcook/ecology/evolution/pollen%20tube.jpg>. June 2005.
- [8] Steer MW and Steer JM. Tansley review no. 16 pollen tube tip growth. *The New Phytologist*, 111 :323–358, 1989.
- [9] Geitmann A and Emons AMC. The cytoskeleton in plant and fungal cell tip growth. *Journal of Microscopy*, 198 :218–245, 2000.
- [10] Carpita NC and Gibeaut DM. Structural models of primary cell walls in flowering plants : consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal*, 3 :1–30, 1993.

- [11] Benkert R, Obermeyer G, and Bentrup F-W. The turgor pressure of growing lily pollen tubes. *Protoplasma*, 198 :1–8, 1997.
- [12] Tomos D. The plant cell pressure probe. *Biotechnology Letters*, 42 :437–442, 2000.
- [13] Raudaskoski M, Astrom H, and Laitiainen. Pollen tube sytoskeleton : structure and function. *Journal of Plant Growth Regulation*, 20 :113–130, 2001.
- [14] Janmey PA, Euteneuer U, Traub P, and Schliwa M. Viscoelastic properties of vimentin compared with other filamentous biopolymer networks. *The Journal of Cell Biology*, 113(1) :155–160, 1991.
- [15] Gittes F, Mickey B, Nettleton J, and Howard J. Flexural rigidity of microtubules and actin filaments measured from thermal fluctuations in shape. *The Journal of Cell Biology*, 120(4) :923–934, 1993.
- [16] MacKintosh FC, Kas J, and Janmey PA. Elasticity of semiflexible biopolymer networks. *Physical Review Letters*, 75(24) :4425–4428, 1995.
- [17] Wagner O, Schuler H, Hofmann P, Langer D, Dancker P, and Bereiter-Hahn. Sound attenuation of polymerizing actin reflects supramolecular structures : viscoelastic properties of actin gels modified by cytochalasin d, profilin and α -actinin. *Biochemical Journal*, 355 :771–778, 2001.
- [18] Kis A, Kasas S, Babić Kulik AJ, Benoît W, Briggs GAD, Schonenberger, Catsicas S, and Forró L. Nanomechanics of microtubules. *Physical Review Letters*, 89(24) :248101, 2002.
- [19] Bereiter-Hahn J, Anderson OR, and Reif W-E, editors. *Cytomechanics : the mechanical basis of cell form and structure*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1987.
- [20] Lintilhac PM, Wei C, Tanguay JJ, and Outwater JO. Ball tonometry : a rapid, nondestructive method for measuring cell turgor pressure in thin-walled plant cells. *Journal of Plant Growth Regulation*, 19 :90–97, 2000. DOI 10.1007/s003440000009.

- [21] Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, and Walter P. *Molecular biology of the cell*. Garland Science, New York, fourth edition, 2002.
- [22] Shin D and Athanasiou K. Cytoindentation for obtaining cell biomechanical properties. *Journal of Orthopaedic Research*, 17(6) :880–890, 1999.
- [23] Yeung A and Evans E. Cortical shell-liquid core model for passive flow of liquid-like spherical cells into micropipets. *Biophysical Journal*, 56 :139–149, 1989.
- [24] Evans E and Yeung A. Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipet aspiration. *Biophysical Journal*, 56 :151–160, 1989.
- [25] Zhelev DV, Needham D, and Hochmuth. Role of the membrane cortex in neutrophil deformation in small pipets. *Biophysical Journal*, 67 :696–705, 1994.
- [26] Jones WR, Ting-Beall HP, Lee GM, Kelley SL, Hochmuth RM, and Guilak F. Alterations in the young's modulus and volumetric properties of chondrocytes isolated from normal and osteoarthritic human cartilage. *Journal of Biomechanics*, 32 :119–127, 1999.
- [27] Fabry B, Maksym GN, Butler JP, Glogauer M, Navajas D, and Fredberg JJ. Scaling the microrheology of living cells. *Physical Review Letters*, 87(14) :148102, 2001. DOI 10.1103/PhysRevLett.87.148102.
- [28] Ingber DE. Tensegrity i. cell structure and hierarchical systems biology. *Journal of Cell Science*, 116 :1157–1173, 2003. DOI : 10.1242/jcs.00359.
- [29] Wendling S, Oddou C, and Isabey D. Approche structurale de la mécanique du cytosquelette : solide alvéolaire vs modèle de tenségrité. *C. R. Acad. Sci. Paris Série II b*, 328 :97–104, 2000.
- [30] Hiramoto Y. Mechanical properties of sea urchin eggs i. *Experimental Cell Research*, 32 :59–75, 1963.
- [31] Hiramoto Y. Mechanical properties of sea urchin eggs ii. *Experimental Cell Research*, 32 :76–88, 1963.

