

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.

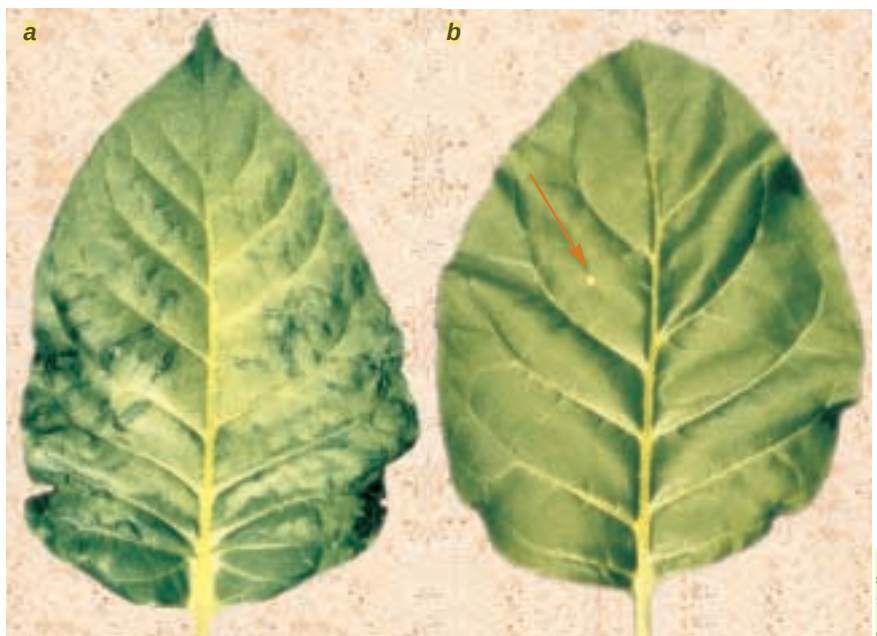


les premières cellules végétales infectées meurent. La mort cellulaire hypersensible est une forme de mort cellulaire programmée.

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

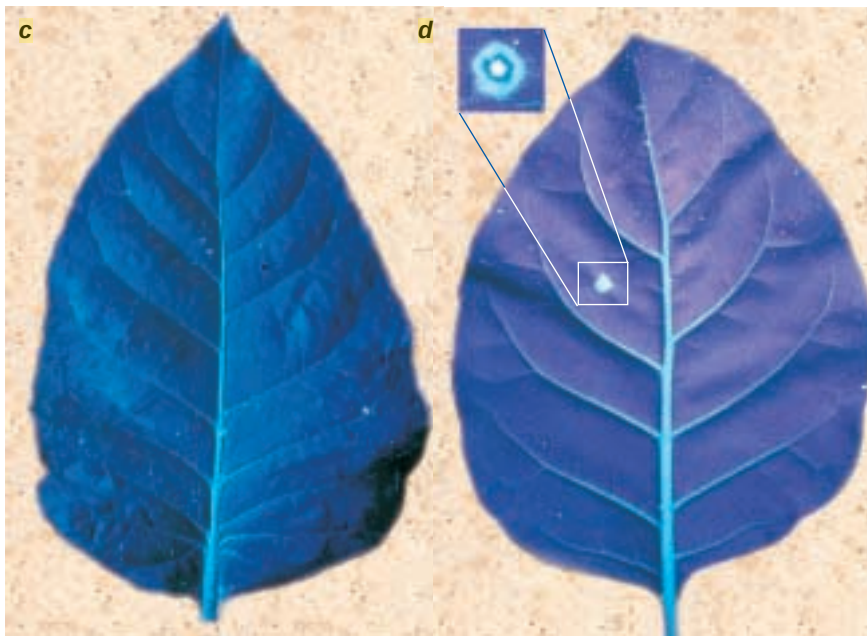
De quelles armes moléculaires les plantes disposent-elles pour se protéger ? De nombreuses équipes ont cherché à identifier les modifications métaboliques qui, dans la plante, participent à la lutte contre l'infection. Toutes les réactions d'espèces végétales très diverses se ressemblent, et l'on retrouve 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 pathogenèse). 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