

## **Biologie moléculaire des plantes**

M. Joseph SCHELL, professeur

L'accélération qui stimule actuellement tous les domaines de la biologie touche aussi les sciences végétales et lui a donné un nouvel essor. Le moteur principal de ce développement rapide est indubitablement l'intégration des méthodes et des concepts de la biologie moléculaire et cellulaire avec ceux plus traditionnels, de la physiologie, de la biochimie, de la biophysique, de la génétique et de l'écologie. D'autre part, la science et la recherche fondamentale ont un rôle crucial à jouer pour aider à trouver des solutions aux grands problèmes avec lesquels les sociétés humaines sont et seront de plus en plus confrontées.

En effet, il nous faudra de solides connaissances scientifiques pour pouvoir à l'avenir espérer disposer d'une agriculture qui devra non seulement satisfaire nos besoins en qualité et diversité de produits agricoles mais aussi être très productive tout en étant respectueuse des ressources naturelles et de l'environnement. C'est pour cette raison que nous voulons aussi envisager le rôle que peuvent jouer les sciences végétales — par la voie de la biotechnologie — pour permettre à des pays développés comme les nôtres de pratiquer une agriculture plus évoluée et aussi pour contribuer à la solution des énormes problèmes auxquels se trouvent confrontés certains pays en voie de développement.

L'intérêt de l'ingénierie génétique végétale est de disposer d'un nouveau et puissant moyen pour analyser, dans le détail moléculaire, les mécanismes qui régissent le comportement des végétaux et pour pouvoir donner à l'avenir à nos agriculteurs des plantes, dites améliorées, qui auront des propriétés spécifiques mieux appropriées aux besoins de l'agriculture et à la sauvegarde du milieu et des ressources naturelles.

*Exemples d'études donnant accès à de nouveaux concepts et de nouvelles approches expérimentales*

1. La maladie des plantes connue sous le nom de « Galle du Collet », ou « Crown gall », est caractérisée par la formation de tumeurs végétales cancéreuses, qui sont la conséquence directe d'un transfert de matériel génétique à partir de la bactérie pathogène *Agrobacterium tumefaciens* vers un grand nombre d'espèces végétales différentes. Par l'introduction, dans le patrimoine génétique des cellules végétales, de nouveaux gènes, ces bactéries « forcent » les cellules végétales infectées à proliférer et à produire des substances organiques inhabituelles pour la plante que ses bactéries peuvent ensuite utiliser comme nourriture. Il s'agit donc, bel et bien, d'une « colonisation génétique » et d'un exemple d'ingénierie génétique naturelle basé sur un transfert non-conventionnel de matériel héréditaire, par et au profit d'un type d'organisme (la bactérie) et aux dépens d'un autre type d'organisme (la plante).

L'étude détaillée des mécanismes moléculaires qui sont responsables de la formation de la « Galle du Collet » par *Agrobacterium tumefaciens* et aussi du « Hairy root » par *Agrobacterium rhizogenes* nous a fait découvrir il y a quelques années des phénomènes qui, très vraisemblablement, jouent un rôle aussi dans le contrôle du développement de la plante normale. Ces résultats ont d'abord confirmé que des facteurs de croissance (« phyto-hormones »), tels que les auxines et les kinétines, jouent un rôle prédominant dans le contrôle de la prolifération ainsi que dans celui de la différenciation d'organes végétaux. L'étude de ces mécanismes a en plus permis de démontrer qu'un des mécanismes par lesquels les végétaux peuvent moduler l'activité de facteurs de croissance est la production de substances antagonistes de phytohormones. (Des molécules non-actives, structurellement apparentées aux facteurs de croissance, capables de se lier aux molécules réceptrices et d'empêcher ainsi que les facteurs de croissance actifs exercent leur effet.) Cette étude a également démontré que des formes conjuguées, et de ce fait inactives, de facteurs de croissance (par exemple des conjugaisons avec des sucres ou des acides aminés) servent comme source intracellulaire à partir de laquelle des facteurs actifs peuvent être produits par simple hydrolyse. La conclusion selon laquelle la libération de facteurs actifs au départ de conjugués inactifs, telle que celle contrôlée par des gènes portés par le segment T-DNA de la bactérie *A. rhizogenes*, peut jouer aussi un rôle dans le contrôle de la croissance de plantes normales, non transformées, est renforcée par la découverte, faite à Cologne en 1992, d'un gène à fonction similaire actif dans le germe du maïs.