- [32] Smith AE, Moxham KE, and Middelberg APJ. On uniquely determining cell-wall material properties with the compression experiment. *Chemical Engineering Science*, 53(23) :3913–3922, 1998.
- [33] Smith AE, Zhang Z, and Thomas CR. Wall material properties of yeast cells : Part i. cell measurements and compression experiments. *Chemimcal Engineering Science*, 55 :2031–2041, 2000.
- [34] Smith AE, Moxham KE, and Middelberg APJ. Wall material properties of yeast cells. part ii. analysis. *Chemimcal Engineering Science*, 55 :2043–2053, 2000.
- [35] Wang CX, Wang L, and Thomas CR. Modelling the mechanical properties of single suspension-cultured tomato cells. *Annals of Botany*, 93 :443–453, 2004. DOI 10.1093/aob/mch062.
- [36] Ingber DE. Tensegrity ii. how structural networks influence cellular information processing networks. *Journal of Cell Science*, 116 :1397–1408, 2003. DOI : 10.1242/jcs.00360.
- [37] http://www.exploratorium.edu/imaging_station/gallery_intro.html, August 2005. © Exploratorium — The museum of science, art and human perception.
- [38] Cole KS. Surface forces of the arbacia egg. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, 1(1) :1–9, 1932.
- [39] Yoneda M. Tension at the surface of sea-urchin egg : a critical examination of cole’s experiment. *Journal of Experimental Biology*. 41 :893–906, 1964.
- [40] Hiramoto Y. Rheological properties of sea urchin eggs. *Biorheology*. 6 :201–234; 1970.
- [41] Yoneda M. Tension at the surface of sea urchin eggs on the basis of ‘liquid-drop’ concept. *Advances in Biophysics*, 4 :153–190, 1973.
- [42] Feng WW and Yang W-H. On the contact problem of an inflated spherical nonlinear membrane. *Journal of Applied Mechanics*, 41 :209–214, 1973.

