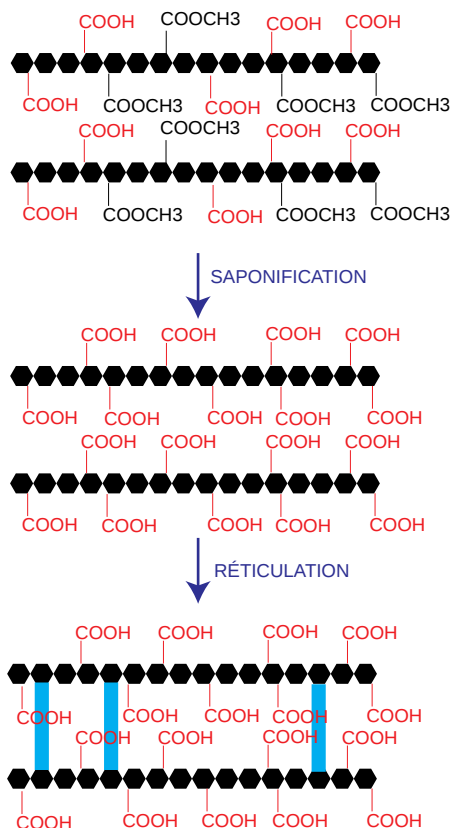




Pour obtenir des molécules de pectines qui captent efficacement les métaux, on les saponifie, afin d'augmenter le nombre de sites fixateurs (en rouge), puis on les réticule (par des molécules schématisées en bleu) afin de limiter leur gonflement.

groupes latéraux méthylés afin de créer de nouveaux sites de liaison aux ions métalliques? Les chimistes ont traité la pulpe de betterave par une base, afin d'effectuer une réaction chimique de saponification (par la même réaction, on transforme les graisses en savon). Un traitement qui dure seulement une heure et demie double la capacité d'absorption des atomes métalliques.

Hélas, quand on saponifie ainsi les pectines, les mêmes groupes latéraux qui fixent des ions métalliques se lient aux molécules d'eau, de sorte que la pulpe gonfle excessivement quand on la met dans l'eau. Ce gonflement serait gênant, lors d'un traitement des eaux, car la pulpe qui aurait capté des ions métalliques devrait être coûteusement séchée avant d'être incinérée. Comment éviter ce gonflement? Les chimistes nantais ont proposé de lier les molécules. Les deux composés testés (le formaldéhyde, ou formol, et l'épichlorhydrine) relient des groupes latéraux hydroxyle ($-OH$) portés par les molécules de pectine. Si la réticulation par le formaldéhyde réduit la capacité de liaison, la réticulation par l'épichlorhydrine réduit considérablement le gonflement sans diminuer la capacité de fixation.

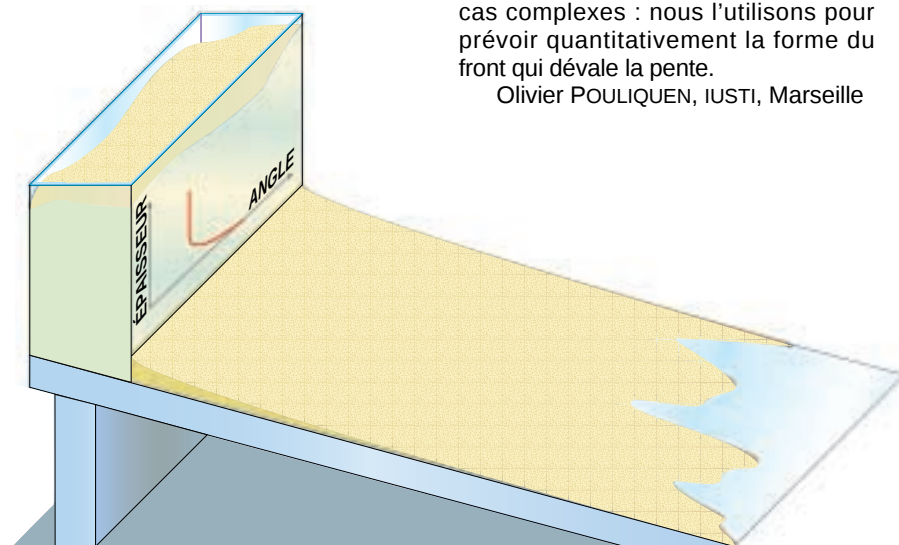
Glissements de terrain

La mécanique de l'écoulement du sable : une couche mince s'écoule difficilement.

Quoi de commun entre un éboulement de terrain, la chute du sable dans un silo, le déchargement d'un silo de céréales? Dans tous les cas, de la matière en grains s'écoule. Comment? Malgré l'importance des écoulements granulaires dans l'industrie et en géophysique, la simple question «à quelle vitesse coule une couche de sable sur une pente?» reste ouverte. Des expériences d'écoulement sur plan incliné apportent un début de réponse.

Les comportements des milieux composés de grains sont d'une grande variété. Lors de la construction d'un édifice, par exemple, le sol (granulaire) se déforme sous le poids et se comporte comme un solide, car les frottements des grains sont importants et les déformations sont lentes. En revanche, quand on secoue énergiquement une boîte partiellement remplie de sable, les collisions entre les grains sont élastiques et le milieu a les caractéristiques d'un gaz.

Toutefois, dans de nombreuses applications ou lors d'événements naturels, comme les avalanches et les glissements de terrain, les grains ont un comportement intermédiaire. Au cours d'une avalanche de roches, les grains roulent tout en restant en contact avec leurs voisins. Ils interagissent à la fois par collisions et par frottements. Comment décrire ces écoulements denses? Par analogie avec un liquide? Peut-être, mais le sable est loin de se comporter comme de l'eau.



Ce dispositif expérimental mesure l'épaisseur d'un dépôt après une avalanche de sable.

Une meilleure compréhension des propriétés d'écoulement passe par des expériences de laboratoire dans des configurations épurées.

L'expérience que nous avons réalisée consiste à faire couler un milieu granulaire simplifié (des billes de verre de 0,5 millimètre de diamètre) sur un plan incliné rugueux. Contrairement à un fluide classique, un milieu granulaire ne s'écoule pas dès que l'on incline le plan. Depuis un travail d'Augustin Coulomb, en 1773, on sait que le sable s'écoule quand l'angle du plan sur lequel il repose est supérieur à un angle critique, l'angle dit angle de talus. Toutefois nos expériences ont montré que le phénomène d'écoulement est plus complexe que ne l'avait pensé Coulomb : le seuil d'écoulement dépend à la fois de l'angle du support et de l'épaisseur de la couche de sable ; une couche mince coule plus difficilement qu'une couche épaisse.

Cet effet semble dû à la rugosité du support. Le dépôt qui subsiste après un écoulement est, d'ailleurs, une manifestation du phénomène : lorsque l'écoulement n'est plus alimenté, il reste sur le plan rugueux une couche immobile car le sable ne s'y écoule plus. Son épaisseur, mesurable, est celle pour laquelle l'écoulement s'arrête.

L'épaisseur du dépôt subsistant renseigne sur la vitesse de l'écoulement, comme l'ont révélé les mesures systématiques de vitesses d'écoulement que nous avons entreprises pour différentes valeurs des paramètres : angle d'inclinaison, épaisseur et rugosité du fond. Les données expérimentales se rassemblent sur une courbe reliant l'épaisseur du dépôt en fonction de l'angle d'inclinaison et elle permet de prévoir ces vitesses. La justification théorique de cette variation n'est pas élucidée, mais on détermine ainsi la vitesse d'écoulement dans des cas complexes : nous l'utilisons pour prévoir quantitativement la forme du front qui dévale la pente.

