

Les physiologistes déclenchent ainsi, soit une synthèse permanente, soit un blocage, partiel ou total, de l'hormone. Si les mécanismes des réactions sont modifiés, l'hormone n'est plus active, ou n'est active que partiellement; dans certains cas, la réaction est permanente, même en l'absence de l'hormone.

Les hormones et autres régulateurs commandent le programme de croissance des cellules végétales. Trois faits valident cette affirmation : les réactions des plantes aux changements de l'environnement déclenchées par les hormones; les réactions, observées *in vitro*,

des cellules végétales à différentes phytohormones; l'action de certains phytopathogènes.

Face aux changements de leur environnement, les plantes ne peuvent fuir : aussi modifient-elles leur vitesse de croissance et même leur programme de développement. Une plante qui croît dans une zone où la végétation est touffue et la lumière rare tend à s'affiner et à augmenter les distances internodales de sa tige (les distances entre deux ramifications sur la tige). Lorsqu'elle atteint des zones plus lumineuses, les distances inter-

nodales diminuent. Selon l'environnement, le méristème apical continue à former de nouvelles feuilles et de nouvelles tiges, ou modifie son programme de développement pour se transformer en méristème floral. Cet accroissement des distances internodales et cette différenciation florale sont commandés par des hormones.

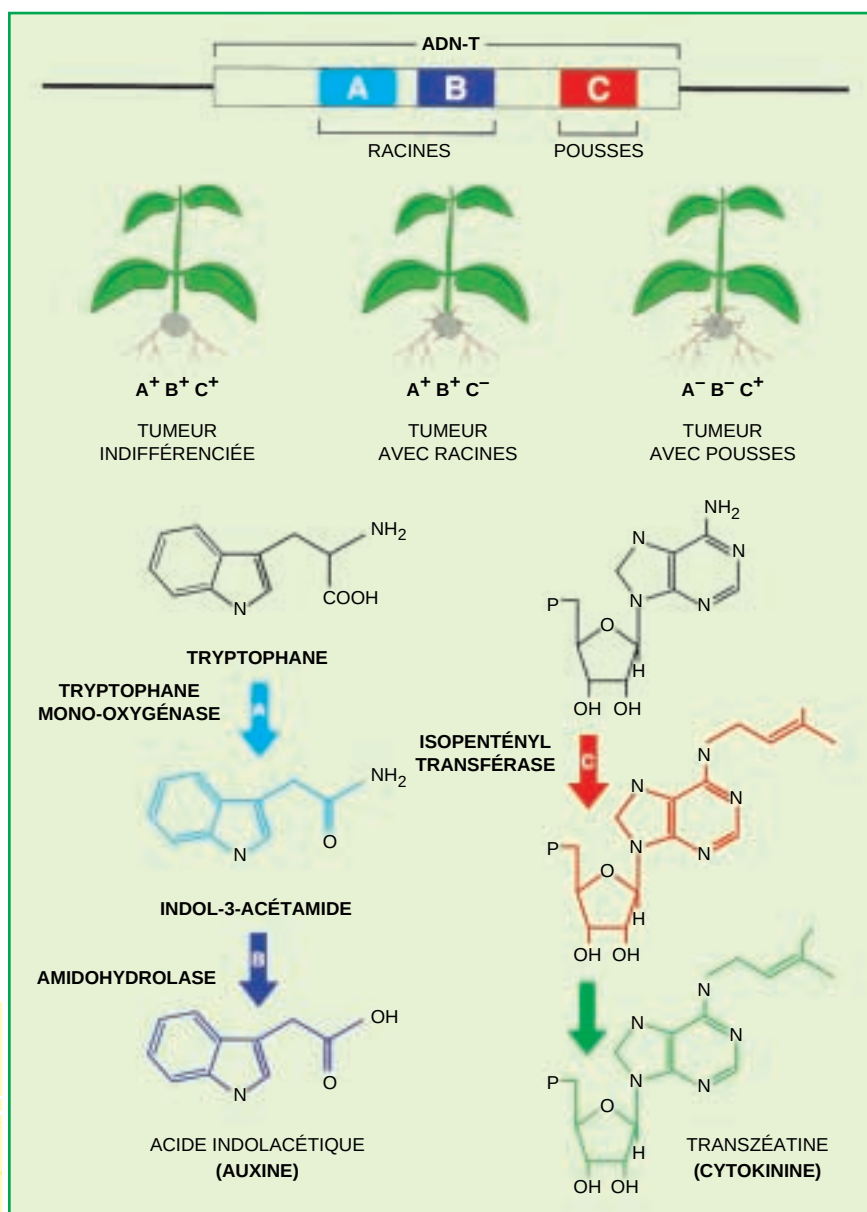
Les cellules des plantes sont dotées de la capacité spécifique de régénérer un organisme complet, même quand elles sont très différenciées. De surcroît, depuis les travaux novateurs de F. Skoog, de l'Université du Wisconsin, on sait que l'apport d'hormones ou de phytorégulateurs en quantités appropriées dans un milieu où croissent des cellules plus ou moins différenciées, déclenche la formation d'organes. Selon la proportion d'auxines et de cytokinines, les cellules donnent naissance à des tiges, à des racines ou à des tissus indifférenciés. Les proportions nécessaires diffèrent d'une espèce à l'autre : la régénération des plantes dépend des phytorégulateurs et des espèces sur lesquelles ils agissent.