- [43] McIntyre G and Marchand L. *Éléments finis en mécanique du solide – Notes de cours*. École Polytechnique de Montréal, Septembre 2003.
- [44] Lardner TJ and Pujara P. Compression of spherical cells. *Mechanics Today*, 5 (Éd. S. Nemat-Nasser), Pergamon, New York :161–176, 1980.
- [45] Cheng LY. Deformation analysis in cell and developmental biology. part i-formal methodology. *Journal of Biomechanical Engineering*, 109 :10–17, 1987a.
- [46] Cheng LY. Deformation analysis in cell and developmental biology. part ii-mechanical experiments on cells. *Journal of Biomechanical Engineering*, 109 :18–24, 1987b.
- [47] Liu KK, Williams DR, and Briscoe BJ. Compressive deformation of a single microcapsule. *Physical Review E*, 54(6) :6673–6680, 1996.
- [48] Blewett J, Burrows K, and Thomas C. A micromanipulation method to measure the mechanical properties of single tomato suspension cells. *Biotechnology Letters*, 22(23) :1877–1883, 2000. DOI 10.1023/A :1005635125829.
- [49] Zhang Z, Ferenczi MA, Lush AC, and Thomas CR. A novel micromanipulation technique for measuring the bursting strength of single mammalian cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 36 :208–210, 1991.
- [50] Mashmoushy H, Zhang Z, and Thomas CR. Micromanipulation measurement of the mechanical properties of baker's yeast cells. *Biotechnology Techniques*, 12(12) :925–929, 1998.
- [51] Shiu C, Zhang Z, and Thomas CR. A novel technique for the study of bacterial cell mechanical properties. *Biotechnology Techniques*, 13 :707–713, 1999.
- [52] Wei C, Lintilhac PM, and Tanguay JJ. An insight into cell elasticity and load-bearing ability. measurement and theory. *Plant Physiology*, 126 :1129–1138, 2001.
- [53] Zahalak GI, McConnaughey WB, and Elson EL. Determination of cellular mechanical properties by cell poking, with an application to leukocytes. *Journal of Biomechanical Engineering*, 112 :283–294, 1990.

- [54] Petersen NO, McConnaughey WB, and Elson EL. Dependence of locally measured cellular deformability on position on the cell, temperature, and cytochalasin b. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 79 :5327–5331, 1982.
- [55] Daily B, Elson EL, and Zahalak GI. Cell poking. determination of the elastic area compressibility modulus of the erythrocyte membrane. *Biophysical Journal*, 45 :671–682, 1984.
- [56] Duszyk M, Schwab III B, Zahalak GI, Qian H, and Elson EL. Cell poking : Quantitative analysis of indentation of thick viscoelastic layers. *Biophysical Journal*, 55 :683–690, 1989.
- [57] Goldmann WH. Mechanical manipulation of animal cells : cell indentation. *Biotechnology Letters*, 22 :431–435, 2000.
- [58] Chan E and Ulfendahl M. Relationship between stiffness, internal cell pressure and shape of outer hair cells isolated from the guinea-pig hearing organ. *Acta Physiologica Scandinavica*. 161 :533–539. 1997.
- [59] Ulfendahl M, Chan E, McConnaughey WB, Prost-Domasky S, and Elson EL. Axial and transverse stiffness measures of cochlear outer hair cells suggest a common mechanical basis. *European Journal of Physiology*, 436(1) :9–15. 1998.
- [60] Evans EA and Skalak R. *Mechanics and Thermodynamics of Biomembranes*. CRC Press, Boca Raton, FL, 1980.
- [61] Spilker RL and Suh JK. Formulation and evaluation of a finite element model model for the biphasic model of hydrated soft tissue. *Computers and Structures*, 35 :425–439, 1990.
- [62] http://www.pacificnanotech.com/afm-tutorial_afm-instrumentation.html, August 2005. © Copyright 2002 Pacific Nanotechnology, Inc.
- [63] Chang AT. http://en.wikipedia.org/wiki/Atomic_force_microscope, October 2002.

