



Virologie



MENU

Mécanismes de résistance aux virus dans les plantes transgéniques

Volume 4, numéro 1, Janvier - Février 2000

[Imprimer](#)

[Ajouter à mes favoris](#)

[Citer cet article](#)

[Envoyer un lien vers article](#)

 [Get Permission](#)

Résumé

Texte intégral

Références

Illustrations

Les infections virales affectant les plantes cultivées ont un impact quantitatif et qualitatif considérable sur la production agricole mondiale. Depuis déjà plusieurs décennies, la lutte contre les virus de plantes cultivées repose en grande partie sur la sélection de variétés résistantes et sur leur utilisation dans des programmes d'amélioration variétale. Cependant, pour de nombreuses maladies virales et/ou espèces végétales, les gènes de résistance sont difficiles à identifier, voire inexistantes. De plus, ces méthodes sont souvent longues et coûteuses à mettre en œuvre. Aussi, la possibilité d'obtenir beaucoup plus facilement et rapidement des plantes transgéniques résistantes à des infections virales offre-t-elle une alternative séduisante. Historiquement, le concept de résistance dérivée du pathogène (PDR pour *pathogen-derived resistance*) a été émis par Sanford et Johnston en 1985 [1]. Ces auteurs ont proposé d'induire une résistance à un pathogène en exprimant dans un organisme sensible des séquences dérivées de ce pathogène. La première démonstration pratique de ce concept date de 1986, lorsque Powell-Abel *et al.* [2] ont montré que des tabacs transgéniques exprimant la protéine capsidiale (CP) du TMV étaient protégés contre ce virus. Depuis, de nombreux transgènes viraux ont été introduits dans les plantes et ont permis de protéger différentes espèces végétales contre des virus appartenant à de nombreuses familles, grâce à deux types de mécanismes de résistance [pour revue, voir 3] : *résistance conférée par l'ARN viral*, obtenue par l'expression de transcrits interférant avec la réplication de l'ARN viral ou induisant la dégradation séquence-spécifique de l'ARN viral, *résistance conférée par la protéine*, obtenue par l'expression d'une protéine virale fonctionnelle ou tronquée, codée par le transgène (CP, protéine de mouvement ou ARN polymérase).

Illustrations

[Afficher les illustrations](#)

Devant le succès remarquable des PDR, on peut se demander s'il est nécessaire de chercher à mettre au point de nouvelles stratégies de lutte contre les virus. Plusieurs arguments justifient néanmoins cette recherche. En effet, il est possible que les PDR, monogéniques, puissent être contournées à plus ou moins brève échéance par de nouvelles souches virales, comme c'est le cas pour les gènes de résistance naturels. De plus, l'expression de séquences virales dans des plantes transgéniques pose des problèmes potentiels de biosécurité liés aux risques d'hétéroencapsidation

et/ou de recombinaison entre l'ARN transcrit à partir du transgène et un ARN viral [4]. L'utilisation d'autres stratégies de résistance efficaces, rapidement utilisables, permettrait de limiter ces risques. De nombreux efforts portent donc actuellement sur la mise au point de stratégies n'utilisant pas de transgènes viraux. Certains résultats préliminaires suggèrent que ces dernières pourraient permettre d'obtenir des résistances contre les virus de plantes à plus large spectre que les PDR.

Résistances conférées par des acides nucléiques

Dans certains cas, la seule expression de l'ARN transcrit à partir d'un transgène viral est suffisante pour obtenir une protection contre une infection virale. Ces résistances peuvent être séparées en trois catégories selon leur mécanisme :

- celles dont le mécanisme est lié à l'expression d'ARN défectifs interférents viraux (ARN-DI) ou d'ARN satellites viraux,
- celles dont le mécanisme est lié à l'expression d'ARN antisens ou de ribozymes,
- celles, plus largement étudiées, qui se caractérisent par la suppression de l'accumulation des transcrits du transgène et des ARN viraux.