Olivier POULIQUEN, IUSTI, Marseille

Les stratégies de défense des plantes

SERGE KAUFFMANN • STÉPHAN DOREY • BERNARD FRITIG

Pour améliorer la protection des plantes, on étudie leurs mécanismes naturels de défense contre les micro-organismes : elles reconnaissent l'agent pathogène, déclenchent une réaction locale, puis globale, et «mémorisent» l'attaque pour réagir plus efficacement lors d'un éventuel assaut ultérieur.

À chaque instant les plantes doivent faire face à l'agression de champignons, de bactéries, de virus ou encore de nématodes (des vers) et, bien sûr, d'insectes ou d'herbivores. Ne pouvant fuir devant l'agresseur, elles ont élaboré au cours de leur évolution des défenses efficaces contre les divers agents pathogènes, et aujourd'hui l'apparition d'une maladie est plus l'exception que la règle. Pourtant, près de 20 pour cent des récoltes sont perdues à cause de l'attaque d'agents microbiens. De surcroît, ce résultat n'est obtenu que par l'emploi massif de produits phytosanitaires : le marché mondial des fongicides est estimé, à lui seul, à 40 milliards de francs.

Cette utilisation de substances aidant les plantes à lutter contre les micro-organismes pathogènes est contestée, car elle n'est pas sans conséquences sur l'environnement. Depuis quelques années, la connaissance des mécanismes de défense des plantes a notablement progressé, et de nouvelles stratégies de protection des végétaux sont envisagées : elles sont fondées sur une stimulation maîtrisée des défenses que les plantes ont naturellement élaborées au cours de l'évolution. Elles complèteraient, voire remplaceraient, les méthodes actuelles de phytoprotection.

Dans la nature, la plupart des espèces végétales sont protégées contre la plupart des micro-organismes. Ces derniers sont généralement incapables de franchir les barrières protectrices externes des plantes, par exemple la cuticule, une cire qui recouvre les feuilles, ou la paroi

pecto-cellulosique, l'enveloppe semi-rigide qui entoure les cellules végétales (la pectine et la cellulose sont les deux principaux constituants de cette paroi). Cette résistance passive existe indépendamment de la présence d'un agent pathogène. Toutefois, certains agresseurs contournent ces barrières mécaniques et pénètrent dans les plantes par les pores naturels, les stomates, ou par une blessure accidentelle. Les envahisseurs ne se développent pas nécessairement dans la plante, car ils n'y trouvent pas toujours les éléments nécessaires à leur multiplication.

De la défense passive à la défense active

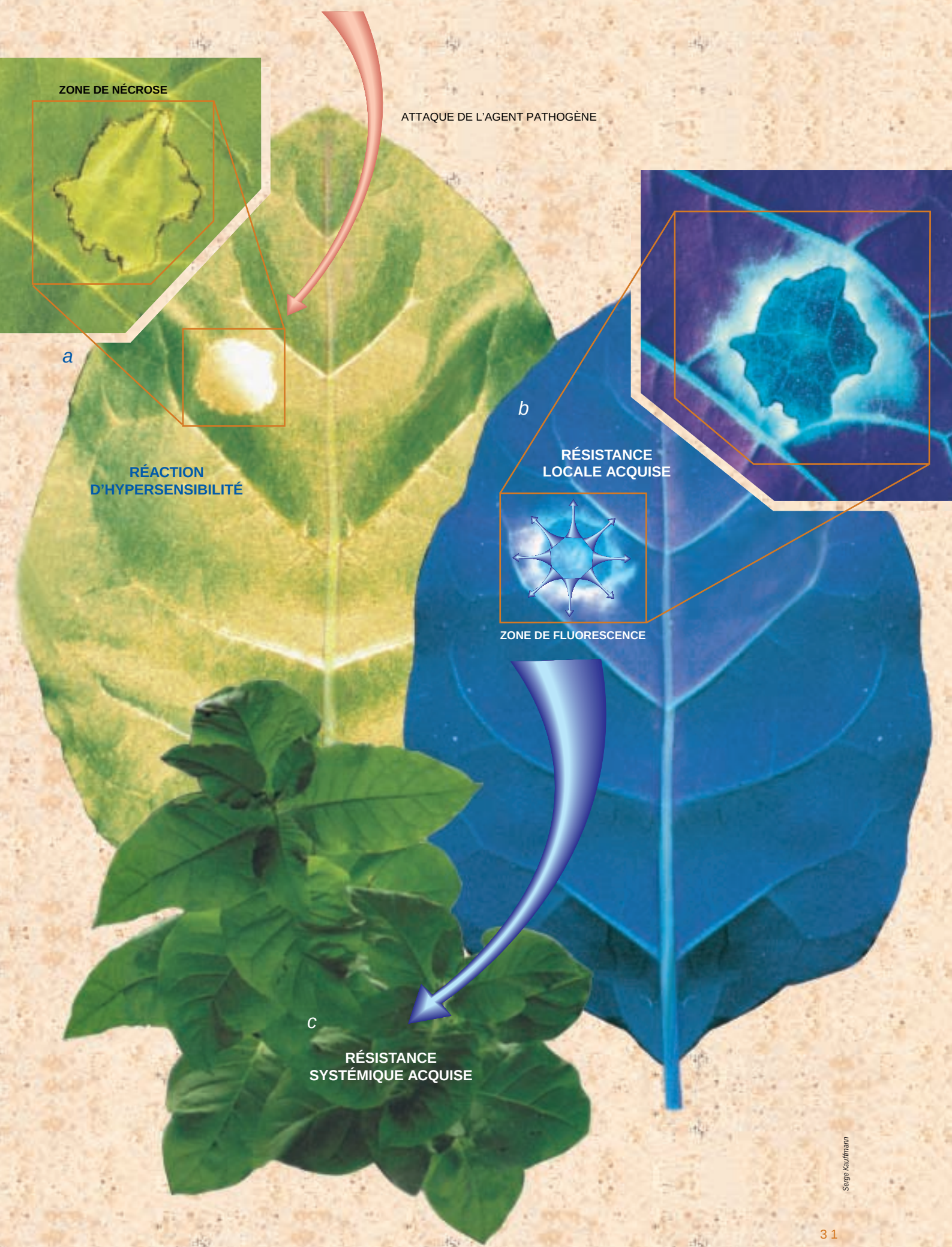
Lorsqu'un agent pathogène dispose des armes nécessaires pour envahir une plante, ou bien la plante ne le détecte pas, et l'envahisseur en profite : l'issue de l'interaction peut être fatale pour la plante hôte ; ou bien la plante parvient à confiner l'agresseur sur le site d'attaque grâce à la mise en place de défenses actives, déclenchées par la présence de l'agent pathogène.

Ces mécanismes de défense se déroulent en trois phases. La première, l'étape de reconnaissance de l'agent pathogène, est essentielle, puisque, sans elle, les étapes ultérieures ne se déclenchent pas. La deuxième phase est celle de l'activation d'une cascade de signaux dans les cellules attaquées et de la transmission des signaux d'alerte aux cellules environnantes et à la plante entière. Enfin, au cours de la troisième étape, les réactions de défense s'expriment.

Ce scénario – perception, signalisation, réaction – est celui de toute méthode de défense active contre un agresseur. Ainsi, lors d'une infection chez les mammifères, l'agent infectieux est détecté, divers signaux activent le système immunitaire et des réactions de défense adaptées s'expriment.

Dès qu'une plante détecte un agent pathogène, elle met en place un des systèmes de défense naturelle les plus efficaces : une réaction d'hypersensibilité. Cette réaction violente se manifeste souvent par l'apparition d'une petite tache nécrotique localisée sur le site de pénétration du parasite (voir les figures 1 et 2) :

1. LA DÉFENSE ACTIVE des plantes lors de l'attaque d'un micro-organisme pathogène a deux objectifs : elle limite la dissémination de l'agent pathogène au site d'attaque et prépare la plante à mieux réagir à une possible agression ultérieure. Deux mécanismes concourent à stopper l'assaillant. D'une part, sur le site de pénétration de l'agresseur, les cellules infectées s'autodétruisent (a) pour retarder la progression de l'agresseur ; on constate une tache nécrosée en lumière visible. D'autre part, avant de s'autodétruire, les cellules émettent des signaux d'alerte vers les cellules avoisinantes, créant une zone de résistance locale acquise où s'accumulent de nombreux composés de défense. Cette zone, plus large que la zone nécrosée est visualisée chez le tabac quand la feuille est observée sous un rayonnement ultraviolet (b). Des signaux d'alerte sont également envoyés dans la plante entière (c) pour créer un état de veille qui lui permettra de réagir encore plus efficacement contre une nouvelle infection : c'est la résistance systémique acquise.