- [64] Binnig G, Quate CF, and Gerber Ch. Atomic force microscope. *Physical Review Letters*, 56 :930–933, 1986.
- [65] A-Hassan E, Heinz WF, Antonik MD, D’Costa NP, Nageswaran S, Schoenberger C-A, and Hoh JH. Relative microelastic mapping of living cells by atomic force microscopy. *Biophysical Journal*, 74 :1564–1578, 1998.
- [66] Hutter JL, Chen J, Wan WK, Uniyal S, Leabu M, and Chan BMC. Atomic force microscopy investigation of the dependence of cellular elastic moduli on glutaraldehyde fixation. *Journal of Microscopy*, 219 :61–68, 2005.
- [67] Laurent VM, Kasas S, Yersin A, Schaffer TE, Catsicas S, Dietler G, Verkhovsky AB, and Meister JJ. Gradient of rigidity in the lamellipodia of migrating cells revealed by atomic force microscopy. *Biophysical Journal*, 89 :667–675, 2005.
- [68] Takai E, Costa KD, Shaheen A, Hung CT, and Guo XE. Osteoblast elastic modulus measured by atomic force microscopy is substrate dependent. *Annals of Biomedical Engineering*. 33 :963–971. 2005.
- [69] Zhao L, Schaefer D, Xu H, Modi SJ, LaCourse WR, and Marten MR. Elastic properties of the cell wall of aspergillus nidulans studied with atomic force microscopy. *Biotechnology Progress*. 21 :292–299, 2005.
- [70] Obataya I, Nakamura C, Han SW, Nakamura N, and Miyake J. Mechanical sensing of the penetration of various nanoneedles into a living cell using atomic force microscopy. *Biosensors and Bioelectronics*, 20 :1652–1655, 2005.
- [71] ANSYS Incorporated Release 8.0 Documentation. *ANSYS Modeling and Meshing Guide*, 2003.
- [72] Bao G and Suresh S. Cell and molecular mechanics of biological materials. *Nature Materials*, 2 :715–725, 2003. DOI 10.1038/nature0110.1038/nmat1001.
- [73] Thomas CR, Zhang Z, and Cowen C. Micromanipulation measurements of biological materials. *Biotechnology Letters*, 22 :531–537, 2000.

- [74] Bruce DM. Mathematical modelling of the cellular mechanics of plants. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 358 :1437–1444, 2003. DOI : 10.1098/rstb.2003.1337.
- [75] Hettiaratchi DRP and O'Callaghan. A membrane model of plant cell extension. *Journal of Theoretical Biology*, 45 :459–465, 1974.
- [76] Pitt RE and Davis DC. Finite element analysis of fluid-filled cell response to external loading. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.*, 27 :1976–1983, 1984.
- [77] Chanliaud E, Burrows KM, Jeronimidis G, and Gidley MJ. Mechanical properties of primary plant cell wall analogues. *Planta*, 215 :989–996, 2002. DOI 10.1007/s00425-002-0783-8.
- [78] Mitchison JM and Swann MM. The mechanical properties of the cell surface. i. the cell elastimeter. *Journal of Experimental Biology*, 31(3) :443–460, 1954.
- [79] ANSYS Incorporated Release 8.0 Documentation. *ANSYS Structural Analysis Guide*, 2003.
- [80] Landau L and Lifshitz E. *Théorie de l'élasticité*. Mir, Moscou, 1990.
- [81] ANSYS Incorporated Release 8.0 Documentation. *ANSYS Elements Reference*, 2003.
- [82] ANSYS Incorporated Release 8.0 Documentation. *ANSYS, Inc. Theory Reference*, 2003.

Annexe I

Théorie de l'élasticité

I.1 Linéaire

La théorie de l'élasticité décrit la mécanique des corps solides considérés comme des milieux continus. Pour illustrer de façon simple cette théorie dans sa forme linéaire, prenons le cas classique d'un ressort de constante d'élasticité K que l'on déforme suivant sa longueur. La constante d'élasticité du ressort dépend du matériau, de la forme et des dimensions du ressort. C'est une propriété mécanique caractéristique du ressort. La force de rappel exercée par celui-ci est alors proportionnelle à son élongation :

$$\vec{F} = -K \cdot \vec{X}. \quad (\text{I.1})$$

C'est la version la plus simple de la Loi de Hooke. Sa forme généralisée aux corps 3-D est plus compliquée et une façon compacte et élégante de la présenter est l'algèbre tensorielle.

Dans ce cas, on cherche à obtenir une relation plus générale décrivant la réaction de chacun des points à l'intérieur d'un solide par rapport à un ensemble de contraintes qui lui sont imposées. Il existe deux sortes de contraintes : les forces volumiques (*body forces*), qui agissent en tout point du corps (la gravité, contraintes thermiques), et les forces de surface (pression, contact, indentation). La réaction du solide est définie par un champ de déplacement, c'est-à-dire un champ de vecteurs où chaque vecteur représente le déplacement d'un point du solide. Trois tenseurs sont donc nécessaires.