Le transfert des gènes

L'homme n'a pas été le premier à modifier le développement et la différenciation des plantes en perturbant les concentrations hormonales. Des millions d'années avant que l'homme ne découvre l'existence des hormones, certains pathogènes avaient développé des stratégies ingénieuses. Ainsi, lorsque la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* infecte les plantes qui y sont sensibles, elle déclenche des tumeurs en incorporant de l'ADN-T (ADN transféré) dans certains chromosomes de la plante; ce fragment est incorporé dans le plasmide bactérien inducteur de tumeurs.

Des expériences de mutagenèse menées sur l'ADN transféré ont démontré que trois gènes, A, B et C, déterminent le phénotype de la tumeur. Selon le gène qui a été muté, on obtient une tumeur indifférenciée ($a^+ b^+ c^+$), une tumeur avec des pousses ($a^- b^- c^+$) ou une tumeur avec des racines ($a^+ b^+ c^-$). Des gènes contrôlent la production des enzymes actives dans la biosynthèse des auxines et des cytokinines, et les concentrations de ces hormones déterminent le phénotype de la tumeur.

Les biologistes utilisent la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* pour transférer de l'ADN dans des plantes qui y



Antonio Granell et Juan Carbonell

2. INFECTION D'UNE PLANTE par *Agrobacterium tumefaciens*. L'organisme transfère aux cellules végétales un fragment d'ADN (l'ADN-T) contenu dans le plasmide bactérien inducteur de tumeurs. L'ADN transféré est porteur de gènes (A, B et C) qui permettent la synthèse d'acide indolacétique (auxine) et d'isopentényladénine, précurseur de la transzéatine (cytokinine), qui sont les hormones responsables du phénotype de la tumeur. Dans cette expérience, *Agrobacterium* conserve sa capacité de produire des tumeurs et, selon le gène qui est muté, les tumeurs ont des phénotypes différents.

sont sensibles, pour y introduire des gènes étrangers et créer des plantes transgéniques. Pour cela, ils emploient des plasmides «désarmés», c'est-à-dire des bactéries qui conservent les gènes permettant l'introduction d'ADN dans la plante, mais où les gènes pathogènes ont été remplacés par les gènes que l'on veut introduire. Les plantes transgéniques sont en tous points identiques aux plantes normales, hormis le caractère déterminé par le gène introduit. On a appliqué cette stratégie pour incorporer divers types de gènes, y compris ceux qui modifient la biosynthèse des hormones.

On détermine le mécanisme d'action d'une hormone par diverses stratégies expérimentales. On peut, par exemple, étudier le lien entre l'augmentation ou la diminution de la concentration endogène d'une hormone et un mécanisme physiologique particulier tel que la croissance ou un changement métabolique. Une deuxième stratégie consiste à inhiber la production d'une hormone, à observer quel mécanisme est perturbé, puis à tenter de rétablir le comportement normal grâce à l'apport exogène de cette hormone.