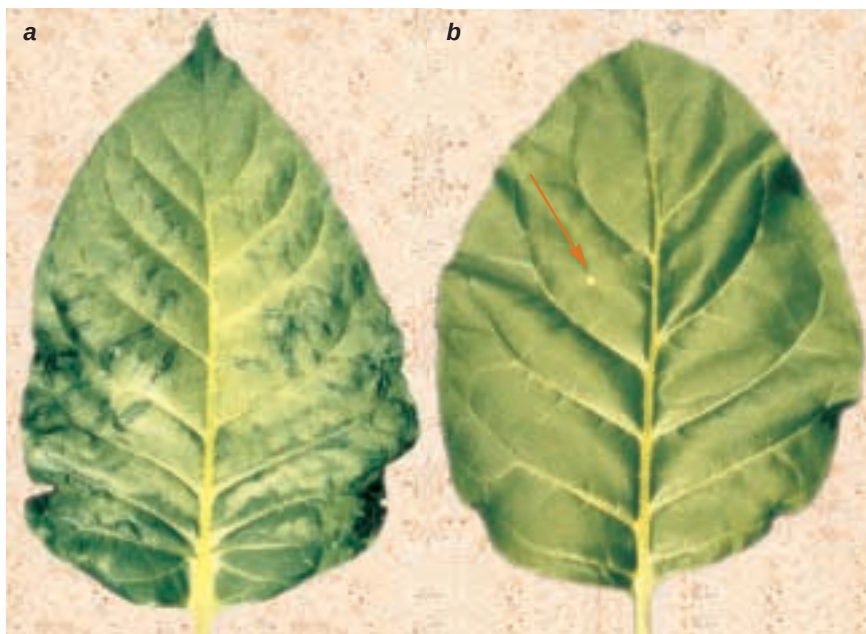


les premières cellules végétales infectées meurent. La mort cellulaire hypersensible est une forme de mort cellulaire programmée.

Chez les animaux, l'apoptose (une mort cellulaire génétiquement programmée) intervient dans de nombreux processus physiologiques, dont les mécanismes de défense contre des agents pathogènes. L'apoptose se caractérise par une condensation du cytoplasme et du noyau, une fragmentation de l'ADN et la formation de corps apoptotiques (les cellules apoptotiques présentent des renflements qui se détachent et forment les corps apoptotiques).

Chez l'arabette (une mauvaise herbe) et chez le soja, l'infection par certaines bactéries aboutit à une mort cellulaire qui présente de nombreuses caractéristiques de l'apoptose, notamment une fragmentation de l'ADN nucléaire et l'induction d'enzymes spécifiques, que l'on observe aussi dans des cellules de tabac au cours d'une infection par le virus de la mosaïque du tabac. Toutefois, certaines caractéristiques de l'apoptose animale, telle la formation de corps apoptotiques, ne sont pas observées lors d'une réaction d'hypersensibilité. L'apoptose animale et la mort cellulaire programmée de type hypersensible chez les plantes ne sont pas rigoureusement identiques, même si elles sont toutes deux des mécanismes génétiquement programmés.

Ce suicide de quelques cellules pour tenter de sauver la plante entière, est suivie de l'expression de gènes de défense qui aboutit à l'accumulation de protéines et de composés antimicrobiens. Le but d'une réaction d'hypersensibilité semble être de retarder suffisamment longtemps l'invasion microbienne, afin que les autres mécanismes de défense, notamment la production d'antibiotiques, aient le temps de se mettre en place. En fait, c'est la combinaison de cette mort hypersensible et de réactions de défense locales intenses qui assurent le confinement de l'agent pathogène sur son site de pénétration. La zone où ont lieu ces réactions de défense intenses est nommée zone de résistance locale acquise, que l'on observe sur le tabac lorsqu'on éclaire les feuilles infectées au moyen d'un rayonnement ultraviolet. Toutefois, la plante ne se contente pas de combattre localement l'infection primaire.



2. LA RÉSISTANCE DES PLANTES AUX INFECTIONS est d'origine génétique. Après une infection, la feuille de la plante dépourvue du gène de résistance (a) est boursoufflée et recroquevillée : elle est envahie de particules virales ; la plante pousse mal. La feuille de la plante qui a le gène de résistance (b) ne présente qu'une minuscule tache nécrotique après une attaque du virus (à l'extrémité de la flèche). Toutefois, si, au lieu d'observer

Elle émet des signaux d'alerte vers toutes les autres cellules de l'organisme pour les préparer à réagir plus efficacement lors d'une autre agression. C'est le phénomène de résistance systémique acquise.

Ce type de résistance, plus tardive et moins intense, met la plante dans un état de veille qui la maintient prête à réagir rapidement à toute nouvelle attaque du premier pathogène ou d'un autre agresseur. Cette stratégie a l'intérêt de ne pas mobiliser en permanence les ressources défensives de la plante : seules quelques sentinelles veillent. Ce phénomène rappelle celui de l'immunisation chez les mammifères.

Les armes de défense

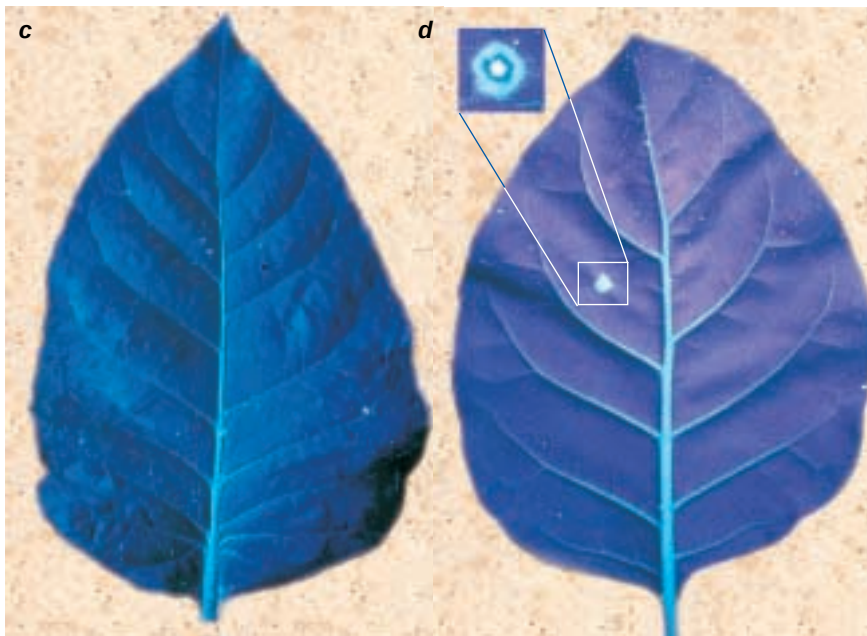
De quelles armes moléculaires les plantes disposent-elles pour se protéger ? De nombreuses équipes ont cherché à identifier les modifications métaboliques qui, dans la plante, participent à la lutte contre l'infection. Toutes les réactions d'espèces végétales très diverses se ressemblent, et l'on retrouve systématiquement trois grandes catégories de réactions : une stimulation de certaines voies métaboliques secondaires, notamment celles de la production des antibiotiques végétaux, le renforcement de la paroi pecto-cellulosique et la

production de toute une gamme de protéines de défense.