Il s'est avéré relativement aisé de développer le système naturel d'*Agrobacterium* comme vecteur expérimental de gènes en remplaçant dans la partie transférable (T-DNA) du plasmide Ti les gènes bactériens responsables de la formation de tumeurs et ceux responsables de la synthèse d'opines, par des gènes

(chimériques) étrangers codant pour des fonctions dont le chercheur ou l'améliorateur variétal peut tirer parti.

2. Nous savons aujourd'hui que certains types de plantes, des légumineuses, peuvent être infectées par des bactéries du sol du type *Rhizobium* et que, sur leurs racines, se forment alors des « nodules ». Dans ces nodules se développe une symbiose : la plante fournit des hydrates de carbone comme source d'énergie et de carbone, tandis que les bactéries dans les nodules — qui prennent alors une forme nouvelle, appelée « bactéroïde » —, emploient cette énergie pour leur croissance et aussi pour fixer l'azote atmosphérique afin de satisfaire ainsi non seulement leurs propres besoins en azote organique mais aussi — du moins en partie — les besoins des plantes avec lesquelles elles vivent en symbiose. Cette symbiose permet donc d'enrichir les sols en engrais organiques azotés. Comme l'agriculture moderne intensive demande des traitements importants du sol par des engrais azotés produits par synthèse chimique et que ces traitements, souvent excessifs, sont la cause d'une pollution sérieuse de l'environnement, on comprendra aisément qu'il serait très souhaitable de connaître les facteurs qui permettent aux plantes légumineuses de réaliser cette symbiose particulièrement bénéfique de notre point de vue, dans l'espoir de pouvoir un jour étendre cette symbiose à d'autres grandes cultures végétales et de réduire ainsi la nécessité de l'usage d'engrais azotés. Le développement de nodules racinaires est induit en premier lieu par des signaux chimiques synthétisés et libérés par les bactéries symbiotiques. On peut appeler ces signaux des « facteurs de nodulation ». Il s'agit en fait d'une nouvelle classe de facteurs de croissance dont la structure assez inattendue a été établie par l'équipe du Professeur Jean Denarié de Toulouse. Le fait que ces facteurs de croissance ne servent pas que la symbiose légumineuses — *Rhizobium*, mais jouent aussi un rôle dans la régulation du développement de plantes non-légumineuses, est remarquable et prometteur. Mes collaborateurs de l'Institut Max Planck à Cologne ont réussi à produire en laboratoire des facteurs de nodulation synthétiques capables de stimuler la division cellulaire de cellules dérivées de plantes non-légumineuses à des concentrations extrêmement basses. Il est donc possible de synthétiser en laboratoire des « facteurs de nodulation » parfaitement actifs sur plantes non-légumineuses et il faut espérer que l'on pourra un jour par ingénierie génétique donner à certaines cultures de plantes non-légumineuses la capacité de s'engager dans une symbiose productive avec des bactéries du sol capables de fixer l'azote atmosphérique.