Résistances dues à l'expression d'ARN défectifs interférents (DI) ou d'ARN satellites

Les ARN-DI sont des formes naturelles de certains génomes viraux qui ont subi des délétions internes et jouent un rôle important dans la modulation des symptômes. Les facteurs nécessaires à leur réplication et à leur transmission leur sont fournis *in trans* par un virus assistant au détriment duquel ils se répliquent et s'accumulent. Les ARN-DI de phytovirus les plus étudiés sont ceux associés aux tombusvirus et aux carmovirus. Il est possible d'obtenir des PDR en exprimant dans des plantes transgéniques des ARN-DI [5]. Généralement, les résistances obtenues se caractérisent par une protection spécifique contre le virus assistant, résultant d'une diminution de sa réplication virale et d'une atténuation des symptômes. Dans le cas du TBSV, Havelda *et al.* [5] ont montré que le mécanisme d'inhibition de la réplication virale pouvait être dissocié de celui de l'atténuation des symptômes. Dans ce cas, la protection n'est donc pas due à une simple compétition.

Les ARN satellites sont également des acides nucléiques simple brin non infectieux, de petite taille, associés à certains virus de plantes. L'absence de forte similitude de séquence avec le génome du virus assistant les distingue des ARN-DI. Toutefois, comme ces derniers, ils dépendent totalement du virus assistant pour leur réplication et leur encapsidation et ils peuvent modifier les symptômes induits par le virus assistant [6]. Même si l'atténuation des symptômes conférée par certains ARN satellites est généralement attribuée à la compétition entre l'ARN satellite et l'ARN génomique viral pour des facteurs de réplication, elle ne s'accompagne pas toujours d'une inhibition de l'accumulation du virus assistant. Il est donc probable, comme cela a été montré pour l'ARN-DI du TBSV [5], que le mécanisme d'atténuation des symptômes soit différent de celui de l'inhibition de la réplication du virus assistant. Plusieurs travaux ont montré qu'il était possible d'obtenir des protections contre le CMV chez le tabac, la tomate, le pétunia et le piment par l'expression d'un ARN satellite de ce virus [pour revue, voir 7]. De plus, l'expression simultanée d'un ARN satellite et de la CP du CMV dans des tabacs transgéniques a permis d'obtenir de meilleurs niveaux de protection que lorsque les transgènes étaient exprimés individuellement. Ce dernier exemple montre qu'il est possible de cumuler des résistances en exprimant des transgènes viraux agissant à différentes étapes de la réplication virale. Cependant, l'expression d'ARN satellites dans des plantes transgéniques pourrait poser des risques écologiques. En effet, dans le cas du CMV par exemple, une seule mutation ponctuelle peut suffire à transformer un ARN satellite bénéfique en une forme qui aggrave les symptômes [7]. Cela explique pourquoi aucune utilisation commerciale de protection conférée par l'ARN satellite du CMV n'est envisagée.

Résistances dues à l'expression d'ARN antisens ou de ribozymes

Des résistances de faible niveau au TMV, au PVX, au CMV ou au BYMV ont été obtenues dans des plantes transgéniques exprimant des ARN antisens complémentaires de parties du génome de ces virus [pour revue, voir 3]. Elles sont spécifiques du virus dont est issu le transgène. Le premier mécanisme proposé pour expliquer ces résistances suggère que l'ARN exprimé par le transgène s'hybride à l'ARN viral, dont il empêche la traduction et/ou la réplication. Un second modèle propose que le duplex formé par l'ARN antisens et l'ARN viral soit dégradé par une RNase spécifique des ARN double brin (ARNdb), inhibant ainsi la traduction et/ou la réplication du génome viral.

Des résistances ont également été obtenues par l'expression de ribozymes, qui sont des ARN catalytiques dérivés d'ARN satellites ou de viroïdes capables de couper les ARN de façon séquence-spécifique. Bien que la coupure soit

généralement intramoléculaire, le domaine catalytique (en forme d'épingle à cheveux ou de tête de marteau) et les fragments antisens bordant celui-ci, qui déterminent la spécificité de substrat, peuvent être générés artificiellement. Il est donc théoriquement possible d'exprimer dans une plante transgénique un ribozyme spécifique d'une séquence virale. Cependant, bien que l'efficacité de clivage soit souvent excellente *in vitro*, elle est souvent réduite *in vivo* pour des raisons qui ne sont pas encore élucidées. Des travaux récents ont néanmoins permis d'obtenir des niveaux de résistance élevés contre le PSTVd, le CMV ou le TMV dans des plantes transgéniques exprimant des ribozymes en forme de tête de marteau [8]. La résistance au TMV n'étant pas contournée par l'inoculation d'une souche altérée au niveau du site cible de coupure, il est probable que cette résistance soit due à l'effet des fragments antisens bordant le ribozyme plutôt qu'à l'action catalytique de ce dernier [9].