Les métabolismes secondaires jouent un rôle essentiel en permettant notamment la production des antibiotiques végétaux, de petites molécules nommées phytoalexines. Chez le tabac, par exemple, ce sont les molécules de scopolétine (une phytoalexine) que l'on observe en lumière ultraviolette.

D'autre part, dès qu'un attaquant est perçu, on constate que la plante réagit en déclenchant un épaississement de sa paroi. Le dépôt de macromolécules, telles que des protéines, des polysaccharides, et des polymères aromatiques qui ressemblent à la lignine (un des principaux constituants du bois), renforce la matrice extracellulaire sur le site de l'attaque ; ce dépôt accroît la résistance des parois cellulaires aux enzymes microbiennes. Ces enzymes font partie de l'arsenal d'attaque des micro-organismes : elles « digèrent » les parois cellulaires pour que l'envahisseur puisse se frayer un chemin jusqu'au cœur des cellules et s'y multiplier.

Enfin, l'arsenal défensif des plantes comprend de nombreux peptides et protéines de défense. Parmi ces dernières, les protéines PR ont été découvertes en 1970 chez le tabac (pr pour *Pathogenesis related*, c'est-à-dire protéines liées à la pathogénèse). Elles ont des propriétés physico-chimiques communes et qui leur sont spécifiques :



les feuilles en lumière visible, on utilise un rayonnement ultraviolet, on constate que la feuille de la plante sensible est uniformément bleue (c), tandis que celle de la plante résistante (d) qui a subi l'attaque virale présente une tache claire due à des molécules de défense fluorescentes : la plante a produit localement des substances qui ont empêché le virus de se répandre dans la plante entière.

elles sont très stables en milieu acide et résistent à l'action des protéases produites par la plante elle-même ou par les micro-organismes pathogènes. Ces deux propriétés leur confèrent une grande stabilité dans les environnements défavorables où elles s'accumulent, notamment dans la vacuole, et dans les espaces intercellulaires occupés par les agents pathogènes. La vacuole est une volumineuse poche au sein des cellules végétales qui sert à stocker différents composés, parfois toxiques.

Bien qu'elles soient produites abondamment, l'identification de leur activité biologique a été difficile. En 1987, nous avons montré que certaines ont une activité enzymatique identique à celle de la β -1,3-glucanase ou de la chitinase, enzymes qui dégradent, parfois en synergie, la paroi des champignons et des bactéries. Depuis, l'activité biologique d'autres protéines PR a été élucidée. Certaines inhibent des protéases ou des polygalacturonases microbiennes, importantes pour le pouvoir pathogène des micro-organismes : les protéines PR désarment ainsi leur agresseur. D'autres protéines de défense perforent les membranes des champignons. Aujourd'hui, on a établi que les protéines PR sont présentes dans toutes les plantes et ont toutes d'intenses activités antimicrobiennes (antifongique et antibactérienne).

Détecteurs d'effraction

L'étude des réactions de défense en a révélé un aspect surprenant : elles ne sont pas spécifiques de l'agent agresseur. C'est, par exemple, le cas du tabac infecté par le virus de la mosaïque du tabac. Parmi les défenses mises en place par le tabac pour confiner le virus sur son site d'attaque, plus d'une trentaine de protéines de défense de type PR sont produites, mais aucune n'a d'activité antivirale spécifique. Ainsi les premières réactions de défense déclenchées par un virus consistent, d'une part, à confiner au maximum le virus sur son site d'attaque et, d'autre part, à produire en abondance des substances antibactériennes et antifongiques. Cette réaction non spécifique de l'agresseur est paradoxale dans la mesure où le déclenchement de ces réactions tous azimuts dépend, au contraire, d'une reconnaissance très spécifique de l'agent pathogène par la plante hôte.

C'est l'envahisseur lui-même qui produit une molécule, nommée éliciteur, que la plante attaquée reconnaît : il code sa propre perte. Les gènes qui codent ces protéines reconnues par les plantes sont nommés gènes d'avirulence : ils déclenchent les réactions de la plante qui vont neutraliser l'envahisseur, et le rendre « avirulent ». Chez

la plante, le gène codant la protéine (jouant le rôle de récepteur) qui reconnaît l'éliciteur produit par l'assaillant est nommé gène de résistance (il rend la plante résistante à l'agent pathogène exprimant le gène d'« avirulence » correspondant, dans une relation gène-pour-gène).

Les sélectionneurs ont, dès le début du XX^e siècle, remarqué l'existence de tels gènes de résistance chez les plantes ; ces gènes se transmettent selon les lois de Mendel. Dans les années 1940, le biologiste américain Harold Flor a étudié les interactions du lin et de l'agent de la rouille du lin, *Melampsora lini*. Il fut le premier à formaliser l'existence d'une reconnaissance d'origine génétique. En 1983, les premiers gènes d'avirulence ont été isolés chez les bactéries, puis chez un virus et chez des champignons. Il faudra dix années supplémentaires pour que le premier gène de résistance de plante soit isolé : c'était le gène *Pto* de tomate.

Aujourd'hui, une trentaine de gènes de résistance ont été isolés. Bien qu'ils rendent les plantes résistantes à des agents pathogènes de nature variée (virus, bactéries, champignons, nématodes), les produits des gènes de résistance ont des structures similaires. Ainsi, à l'exception du produit du gène *Pto* de la tomate, toutes les protéines codées par les gènes de résistance ont des motifs riches en leucine (la leucine est un acide aminé constituant des protéines). Ces motifs interviennent dans les interactions des protéines. On a récemment montré que les échanges de séquences d'ADN non codant (les séquences situées entre les gènes), notamment dans la région qui code les motifs riches en leucine, contribuent à la diversité des gènes de résistance et, par conséquent, à la spécificité de la reconnaissance entre le pathogène et la plante hôte.

La majorité des gènes de résistance codent des protéines ayant des domaines caractéristiques de récepteurs présents chez les mammifères, la drosophile ou encore la levure. Ainsi le domaine nommé Toll / interleukine 1 ressemble au domaine de la protéine Toll de drosophile et au récepteur de l'interleukine 1 de mammifère (on dit que ces domaines présentent de fortes homologies). Les produits des gènes de résistance qui ont ce domaine déclencheraient une cascade de signaux intracellulaires similaire à celle due à l'interaction de Toll et du récepteur de

l'interleukine 1. On en déduit que les systèmes de reconnaissance sont très conservés parmi tous les organismes vivants.

De multiples systèmes de détection

D'autres molécules, les éliciteurs généraux, sont des systèmes de perception moins spécifiques que les éliciteurs décrits précédemment. Les cellules végétales peuvent détecter des composants issus des micro-organismes pathogènes, nommés éliciteurs exogènes, ou issus de la plante elle-même, les éliciteurs endogènes. De nature chimique variée, ce sont des protéines, telles les élicitines produites par les champignons de l'espèce *Phytophthora* responsable du mildiou chez de nombreuses plantes cultivées, des lipides, tel l'acide arachidonique, des oligosaccharides, tels les β -glucanes et la chitine issus de la paroi des champignons, et des oligogalacturonides dérivés de la pectine des parois des cellules végétales. Certains éliciteurs généraux déclenchent une réaction d'hypersensibilité au même titre que les éliciteurs spécifiques, d'autres seulement des réactions de défense, sans mort cellulaire.

Pourquoi, au cours de l'évolution, les micro-organismes ne se sont-ils pas débarrassés de ces molécules qui éveillent si efficacement les systèmes de défense de leurs proies? Parce que ces molécules sont généralement indispensables à la survie des micro-organismes. Ainsi, l'équipe de Jean-Pierre Blein, de l'Institut national de recherche agronomique, l'INRA, à Dijon, a montré que, dans le cas des champignons *Phytophthora*, les élicitines assurent le transport des stéroïdes, des substances nécessaires à leur métabolisme, mais qu'ils ne synthétisent pas eux-mêmes. Par ailleurs, l'équipe d'Alain Pugin de l'Université de Bourgogne, à Dijon, a montré que ces élicitines sont aussi reconnues spécifiquement via un récepteur par les cellules de tabac, où elles déclenchent une réaction d'hypersensibilité.