L'étude des différentes interactions plantes/bactéries a encore renforcé notre intérêt à mieux comprendre les réactions typiquement végétales qui doivent protéger les végétaux de l'attaque d'organismes pathogènes, et aussi les mécanismes moléculaires qui sont responsables du contrôle de la croissance et de la différenciation des plantes. Ces deux sujets, que nous comptons développer en détail dans nos cours, ont quelques points en commun surtout au niveau de la perception et du relais de signaux. L'étude de ces phénomènes nous paraît d'un grand intérêt, d'abord parce qu'il doit s'agir de mécanismes susceptibles d'être typiques

pour les plantes et devrait nous permettre de découvrir des principes biologiques nouveaux, et ensuite parce que dans les deux cas les réponses que nous espérons trouver pourraient suggérer des applications importantes pour l'agriculture et la biotechnologie végétale. Notre but est d'élucider les réseaux de communication répondant à des signaux chimiques qui reconnaissent, dans certains types de cellules, des récepteurs spécifiques. Ces récepteurs déclenchent des chaînes de relais de signalisation qui communiquent l'effet des signaux à des cibles intracellulaires.

Chaque relais de signalisation doit aboutir, en fin de compte, à la régulation de l'activité de certains programmes génétiques cibles. En conséquence si, par mutation, on devait activer l'un ou l'autre de ces programmes cibles de manière permanente, ces mutants seraient caractérisés par le fait qu'ils peuvent se passer du signal pour la mise en action d'une partie de leur programme. Un collaborateur de notre laboratoire de Cologne a réussi à obtenir de tels mutants et, comme l'insertion pouvait servir d'étiquette moléculaire, il était relativement aisé d'isoler par clonage le gène muté et de vérifier par transgénose que ce gène activé était bien capable de stimuler la division cellulaire en l'absence d'auxines. Au moins six classes de gènes différents, dont l'activation permettait la division cellulaire en l'absence d'auxines, furent ainsi obtenus. Jusqu'à présent, deux de ces gènes ont été caractérisés. L'un code vraisemblablement pour un type encore inconnu de facteur de transcription. L'autre gène code pour un co-transporteur d'ions. Un gène similaire à ce dernier avait été préalablement trouvé chez le requin. Nous avons pu démontrer que ce gène de requin, lorsqu'il est exprimé dans une cellule de tabac, permet à celle-ci de se passer d'auxines pour sa division cellulaire !

Souhaitant favoriser un dialogue et une collaboration internationale créative, notre collègue le Prof. Michel Caboche, responsable du Laboratoire de Biologie Cellulaire à l'INRA de Versailles s'associe à nous pour créer à Versailles un laboratoire dans lequel une collaboration Collège de France, INRA et Institut Max Planck für Züchtungsforschung pourra se concrétiser.

La dynamique du progrès en sciences végétales justifie un certain optimisme quant au rôle que pourrait jouer la science pour trouver des solutions aux problèmes que posent à l'agriculture le développement anarchique de la démographie, surtout dans le tiers monde, ainsi que pour répondre à l'absolue et pressante nécessité globale de rendre compatible une agriculture productive avec la sauvegarde de l'environnement et des ressources naturelles. En plus de devoir satisfaire les besoins en nourriture de l'humanité et de ses animaux, l'agriculture sera appelée à devoir nous fournir aussi des matières premières renouvelables et de l'énergie pour nos activités domestiques et industrielles et peut-être même des produits essentiels pour la santé humaine. En fait le plus grand danger qui menace l'environnement est une agriculture qui ne serait pas capable de satisfaire ces besoins.

Et pourtant la biotechnologie fait peur, non seulement à ceux qui sont opposés par principe à la mise en œuvre de moyens technologiques pour résoudre des problèmes causés par le monde industriel, mais aussi à ceux qui pensent que des organismes transgéniques peuvent être dangereux, parce qu'ils seraient susceptibles d'échapper à notre contrôle et parce qu'ils pourraient avoir des propriétés néfastes non soupçonnées. Cette peur est si forte qu'elle freine aujourd'hui considérablement la recherche nécessaire et surtout le développement d'une technologie cependant à faible risque comme en témoignent plus de six mille essais en champ. Alors donc que certains considèrent cette technologie comme dangereuse, nous affirmons que c'est elle qui doit nous aider à combattre les dangers qui menacent nos ressources naturelles et notre environnement.

J. S.