I.1.1 Tenseur de contraintes

Lorsqu'on applique une force de surface à un objet, celle-ci peut avoir une orientation arbitraire par rapport à sa surface. On décompose cette force selon

deux modes ; un mode de compression/tension et un mode de cisaillement (*shear*).

On peut représenter une surface par un vecteur \vec{a} , normal à cette surface et de grandeur égale à l'aire de la surface. Les composantes de la force appliquée sont ensuite exprimées en termes des composantes de \vec{a} et d'un tenseur d'ordre deux (une matrice). Cette matrice σ_{ij} est appelée tenseur de contraintes (*stress tensor*), il est symétrique et se définit comme suit :

$$F_i = \sigma_{ij}a_j, \quad (\text{I.2})$$

on utilise ici la convention de sommation sur les indices répétés à l'intérieur d'un terme. σ_{ij} a des dimensions de force par unité d'aire en 3-D. En général, les éléments sur la diagonale représentent la compression/tension et les éléments hors diagonale, le cisaillement. Le tenseur de contraintes est en fait une façon d'exprimer une force arbitrairement orientée par rapport à une surface. Une fois qu'on a déterminé σ_{ij} , on peut réécrire la force en fonction de la dérivée de σ_{ij} par rapport aux coordonnées :

$$F_i = \frac{\partial \sigma_{ij}}{\partial x_j}. \quad (\text{I.3})$$

Dans la notation utilisée ici, un point dans l'espace tridimensionnel est représenté par un vecteur de coordonnées x_i :

$$x_i \Rightarrow (x_1, x_2, x_3) = (x, y, z).$$

I.1.2 Tenseur de déformations

Définissons maintenant la déformation engendrée par les contraintes σ_{ij} . Identifions d'abord le champ de déplacement par le vecteur $\vec{\varepsilon}$ ou ε_i , c'est la même chose. Remarquez que ε_i est une fonction des coordonnées de l'espace :

$$\varepsilon_i = \varepsilon_i(x, y, z). \quad (\text{I.4})$$

La quantité qui nous intéresse ici est en fait la variation du champ de déplacement par rapport à chaque coordonnée. On définit ainsi une nouvelle matrice, ε_{ij} , que l'on appelle le tenseur de déformation (*strain tensor*) et qui représente la dérivée du champ de déplacement par rapport aux coordonnées.

$$\varepsilon_{ij} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \varepsilon_i}{\partial x_j} + \frac{\partial \varepsilon_j}{\partial x_i} \right) \quad (\text{I.5})$$

L'équation ci-dessus est en fait l'approximation linéaire pour le tenseur de déformation, valable pour de petits déplacements. Ce tenseur n'a pas de dimension et est symétrique. Dans le cas de grandes déformations, il est nécessaire de garder des termes croisés et d'ordre supérieur dans la définition du tenseur.

Le fait d'utiliser les grandes déformations rend le problème mathématiquement non-linéaire même lorsque la loi constitutive est linéaire. Cependant, il faut s'assurer que les grandes déformations respectent la limite élastique du matériau pour que l'analyse reste valable.

I.1.3 Loi de Hooke généralisée

La loi de Hooke généralisée établit la relation entre le tenseur de contraintes σ_{ij} et le tenseur de déformation ε_{ij} de la même façon que la constante K fait le lien entre la force \vec{F} et l'élongation \vec{X} du ressort dans l'équation (I.1), excepté qu'ici on doit utiliser un tenseur au lieu d'une constante unique. C'est un tenseur d'ordre quatre, appelons le C_{ijkl} , qui représente les constantes de rigidité du solide. Pour être cohérent avec ce que l'on sait des unités de σ_{ij} et ε_{ij} , ces constantes doivent avoir les unités de force par unité d'aire. Voici la loi de Hooke généralisée* :

$$\sigma_{ij} = C_{ijkl} \varepsilon_{kl}. \quad (\text{I.6})$$

*Les indices i, j de ε_{ij} ont été changés pour k, l dans la loi de Hooke pour bien différencier les composantes respectives de ε_{ij} et de σ_{ij} . Le choix des indices est en fait arbitraire.