Comment les éliciteurs généraux activent-ils les cascades d'événements biochimiques qui aboutissent à la stimulation des réactions de défense? La plupart ont des récepteurs (intra- ou extracellulaires), mais certains interagissent directement avec la membrane cellulaire. Dès que l'éliciteur est perçu, une cascade de signaux s'active. Pour

identifier les éléments d'une voie de signalisation, on étudie l'action d'éliciteurs sur des systèmes simplifiés, des suspensions cellulaires. On utilise des inhibiteurs ou des activateurs de divers composants des voies de signalisation étudiées chez les animaux (par exemple, des inhibiteurs des canaux ioniques ou de diverses enzymes). Nous décrivons les réactions déclenchées par la cryptogéine, une élicitine issue du champignon *Phytophthora cryptogea*, sur des suspensions de cellules de tabac. Les élicitines, découvertes par l'équipe de Pierre Rici de l'INRA, à Antibes, sont un outil performant pour l'étude de la cascade de signalisation.

La détection de la cryptogéine modifie la perméabilité membranaire : des ions calcium affluent dans la cellule et des ions potassium et chlore en sortent massivement. Les ions calcium jouent un rôle essentiel dans la cascade de signalisation qui aboutit aux réactions de défense, notamment parce qu'ils activent des enzymes, nommées protéines kinases, qui phosphorylent diverses protéines (c'est-à-dire leur ajoutent des groupes phosphate). Certaines de ces protéines kinases présentent de fortes homologues avec une classe de kinases de mammifères et de levures, nommées les MAP-kinases. L'activation des protéines G, généralement associées à des récepteurs membranaires, constituent également l'un des événements les plus précoces après l'étape de reconnaissance. Ces protéines assurent la transmission des messages, et leur activation semble même précéder l'entrée des ions calcium dans la cellule.

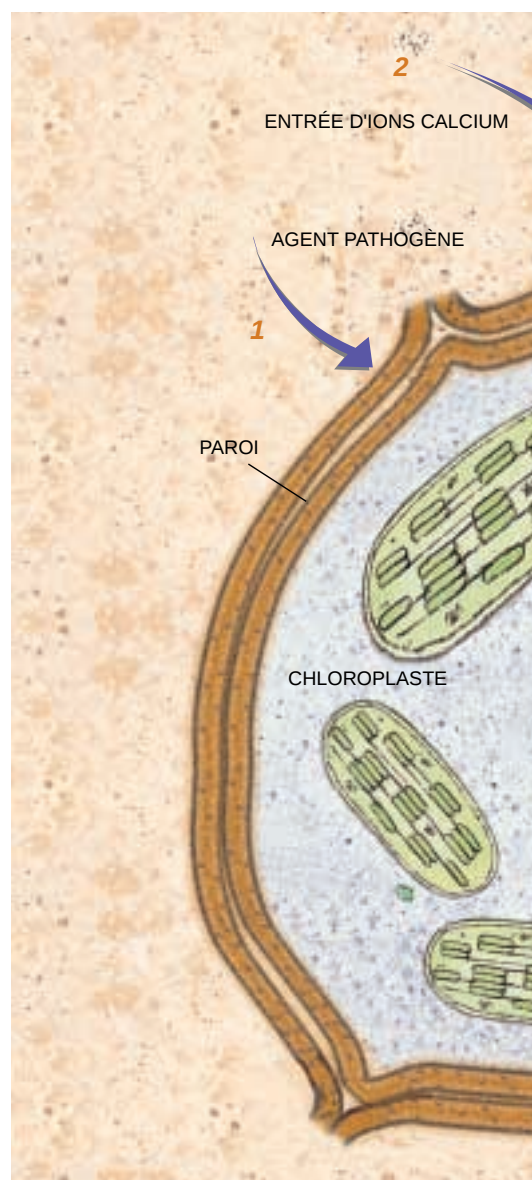
Le stress oxydatif

Parmi les réactions précoces déclenchées par la perception de cryptogéine, on observe aussi la production de formes réactives de l'oxygène (ou radicaux oxydants). La production rapide de radicaux oxydants, ou stress oxydatif, est un phénomène qui se produit chez toutes les plantes qui ont subi une perturbation biologique ou une dégradation physique.

Au cours des dernières années, plusieurs équipes, dont la nôtre, ont étudié le rôle des radicaux oxydants dans les réactions de défense des plantes. C'est surtout le cas des anions superoxydes (O_2^-) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Le radical O_2^- est instable et forme facilement H_2O_2 .

Plusieurs études ont confirmé la production de O_2^- et de H_2O_2 lors d'interactions de plantes et d'agents pathogènes ou d'éliciteurs. Une enzyme, la NADPH-oxydase localisée sur la membrane des cellules végétales, participe en tout premier chef à la production de radicaux oxydants. Certaines cellules du système immunitaire des mammifères, les macrophages, disposent d'une enzyme similaire qui produit aussi des radicaux oxydants lors des réactions immunitaires.

Les formes réactives de l'oxygène produites lors d'un stress oxydatif peuvent être directement toxiques pour le parasite et jouer alors le rôle



3. LES RÉACTIONS qui suivent l'attaque d'un agent pathogène (1) commencent par une entrée massive d'ions calcium (2) dans la cellule, accompagnée d'une sortie d'ions potas-

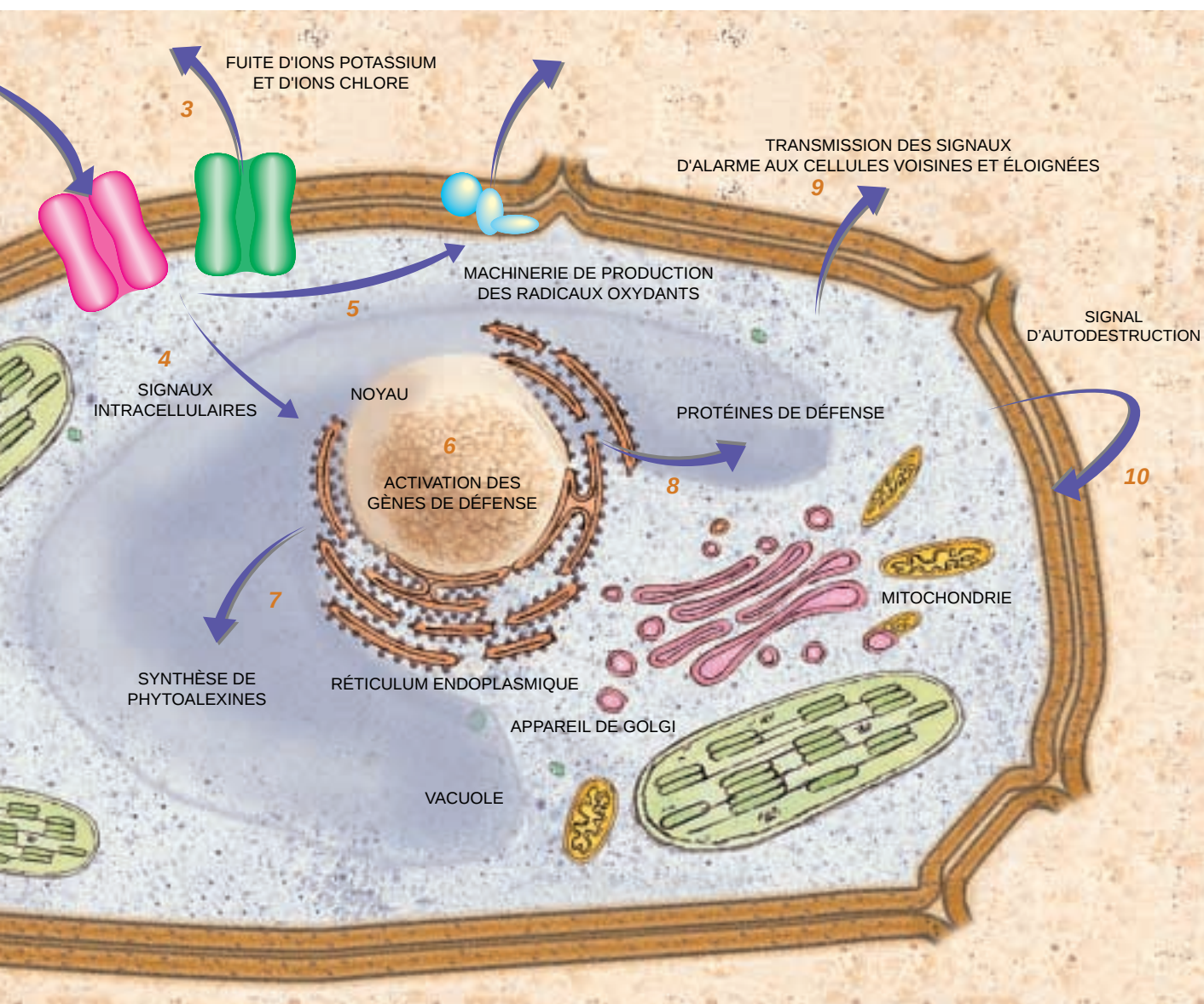
d'antimicrobiens. Ainsi, H_2O_2 inhibe la germination des spores de plusieurs champignons pathogènes. Des plants transgéniques de pomme de terre exprimant l'enzyme glucose oxydase qui produit H_2O_2 résistent mieux à la bactérie *Erwinia*, responsable du «feu bactérien», et au champignon *Phytophthora infestans*, qui attaqua la pomme de terre et fut responsable de la famine en Irlande au début du XX^e siècle, que les plantes qui ne l'expriment pas. Les radicaux oxydants renforcent également la paroi végétale : le mécanisme d'éllicitation conduit parfois très rapidement à la polymérisation, en présence de H_2O_2 des protéines de la paroi végétale.

