

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).

La biosynthèse de l'éthylène est assez simple, et l'on connaît déjà bon nombre des éléments qui interviennent dans sa régulation. Il n'en est pas de même pour les autres hormones, notamment pour les gibbérellines, une superfamille de plus de 90 composants. L'étude de mutants de maïs par B. Phinney et son groupe de l'Université de Californie, et les travaux menés sur le riz et sur les pois ont permis d'établir que seules quelques gibbérellines (principalement GA₁ et GA₃) ont un rôle d'hormones végétales.

Toutefois, la biosynthèse de la majorité des hormones reste à découvrir. Le nombre élevé de conjugués (des hormones agissant conjointement avec d'autres métabolites) rend difficile l'identification des hormones qui jouent un rôle direct sur le développement des plantes, et des molécules qui sont seulement des précurseurs d'hormones. En outre, il reste à identifier les enzymes régulatrices et, en définitive, les voies de synthèse *in vivo*. Ces formes conjuguées sont nombreuses, tout comme celles qui sont transportées d'une zone à l'autre de la plante.

Parfois, c'est le précurseur de l'hormone active qui migre (c'est le cas de l'ACC). Les conjugués et les précurseurs sont-ils les messagers intercellulaires les plus rapides et les plus nombreux qui permettent à la plante de s'adapter aux changements de l'environnement, ou cette adaptation est-elle assurée par les hormones végétales elles-mêmes?

Malgré la variété des tailles et des structures (de l'éthylène, un gaz simple, aux gibbérellines ou aux cytokinines à la structure complexe), toutes les hormones végétales ont des masses molaires faibles et une structure rigide. Contrairement aux protéines et aux acides nucléiques, les hormones ne traitent pas l'information elles-mêmes : le signal véhiculé par les hormones est reconnu, traité et transmis par les cellules cibles.

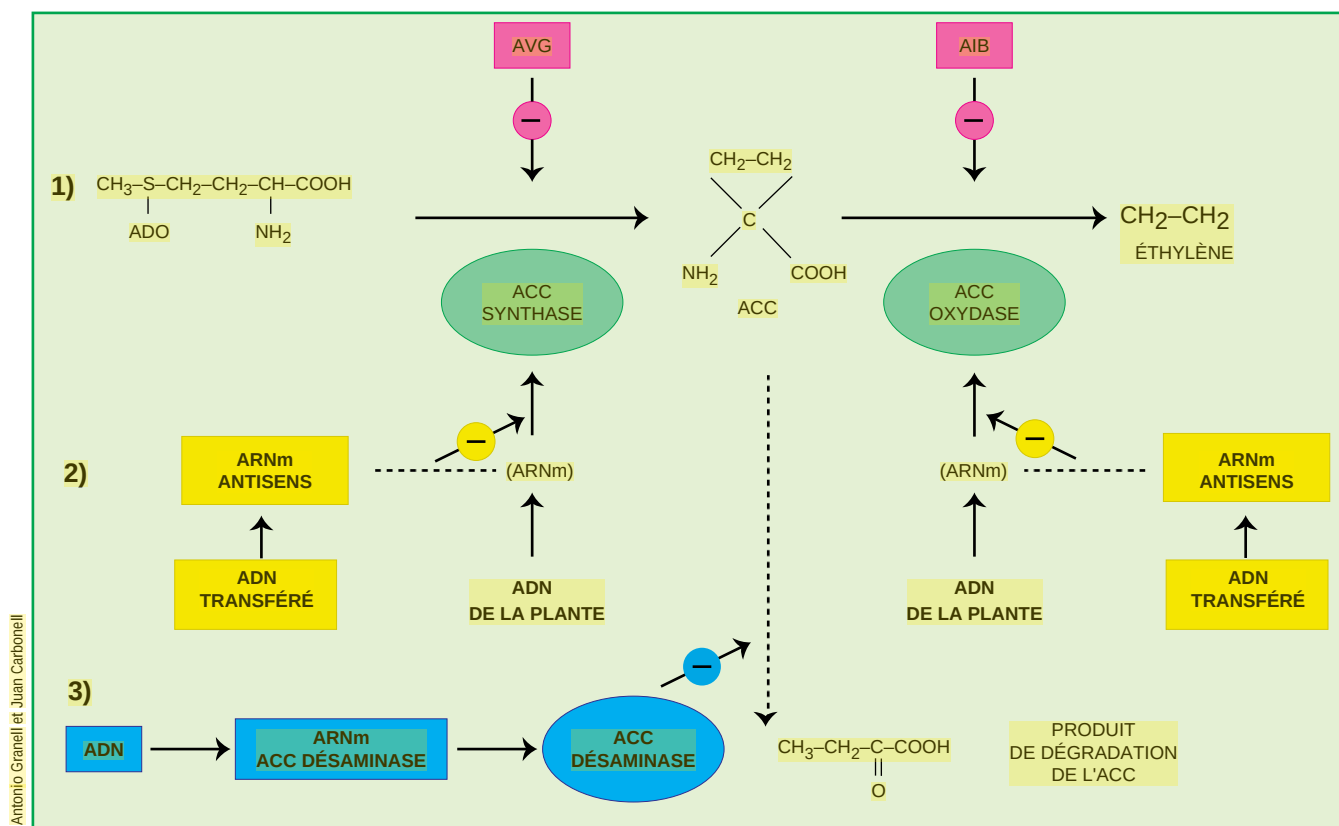
Les hormones animales interagissent avec un des récepteurs qui déclenchent la transduction du signal. Le signal reconnu, l'hormone active la chaîne des réactions aboutissant à la réponse physiologique. Différentes cellules peuvent transformer un même

