

LE MONOXYDE D'AZOTE, UN ACTEUR CLÉ DE LA RÉSISTANCE DES PLANTES AUX MICRO-ORGANISMES PATHOGÈNES

par David **Wendehenne**¹

Dans leur environnement, les plantes sont confrontées à des micro-organismes pathogènes tels que des virus, des bactéries, des oomycètes ou encore des champignons. Toutefois, bien que ne disposant pas d'un système immunitaire *sensu stricto* susceptible de produire des cellules spécialisées dans la reconnaissance et l'élimination des pathogènes, les plantes résistent efficacement à leurs agresseurs et développent exceptionnellement des symptômes sévères de maladies. Ce constat s'explique essentiellement par une inadéquation fondamentale entre la plupart des espèces végétales et la plupart des micro-organismes. En particulier, les structures morphologiques préexistantes de la plante (cuticule, parois), de même que des substances toxiques préformées à sa surface, sont suffisantes à empêcher la pénétration de la plupart des micro-organismes. Lorsqu'un agent pathogène potentiel franchit ces barrières protectrices constitutives et se trouve dans des conditions favorables de développement, un dialogue moléculaire s'établit, sous-tendant le devenir de la relation entre les deux protagonistes. Généralement, l'agent infectieux est rapidement bloqué dans son développement, l'interaction est dite incompatible et la plante est résistante. Plus rarement, le pathogène est capable de coloniser la plante, celle-ci est sensible (ou tolérante) et la relation est dite compatible. Ce dernier cas de figure peut occasionner des pertes notables en agriculture estimées de 10 à 30% suivant le type de culture et les continents (Esquerré-Tugayé, 2001).

L'arrêt du développement de l'agent infectieux, observé dans l'interaction incompatible, est spécifié par la reconnaissance, par les cellules végétales, de molécules appelées éliciteurs issues des micro-organismes pathogènes. Les éliciteurs sont de nature chimique variée et incluent des oligomères de chitine, de pectine, des glucanes, des (glyco)protéines et des lipides. De nombreuses études soutiennent un modèle suivant lequel les éliciteurs sont reconnus par des récepteurs membranaires ou cytosoliques des cellules de la plante. Cette interaction, hautement spécifique, active des voies de signalisation cellulaire qui convergent vers l'induction de gènes désignés "gènes de défense". Ces gènes codent des protéines PR pour "Pathogenesis Related", des protéines relatives au stress oxydatif, à la signalisation cellulaire, au métabolisme, au renforcement des parois cellulaires, à la photosynthèse ou encore des protéines n'ayant pas de fonctions attribuées. Certains des produits, directs ou indirects, de ces gènes ont des activités antimicrobiennes, par exemple certaines protéines PR ou les phytoalexines issues du métabolisme secondaire (Dangl and Jones, 2001). D'autres, comme l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène agissent notamment comme molécules de signalisation et participent à l'induction d'une résistance dans les régions non infectées de la plante. Cette résistance, dite systémique, confère une protection efficace vis-à-vis d'un large spectre de micro-organismes pathogènes pendant plusieurs semaines (Ryals *et al.*, 1996).

L'étude de ces voies de signalisation a connu un véritable essor cette dernière décennie, en particulier grâce à l'utilisation des outils biochimiques, pharmacologiques et génétiques (Dangl and Jones, 2001). Les événements biochimiques observés dans les premières minutes de l'élicitation sont la mobilisation de seconds messagers dont le Ca²⁺ libre, l'activation de kinases, la phosphorylation/déphosphorylation de protéines, une dépolarisation de la membrane plasmique, l'activation de canaux perméables aux ions (influx de Ca²⁺, efflux de Cl⁻ et de K⁺), l'activation de

¹ UMR INRA 1088/CNRS 5184/Université de Bourgogne, Plante-Microbe-Environnement, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon Cedex

phospholipases et la production de formes actives de l'oxygène (FAO). La compréhension des enchaînements et des régulations croisées entre ces événements, de même que l'identification des réponses physiologiques qu'ils contrôlent, constituent aujourd'hui un défi majeur.

Récemment, diverses équipes de recherche se sont intéressées au rôle potentiel du monoxyde d'azote dans la résistance des plantes aux micro-organismes pathogènes (Wendehenne *et al.*, 2004). Chez les animaux, le monoxyde d'azote (NO) est un médiateur physiologique important dans des fonctions aussi diverses que le contrôle de la pression sanguine, la neurotransmission, l'apoptose et la défense de l'organisme. Ce radical exerce ses fonctions *via* la modification post-traductionnelle de protéines possédant des métaux de transition, des résidus cystéines ou tyrosines stratégiques (Stamler *et al.*, 1992). Ce processus, appelé nitrosation ou nitration suivant le mécanisme mis en jeu, est associé à la forte réactivité de NO dans les contextes biologiques et contribue à l'activation ou à l'inhibition des protéines concernées.