Les radicaux oxydants activent les gènes de défense, et la forme la plus stable, H_2O_2 , semble déclencher la synthèse de phytoalexines chez le tabac. Cette molécule stimule aussi l'expression des protéines de défense : des plants transgéniques de tabac qui accumulent H_2O_2 expriment naturellement des protéines PR. On a observé un résultat similaire chez la pomme de terre et chez le soja. Ainsi, les formes réactives de l'oxygène participent au déclenchement de diverses réactions de défense.

Outre leur rôle dans le déclenchement des réactions de défense, les formes oxydantes interviendraient dans les réactions liées à la mort de certaines

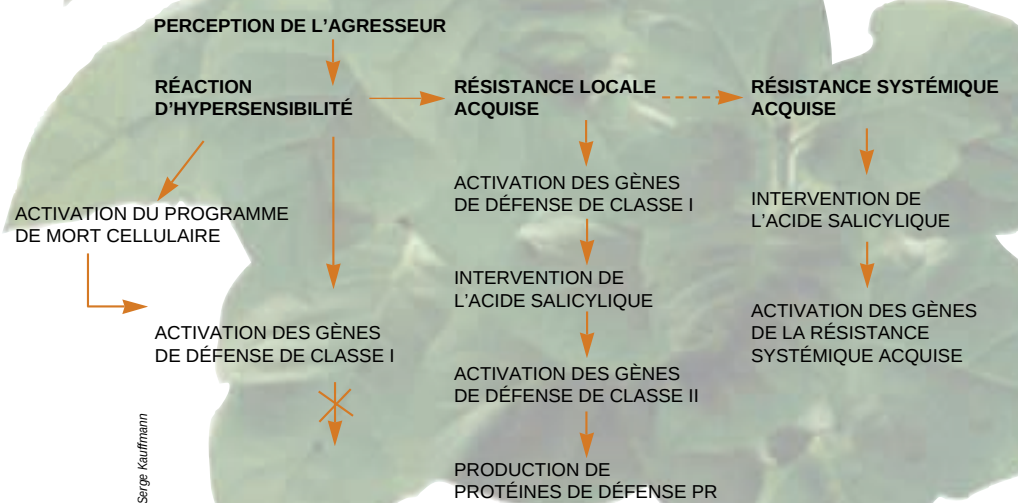
cellules végétales : parce que ces radicaux peroxydent les lipides qui constituent les membranes, ils sont toxiques pour les cellules végétales. Enfin, les formes oxydantes pourraient aussi jouer le rôle de molécule signal dans le déclenchement de la mort cellulaire programmée.

Le monoxyde d'azote, NO , est une forme particulière de radical oxygéné qui intervient dans différentes situations normales ou pathologiques, par exemple les mécanismes inflammatoires chez les mammifères. Récemment, on a montré que l'application de substances libérant NO sur des feuilles de tabac déclenche la synthèse de protéines PR. Ainsi, NO fonctionne comme



sium et d'ions chlore (3). Ensuite, des signaux d'alarme sont émis vers l'intérieur de la cellule (4) et vers la machinerie de production des radicaux oxydants. La cascade des réactions, qui s'enchaînent ou se déroulent parallèlement, aboutit à l'activation des gènes de défense (6),

puis à la synthèse d'antibiotiques végétaux, les phytoalexines (7), et de protéines de défense (8). La cellule infectée transmet les signaux d'alarme aux cellules voisines et éloignées (9) et s'autodétruit (10). Elle meurt avant que les étapes 7 et 8 soient achevées.



4. LA PERCEPTION D'UN AGENT PATHOGENE déclenche plusieurs cascades de réactions. La première, la réaction d'hypersensibilité, est la plus localisée, puisqu'elle ne concerne que la ou les toutes premières cellules infectées. Les signaux d'autodestruction (ou mort cellulaire programmée) sont émis en même temps que des signaux d'activation de l'expression de différents gènes (classe i) indispensables notamment à la production des antibiotiques végétaux. Toutefois, la cellule infectée meurt avant d'avoir eu le temps de produire ces molécules de défense. Simultanément, des signaux sont émis vers les cellules voisines qui, elles, produisent de grandes quantités d'antibiotiques végétaux et de protéines de défense (produits des gènes de classe ii) : c'est la réaction de résistance locale acquise. Ces deux réactions localisées ont pour but d'arrêter la progression de l'agent pathogène. Enfin, des signaux sont émis vers la plante entière, laquelle se met dans un état de veille qui potentialise son aptitude à lutter contre une éventuelle nouvelle agression : c'est la résistance systémique acquise. L'acide salicylique est un signal indispensable à l'établissement de ces résistances.

une molécule signal aussi bien chez les animaux que chez les végétaux.

Des réactions locales à la résistance globale

Trois types de molécules endogènes semblent agir dans la signalisation intercellulaire lors de l'interaction d'une plante et d'un agent pathogène : l'acide salicylique (dont dérive l'aspirine), l'éthylène et l'acide jasmonique. Depuis quelques années, un grand nombre d'études ont confirmé que l'acide salicylique joue un rôle clé de molécule signal dans la résistance systémique acquise. L'acide jasmonique et l'éthylène se sont également révélés indispensables au bon fonctionnement des voies de signalisation parallèles à celle de l'acide salicylique.

