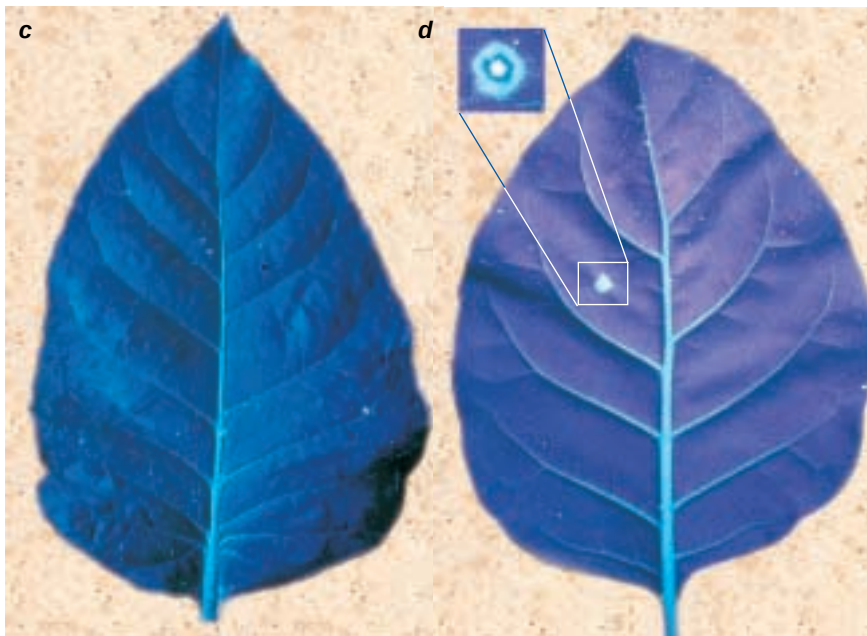




les feuilles en lumière visible, on utilise un rayonnement ultraviolet, on constate que la feuille de la plante sensible est uniformément bleue (c), tandis que celle de la plante résistante (d) qui a subi l'attaque virale présente une tache claire due à des molécules de défense fluorescentes : la plante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

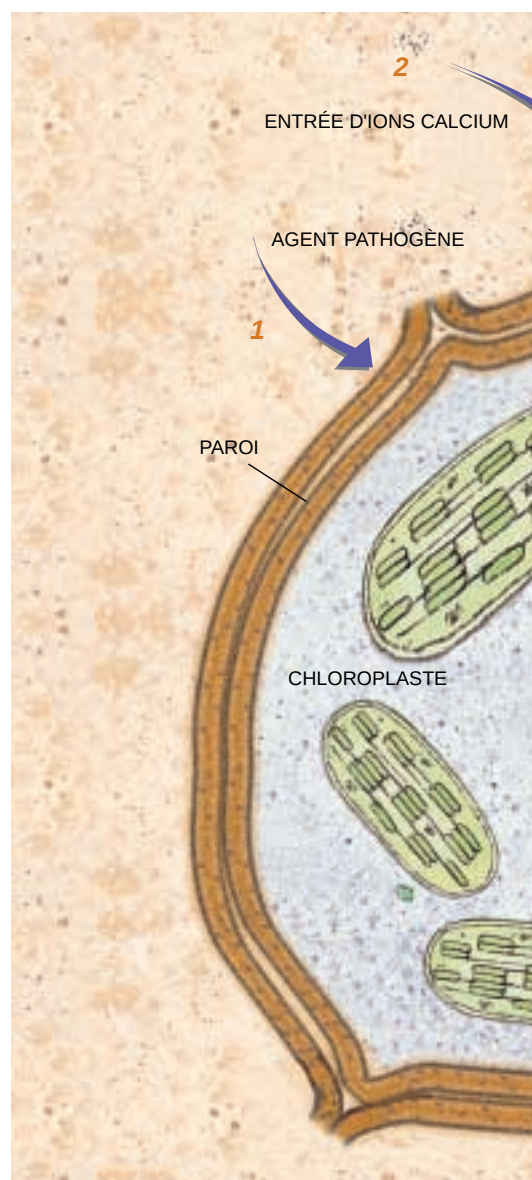
Le stress oxydatif

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-