signal en différentes informations, selon la batterie de récepteurs disponibles, leur localisation et la fonction qu'ils remplissent à un moment donné.

Hormones et récepteurs

L'action hormonale dépend de la concentration de l'hormone, de la présence et des caractéristiques de ses récepteurs, et des éléments de la chaîne de transduction du signal. Le complexe hormone-récepteur, c'est-à-dire le récepteur activé, est le premier maillon de la chaîne de transduction du signal qui déclenche la première réaction, laquelle active une série de changements qui constituent la réponse physiologique.

On utilise deux stratégies pour étudier l'action hormonale chez les plantes. Premièrement, la recherche de récepteurs et d'éléments de transduction du signal hormonal ; pour cela, on identifie les protéines qui s'unissent à des hormones, ainsi que les gènes qui, lorsqu'ils sont mutés, perturbent l'action des hormones. Deuxièmement, l'analyse des gènes dont l'expression



4. L'INHIBITION DE LA BIOSYNTHÈSE de l'éthylène peut être obtenue de diverses façons : 1) par traitement avec des substances chimiques, telles que l'amino-éthoxyvinylglycine (AVG) et l'acide α-amino-isobutyrique (AIB) ; 2) en bloquant l'expression des gènes de la biosynthèse de l'éthylène par des gènes antisens de

l'ACC synthase ou de l'ACC oxydase qui inhibent la production de ces enzymes indispensables à la synthèse de l'éthylène ; 3) on peut aussi introduire dans la plante le gène codant l'ACC désaminase, l'enzyme qui dégrade le précurseur de l'éthylène, l'acide amino-cyclopropane carboxylique (ACC).

On a identifié les récepteurs hormonaux en isolant des protéines qui se lient à des hormones marquées. Pour localiser les récepteurs, on a également recours à d'autres molécules : des dérivés hormonaux modifiés par voie chimique, des dérivés photosensibles qui s'ancrent au récepteur lorsque leur structure est modifiée par la lumière et des anticorps anti-idiotypes (des molécules dont la structure est analogue à celle du complexe hormonal ; on les prépare en utilisant des anticorps dirigés contre le complexe hormonal et qui jouent alors le rôle d'antigènes).

Les anticorps préparés contre l'ABP bloquent l'hyperpolarisation membranaire des protoplastes du tabac déclenchée par des auxines. En outre, un peptide (la région carboxylique de l'ABP) modifie les canaux qui régulent l'entrée et la sortie des ions potassium à travers la membrane cellulaire. Ces modifications identiques à celles que produisent des concentrations élevées d'auxine, surviennent en quelques minutes et rendent le cytoplasme basique. On en déduit que l'ABP serait responsable de la réponse primaire à l'auxine, et que l'ABP est peut-être le récepteur des auxines.

Chez les plantes *Arabidopsis* poussant dans l'obscurité, l'éthylène déclenche une triple réaction : une inhibition de la croissance de l'hypocotyle (la partie de l'axe embryonnaire qui se trouve sous les cotylédons, et qui



© POUR LA SCIENCE - N° 228 OCTOBRE 1996