La production d'acide salicylique augmente localement et globalement après infection par différents types d'agents pathogènes. L'acide salicylique participe à la fois au confinement de l'agresseur sur le site primaire d'infection et à la mise en place de la résistance systémique acquise. Il déclenche l'expression de protéines de défense, notamment des protéines PR. On sait depuis longtemps que le signal responsable de l'établissement de la résistance systémique acquise est transporté

par voie générale des feuilles où a lieu l'infection primaire jusqu'aux feuilles non infectées. Ce signal chimique est peut-être l'acide salicylique : des expériences de marquage ont montré qu'une partie de l'acide salicylique présent dans les portions non infectées d'une plante provient de l'acide salicylique synthétisé dans la feuille infectée. Toutefois, d'autres expériences menées par le groupe de John Ryals, alors aux Laboratoires Ciba-Geigy, aux États-Unis, indiquent que l'acide salicylique ne serait pas le «vrai» signal mobile.

Ce groupe a établi l'importance de l'acide salicylique dans l'acquisition de la résistance locale et de la résistance systémique. Les expériences ont été faites sur des plants de tabac exprimant un gène bactérien qui code l'enzyme salicylate hydroxylase, laquelle catalyse la dégradation de l'acide salicylique. Dans ces plantes, l'activation des gènes commandés par l'acide salicylique diminue ; elle est même parfois totalement inhibée. Ces plantes transgéniques n'acquièrent aucune résistance systémique, et la résistance locale est notablement atténuée, voire abolie.

Outre son rôle dans l'expression des protéines de défense, l'acide salicylique participerait aussi, localement, au mécanisme de mort cellulaire hypersensible :

quand on bloque l'accumulation précoce d'acide salicylique lors d'une attaque du tabac par le virus de la mosaïque du tabac, la mort cellulaire des cellules infectées est retardée.

L'éthylène, une hormone végétale volatile, participe à plusieurs mécanismes physiologiques, notamment au mûrissement et au vieillissement des plantes, mais aussi à leurs mécanismes de défense. Il ne semble pas conditionner toutes les résistances dans toutes les espèces végétales, mais seulement la résistance à certains types d'agents pathogènes. L'éthylène étant un gaz, il diffuse partout dans la plante, et jouerait un rôle de signal endogène mobile.

Une dernière entité chimique, l'acide jasmonique, et son dérivé, le méthyle jasmonate, sont synthétisés à partir de l'acide linoléique ; ils participent à la croissance et au développement des plantes, mais également à la signalisation aboutissant aux réactions de défense. Les différentes voies de signalisation – celle de l'acide salicylique et celles de l'éthylène et de l'acide jasmonique – ne sont pas indépendantes. Dans certains cas, les signaux agissent en synergie pour activer la synthèse des protéines de défense. Par exemple, dans des plantes de tabac, l'expression des gènes des protéines PR est supérieure lorsque l'on applique sur les feuilles une combinaison de méthyle jasmonate et d'éthylène.

Ainsi, la transduction des signaux dans les cellules ou entre elles repose sur différents systèmes d'interaction. De nombreux composants de la signalisation intracellulaire sont les mêmes dans les différentes espèces étudiées, et certains participent aussi à la signalisation chez les animaux. De surcroît, bien que les signaux intercellulaires tels que l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène soient aussi présents ensemble dans de nombreuses interactions, ils semblent commander deux voies de signalisation intercellulaires distinctes : une voie où intervient l'acide salicylique et une autre pour l'acide jasmonique et l'éthylène. Selon la voie empruntée, les plantes acquièrent des résistances à des agents pathogènes différents. Ces différentes voies ne sont pas complètement indépendantes et une régulation fine s'exerce entre les différents composants pour optimiser l'établissement de la résistance.

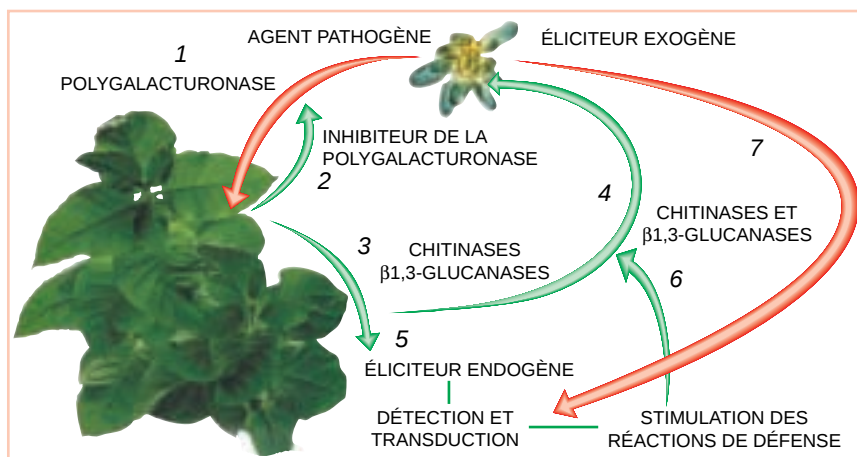
D'autres signaux interviennent pour amplifier les réactions de défense.

Il s'agit d'oligosaccharides produits par des enzymes d'origine microbienne et d'origine végétale. Ainsi, certains champignons produisent des polygalacturonases qui dégradent rapidement la paroi végétale. La plante riposte contre ces facteurs d'agressivité en synthétisant des inhibiteurs de polygalacturonases qui freinent la dégradation de la paroi végétale et, par conséquent, freinent la progression de l'agent pathogène. Comme ces inhibiteurs n'inactivent pas totalement la polygalacturonase, la paroi végétale continue à être partiellement dégradée ; des fragments oligosaccharidiques ayant une activité d'élliciteurs sont alors libérés de la paroi et activent les réactions de défense. La paroi végétale est à la fois un rempart mécanique et un réservoir de signaux d'activation des réactions de défense.

Un système d'amplification

De surcroît, la plante utilise également la paroi des cellules de champignons agresseurs comme une source d'oligosaccharides qui déclenchent les réactions de défense. Ce sont certaines enzymes de la plante, telles les β -1,3-glucanases ou les chitinases, qui permettent la libération de nouveaux signaux qui, eux-mêmes, déclenchent la synthèse de nouvelles β -1,3-glucanases et chitinases végétales : le système de défense de la plante est ainsi amplifié. Parfois, l'agent pathogène riposte en produisant un inhibiteur de ces enzymes végétales.

Le système de défense des plantes vis-à-vis d'agents pathogènes très variés comporte donc différentes stratégies complémentaires, simultanées ou différées, localisées ou globales. Les mécanismes sous-jacents sont coordonnés dans l'espace (dans la plante) et dans le temps : certaines réactions se déclenchent en quelques secondes ou en quelques minutes sur le site d'infection, d'autres, éloignées apparaissent après plusieurs heures. Certaines cessent avec l'emprisonnement, parfois la mort, du parasite, d'autres persistent plusieurs semaines, notamment celles qui assurent un état de veille préparant la plante entière à être encore plus performante lors d'une nouvelle agression. Les modalités de la contre-attaque de la plante mettent en jeu un arsenal d'armes diverses qui visent plusieurs cibles de l'agent pathogène, augmentant d'autant l'efficacité de la défense.



5. DES MÉCANISMES D'AMPLIFICATION renforcent les défenses des plantes. L'agent pathogène produit l'enzyme polygalacturonase (1) qui dégrade la paroi de la plante, laquelle synthétise un inhibiteur de l'enzyme (2). Dès l'attaque, elle libère aussi les enzymes chitinases et β 1,3-glucanases (3) qui attaquent la paroi des cellules de l'agent pathogène (4). L'inhibiteur de la polygalacturonase n'empêche pas totalement l'enzyme d'agir : la paroi végétale est un peu dégradée et libère des élliciteurs endogènes (5) ; ces derniers activent les réactions de défense, notamment la synthèse de nouvelles enzymes chitinases et β 1,3-glucanases (6), lesquelles renforcent l'action des premières. Ces enzymes, agissant sur la paroi des cellules de l'agent pathogène libèrent des élliciteurs exogènes qui stimulent aussi les réactions de défense de la plante (7).