En pratique cette forme de la loi de Hooke n'est pas très attirante car elle comporte $3^4 = 81$ constantes de rigidité en 3D. On considère donc le cas spécial où le corps est *homogène et isotrope*, c'est-à-dire que ses propriétés élastiques sont indépendantes de la position et de la direction, respectivement, ce qui correspond aux matériaux utilisés dans notre modèle du tube pollinique. Dans ce cas, les 81 constantes peuvent être réduites à deux seulement. Il a été démontré ^[80] que l'on peut exprimer le tenseur de contraintes en fonction du tenseur de déformation de la manière suivante :

$$\sigma_{ij} = \frac{E}{1 + \nu} \left(\varepsilon_{ij} + \frac{\nu}{1 - 2\nu} \varepsilon_{ll} \delta_{ij} \right), \quad (\text{I.7})$$

ou la formule inverse :

$$\varepsilon_{ij} = \frac{1}{E} [(1 + \nu)\sigma_{ij} - \nu\sigma_{ll}\delta_{ij}], \quad (\text{I.8})$$

où E et ν sont le module d'Young et le coefficient de Poisson respectivement. Le module d'Young est une mesure du rapport entre contraintes et déformation (*stress/strain*) et le coefficient de Poisson est le rapport de la contraction transversale à l'allongement, sa valeur est comprise entre 0 et 0,5 inclusivement. Cette forme de la loi de Hooke est beaucoup plus intéressante que la précédente car elle nous permet de déterminer le champ de déplacement à partir des contraintes imposées au corps avec l'aide de seulement deux propriétés caractéristiques du matériau. Remarquez que σ_{ij} et ε_{ij} sont définis en tout point du corps et sont donc fonction de x, y, z .

Annexe II

Membranes, plaques et coques

Lorsqu'on analyse un problème de mécanique des structures comportant des éléments où une dimension est beaucoup plus petite que les autres, on peut faire appel à certaines approximations. Les méthodes éléments finis permettent l'emploi de telles approximations sous la forme d'éléments spécialement conçus pour ce type de problèmes. Cependant, la nomenclature ne semble pas être uniforme. Ici nous ferons la distinction entre les termes membrane, plaque et coque tels que définis par McIntyre et Marchand ^[43]. Voici une brève description de chacun de ces éléments.

Les éléments membranes sont utilisés pour des problèmes géométriquement bidimensionnels. Les déformations ne se font que dans le plan perpendiculaire à la petite dimension, i.e. si la dimension z de l'élément est petite par rapport aux dimensions en x et y , seules les déformations dans le plan xy sont permises. L'épaisseur z peut cependant varier sous l'application des charges.

Les plaques : deux théories existent selon que la plaque est mince (théorie de Kirchoff) ou épaisse (théorie de Mindlin). En bref, le cisaillement transversal est négligé dans la théorie des plaques minces tandis que la théorie des plaques épaisses en tient compte. Les plaques représentent habituellement des surfaces planes soumises à des déformations en flexion.

Les coques sont utilisées pour représenter des surfaces courbes (même si chaque élément coque est habituellement plat) ; ils sont en fait une combinaison d'une membrane et d'une plaque en flexion sans couplage entre les deux types de déformation.

L'élément SHELL181 de ANSYS utilisé dans les modèles de la présente recherche est composé de 4 noeuds ; il se prête bien aux analyses non-linéaires et est de type coque ^[81,82].