Avec la première stratégie, les botanistes ont étudié pourquoi une faible concentration en gibbérellines entraîne une distance internodale quasi nulle chez les pois nains. Que se passe-t-il quand nous ajoutons de l'acide gibbérellique? Les distances internodales augmentent et atteignent celles des plantes normales. Néanmoins, il faut garder à l'esprit que, si de nombreux mécanismes sont perturbés par l'apport exogène d'hormones, les effets observés ne permettent pas toujours de déduire que l'hormone est présente à l'état naturel, et qu'elle joue un rôle physiologique.

La stratégie de l'inhibition

La synthèse hormonale a d'abord été inhibée expérimentalement par voie chimique, mais les progrès des techniques de génie génétique

permettent de nouvelles stratégies pour bloquer cette synthèse. Pour ce faire, on introduit un gène qui code une enzyme de la biosynthèse d'une hormone, mais cet ADN est tel qu'il produit un ARN antisens, complémentaire de l'ARN messager. L'ARN antisens muselle l'ARN messager et la synthèse de l'hormone est inhibée.

Dans ce contexte, les chercheurs du laboratoire de A. Theologis, à Albany (États-Unis), ont introduit dans des plants de tomate un gène chimérique conçu pour bloquer la synthèse de l'éthylène (on bloque la synthèse de l'ACC synthase, l'enzyme qui synthétise l'acide amino- cyclopropane carboxylique, un métabolite précurseur de l'éthylène). Le gène utilisé est constitué de deux éléments : le promoteur

35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (dont la fonction est d'assurer l'expression du gène) et le segment de l'ADN de tomate, qui est transcrit en ARN antisens (l'ARN antisens bloque l'ARN messager de l'ACC synthase et inhibe la synthèse de l'enzyme). Le gène s'insère dans l'ADN-T d'un plasmide bactérien inducteur de tumeurs désactivé, ce qui permet la transformation stable des plants de tomate.

Les tomates transgéniques synthétisent moins d'éthylène. Pourquoi? Parce que l'ARN antisens produit par l'ADN étranger se lie à l'ARN messager de l'ACC synthase, et la production de l'enzyme diminue. Sans précurseur, la production d'éthylène diminue et le fruit ne mûrit pas, du moins pendant la période normale. En revanche, un apport d'éthylène déclenche la maturation. On en a déduit que l'absence de maturation est due à l'absence d'éthylène endogène, et non à d'autres facteurs qui auraient pu être perturbés au cours de l'expérience.

De même, D. Grierson, de l'Université de Nottingham, a bloqué la synthèse de l'ACC oxydase, l'enzyme qui catalyse la formation d'éthylène à partir de l'acide aminocyclopropane carboxylique. Ce blocage résulte lui aussi de l'introduction d'un gène antisens : la synthèse d'éthylène est inhibée, tandis que le précurseur ACC s'accumule.

On sait introduire des gènes qui codent des enzymes éliminant certains précurseurs de la synthèse d'une hormone : H. Klee et ses collègues, de la Société *Monsanto*, ont introduit dans des plants de tomate le gène qui code l'ACC désaminase ; cette enzyme, qui catalyse la dégradation de l'ACC en acide α -cétobutyrique, n'est pas présente dans la tomate à l'état naturel, mais la plante transformée la synthétise.

Le blocage de la synthèse de l'éthylène par l'une des procédures décrites empêche la maturation des tomates, ce qui démontre le rôle inducteur de l'hormone et la possibilité de contrôler la maturation par des techniques biologiques.



3. UNE ABSENCE DE GIBBÉRELLINES chez les plantes mutantes de pois *nana* provoque leur nanisme (à gauche). Chez les mutants *nana*, la synthèse de la GA_{12} -aldéhyde est bloquée et notamment celle de GA_1 , la gibbérelline qui déclenche l'augmentation des distances internodales. Quand on ajoute à des plantes naines de l'acide gibbérellique (GA_3), une autre gibbérelline active, les distances internodales augmentent, de sorte que les plantes *nana* traitées (au centre) atteignent la taille des plantes normales (à droite).