Aujourd'hui, nous connaissons des signaux capables de déclencher, hors de toute infection, une partie, voire la totalité, de ces réactions de défense. Ainsi, avec la Société *Goëmar*, à Saint-Malo, et la Société *Biotransfer*, à Montreuil, nous avons montré que des extraits d'algues, nommés laminarines et contenant des glucanes, sont de puissants élliciteurs de réactions de défense qui ne déclenchent pas de mort cellulaire. Ils protègent efficacement des plantes d'intérêt agronomique telles que le blé, l'orge, le riz, la vigne ou les pommiers contre différentes maladies. Une telle démarche, fondée sur la stimulation des défenses des plantes à l'aide de composés naturels non toxiques, concilie agriculture performante et respect de l'environnement. On envisage d'étendre ce type d'actions protectrices ; en utilisant de tels

produits naturels en synergie avec les pesticides chimiques, on pourrait diminuer les volumes des pesticides et des fongicides. Cette démarche pourrait éviter la production de plantes transgéniques qui rencontre, pour l'instant, des oppositions par crainte d'une éventuelle dissémination non maîtrisée des gènes étrangers introduits dans ces plantes. Simultanément, avec la Société *Rhône-Poulenc Agro*, nous cherchons à élucider la nature des signaux émis par la plante lors de l'induction de la résistance locale acquise. Nous pourrions peut-être les utiliser pour stimuler cette réaction locale de défense, particulièrement efficace.

De ces recherches des mécanismes de défense des plantes naîtront sans doute des méthodes de protection des cultures plus efficaces et qui, surtout, respecteront mieux l'environnement.

Serge KAUFFMANN est directeur de recherche au CNRS, dans le laboratoire de Phytopathologie moléculaire à l'Institut de biologie moléculaire des plantes (IBMP) de Strasbourg, où Stéphane DOREY a préparé une thèse sur les mécanismes de la réaction hypersensible. Bernard FRITIG dirige le département Mécanismes moléculaires des réponses des végétaux aux agents pathogènes et aux xénobiotiques de l'Institut de biologie moléculaire des plantes.

Plant-Microbe Interactions, in *The Plant Cell*, numéro spécial, vol. 10, n° 10, 1996.

J. T. GREENBERG, *Programmed Cell Death in Plant-Pathogen Interactions*, in *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* vol. 48, pp. 525-545, 1997.

B. FRITIG et al., *Antimicrobial proteins in induced plant defense*, in *Curr. Opin. Immunol.*, vol. 10, pp. 16-22, 1998.

X. Dong, *Salicylic Acid, Jasmonic Acid, Ethylene, and Disease Resistance in Plants*, in *Curr. Opin. Plant Biol.*, vol. 1, pp. 316-323, 1998.

Les villes des Mayas

WOLFGANG WURSTER

Au Nord du Guatemala, en pleine forêt tropicale, les archéologues étudient des villes qui étaient très peuplées à l'époque des conquistadores. Sous une pyramide, on a même trouvé une tombe princière qui échappa aux pillers.

En 1525, Hernán Cortés (1485-1547) et son armée atteignirent le cœur de la civilisation maya, dans la forêt tropicale du Petén, au Nord du Guatemala actuel. Dans ses lettres à l'empereur Charles Quint, Cortés décrit Tayasal, l'ancienne capitale construite sur une île, au milieu d'un lac. Celle-ci ne céda qu'en 1697 aux assauts des Espagnols, qui la rasèrent alors. À l'emplacement de cette ville insulaire des Itzas (l'un des groupes mayas originaires de la côte du Mexique qui s'étaient installés dans cette région vers les années 1200) se dresse aujourd'hui Flores, la capitale de la province du Petén (voir la figure 2).

Toutefois une autre agglomération insulaire, encore très peuplée au XV^e siècle et située à une cinquantaine de kilomètres à l'Est, échappa aux Espagnols : la ville de Topoxté, bâtie sur une île du lac Yaxhá. C'est seulement en 1831 que le gouverneur Juan Galindo découvrit ce lieu, déserté depuis le XVI^e siècle et complètement reconquis par la jungle.

Cette petite ville fut active longtemps après la fin de la période «classique», qui s'est étendue du IV^e au IX^e siècle de notre ère, alors que de nombreux centres mayas étaient abandonnés. En 1904, l'architecte Badois Teobert Maler (1842-1917), qui servit comme officier dans le corps expéditionnaire de l'empereur du Mexique Maximilien (1832-1867), en prit de nombreuses photographies pour le compte du Musée Peabody d'archéologie et d'ethnologie de Cambridge. Ces images montrent que les pyramides étaient encore assez bien conservées (voir la figure 3) ; elles sont des documents irremplaçables, car l'état de ces monuments s'est considérablement dégradé depuis cette époque.

Des missions archéologiques américaines fouillèrent quelques monu-

ments, mais aucune fouille d'ensemble ne fut malheureusement réalisée. Grâce à une aide financière et technique considérable fournie par l'Allemagne, on a sauvé *in extremis* les monuments subsistants d'une ville maya de la période tardive. Le sauvetage et les fouilles systématiques de cette ville ne représentent cependant que la première étape d'un très ambitieux projet de développement du Petén central, mené par l'Allemagne et le Guatemala : on veut sensibiliser les populations locales à la valeur de ces monuments et leur permettre d'en faire un outil de développement régional qui préserverait le milieu. Du point de vue archéologique, l'objectif est d'explorer comment les Mayas, à cette période tardive de leur développement, avant qu'ils n'aient été perturbés par les Européens, s'y prenaient pour nourrir une population qu'on évalue à environ deux millions de personnes dans un environnement très difficile à exploiter : au milieu de la forêt tropicale, marécageuse, un kilomètre carré assurait la subsistance de quelque 200 personnes (cette valeur est proche de celles des pays industrialisés modernes).

Topoxté, une forteresse flottante

On ignore généralement que certaines régions sont restées peuplées après la fin de la période classique. Dans ces régions, une transition vers la haute culture maya avait eu lieu plusieurs siècles avant la transition généralement admise : étaient déjà présents les mystérieux systèmes d'écriture et de calendrier, le système de construction des voûtes jusque-là inconnu en Amérique centrale, et les temples impressionnants érigés sur d'imposantes pyramides, qui marquaient le centre vital d'agglomérations urbaines

parfois gigantesques. Beaucoup de ces centres urbains et, notamment, la métropole Tikal semblent s'être considérablement dépeuplés vers les années 900 de notre ère ; d'autres ne furent plus habités que par des agriculteurs. Toutefois la forêt du Petén resta exploitée, et les populations bâtirent des villes fortifiées sur les îles des nombreux lacs présents dans cette région karstique. La plupart de ces villes n'existent plus qu'à l'état de ruines, et seule Topoxté, avec ses principaux monuments encore dressés, donne une idée de l'urbanisme de la période tardive.

Le sauvetage de cette forteresse lacustre fut très difficile, en particulier à cause des pluies : l'humidité et la végétation avaient dégradé les murs de pierre, à joints de chaux, et les tunnels creusés par les pillers de tombes avaient fragilisé les constructions.

Même les fouilles archéologiques antérieures avaient souvent endommagé les monuments : comme dans de nombreux sites d'Amérique centrale, la recherche des tombes enterrées avait été insuffisamment délicate, et les chantiers n'avaient même pas été refermés. En 1990, la pyramide principale de Topoxté était largement effondrée, et les murs du temple érigé à son sommet menaçaient de s'effondrer.

L'Institut guatémaltèque d'anthropologie et d'histoire consolida hâtivement les édifices menacés d'effondrement : il posa des toits en feuilles de palmier pour protéger les ruines des pluies torrentielles et

1. TEL UN PHARE BLANC, le temple élevé sur la pyramide principale de Yaxhá émerge de la forêt tropicale. Cet ensemble, qui date de la fin de la période classique de la culture maya, risquait de s'effondrer. Il a été restauré par des équipes allemandes et guatémaltèques, qui explorent simultanément de nombreux campements mayas, dans la jungle du Petén.