Chez les plantes, les premières études ont montré que les cellules végétales produisent NO lorsqu'elles sont confrontées à l'attaque de micro-organismes potentiellement pathogènes ou par des éliciteurs de réactions de défense. Il a été démontré que NO est un acteur essentiel de la résistance des plantes aux micro-organismes pathogènes. En effet, suivant les modèles d'études, NO est nécessaire :

- au développement de la réponse hypersensible, une réaction violente de la plante manifestée par le développement de lésions nécrotiques et qui, d'après certains auteurs, permettrait de confiner le pathogène à son site de pénétration.
- à l'expression de gènes de défense variés codant des protéines PR, des protéines impliquées dans la synthèse de phytoalexines ou encore dans la protection contre des stress oxydatifs
- à la synthèse d'acide salicylique et, en conséquence, à la mise en place de la réponse systémique.

Un enjeu important de la recherche dans le domaine de l'étude des interactions plantes/micro-organisme est de décortiquer les processus par lesquels NO conduit à ces réponses de défense. De façon remarquable, les premières données publiées montrent que NO semble agir *via* des mécanismes similaires à ceux utilisés par les mammifères (Wendehenne *et al.*, 2004). En effet, deux des principaux médiateurs des effets moléculaires de NO chez les plantes sont le GMP cyclique (GMPc) et l'ADP ribose cyclique (ADPRc), des seconds messagers produits en réponse à NO dans de nombreux types cellulaires animaux. De même, on recense des phénomènes de couplage entre NO et les voies de signalisation impliquant des protéines kinases. Enfin, une étroite connexion entre NO et le second messenger Ca^{2+} a été mise en lumière. Plus précisément, il a été démontré qu'en réponse à des éliciteurs de réactions de défense, une des fonctions de NO synthétisé par les cellules végétales est d'activer des canaux calciques intracellulaires dont le fonctionnement contribue à une augmentation transitoire de la concentration en Ca^{2+} libre cytosolique. Les mécanismes par lesquels NO active ces canaux sont à peine identifiés. Toutefois, les premières données expérimentales indiquent que NO pourrait agir sur ces derniers directement par nitrosation ou nitration, ou indirectement *via* des voies de signalisation impliquant des kinases et/ou les seconds messagers ADPRc et GMPc. Il est vraisemblable que le Ca^{2+} libre mobilisé en réponse à un mécanisme NO-dépendant initie des voies de signalisation conduisant à l'expression de gènes de défense et/ou à la réponse hypersensible. La mobilisation du Ca^{2+} libre par NO constitue donc un remarquable processus d'amplification de signal.

Au plan des applications, la compréhension à l'échelle moléculaire des fonctions de NO, et donc des mécanismes mis en jeu par la plante pour résister à un agresseur, doit déboucher sur des moyens de lutte pouvant être complémentaires à la lutte chimique. Cette stratégie est actuellement retenue par les firmes de l'industrie phytosanitaire comme alternative aux plantes transgéniques non acceptées par la société. De plus, il semble que les plantes répondent à différents stress biotiques (pathogènes) ou abiotiques (sécheresse, gel, salinité, métaux, etc.) par des mécanismes en partie

communs incluant une production de NO. La compréhension du rôle de NO dans la résistance aux stress biotiques pourrait donc apporter des solutions à la lutte contre d'autres stress.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) DANGL J.L. et JONES J.D., 2001. – Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* **411**, 826-833.
- (2) ESQUERRÉ-TUGAYÉ M.T., 2001. – Plantes et agents pathogènes, une liaison raffinée et dangereuse : l'exemple des champignons. *C.R. Acad. Sci. Paris* **324**, 899-903.
- (3) RYALS J.A., NEUENSCHWANDER U.H., WILLITS M.G., MOLINA A., STEINER H.Y. et HUNT M.D., 1996. – Systemic acquired resistance. *Plant Cell* **8**, 1809-1819.
- (4) STAMLER J.S., LAMAS S. et FANG F.C., 2001. – Nitrosylation : the prototypic redox-based signalling mechanism. *Cell* **106**, 675-683.
- (5) WENDEHENNE D., DURNER J. et KLESSIG D.F., 2004. – Nitric oxide : a new player in plant signaling and defence responses. *Curr. Opin. Plant Sci.* **7**, 449-455.

(Reçu le 10 janvier 2005)