Résistances dépendantes d'homologie de séquence

La découverte d'un mécanisme de PDR similaire à l'extinction post-transcriptionnelle de gènes (PTGS pour *post-transcriptional gene silencing*) s'est faite en plusieurs étapes [pour revue, voir 10]. Initialement, des observations indépendantes ont révélé, d'une part, que dans certaines PDR le niveau de résistance à un virus n'était pas corrélé au niveau d'accumulation des ARNm exprimés par le transgène viral et, d'autre part, que la résistance à une infection virale pouvait être conférée par l'expression de séquences virales non traduisibles. La résistance extrême au TEV observée dans des tabacs transgéniques exprimant des parties du génome de ce virus, par exemple, est corrélée au PTGS du transgène. Le lien entre certains cas de PDR et la PTGS du transgène a été confirmé par des tests génétiques de plantes résistantes au PVX et au PVY. Ces tests ont montré que les transgènes permettant l'expression des séquences virales responsables des résistances aux virus induisaient également la dégradation des transcrits issus d'autres copies homologues des transgènes par un mécanisme de PTGS. Cependant, pour que l'ARN viral soit dégradé, le génome viral doit nécessairement partager de fortes similitudes de séquence avec le transgène. L'utilisation des plantes transgéniques exprimant des séquences virales a largement contribué à la caractérisation des mécanismes moléculaires de la PTGS, qui serait impliquée dans certaines régulations de gènes et dans la résistance naturelle à certains virus.

La mise en place de la résistance au virus et les mécanismes impliqués ne sont pas encore élucidés. Cependant, certaines études suggèrent que la résistance est basée sur un seuil critique d'accumulation d'ARN, lorsque le transgène est fortement transcrit (*figure 1*). D'autres travaux proposent également que des ARN aberrants soient les facteurs déterminants de la résistance, ces derniers pouvant être des ARNdb formés par la transcription d'une copie ou de copies inversées d'un transgène. Selon les différents modèles proposés pour expliquer la résistance [pour revue, voir 3], les ARN seraient transcrits par une ARN polymérase (RdRp pour *RNA-dependent RNA polymerase*), identifiée et clonée chez la tomate. La transcription des ARN par la RdRp produirait des ARN sens et/ou antisens de taille réduite qui s'hybrideraient aux ARNm ou aux ARN viraux. De fait, des ARN antisens de petite taille peuvent être spécifiquement détectés dans des plantes manifestant le PTGS [11]. Les duplex ainsi constitués seraient dégradés par une RNase spécifique des ARNdb, entraînant la suppression de l'accumulation des ARN viraux et des ARNm issus du transgène. Les ARN simple brin ou les ARNdb produits par le clivage de ces ARN pourraient constituer le signal systémique permettant d'activer la résistance dans les autres cellules de la plante.

Résistances conférées par la protéine

Résistance conférée par la protéine capsidiale

Les capsides virales sont constituées de sous-unités de CP assemblées en structures le plus souvent à symétrie icosaédrique ou hélicoïdale. L'expression de CP dans des plantes transgéniques s'est révélée un moyen de protection efficace contre la quasi-totalité des virus à ARN pour lesquels elle a été évaluée [pour revue, voir 3]. De fait, toutes les plantes transgéniques résistantes à des virus actuellement commercialisées aux États-Unis font appel à un mécanisme de résistance conférée par la CP. Souvent, après inoculation avec le virus dont est issu le transgène codant la CP, les feuilles inoculées des plantes transgéniques montrent une diminution du nombre de lésions par rapport à une plante sensible et/ou une inhibition de l'accumulation du virus (*figure 2*). Dans de nombreux cas, la résistance obtenue peut être contournée par une augmentation de la concentration en virus de l'inoculum. Généralement, les plantes transgéniques exprimant une CP sont protégées non seulement contre le virus dont est issu le transgène (virus homologue), mais aussi contre des souches proches, voire contre certains virus hétérologues apparentés. Le plus souvent, le niveau de protection est corrélé au degré de parenté entre les virus inoculés et le virus dont est issu le transgène.

Dans le cas de plantes transgéniques exprimant la CP du TMV, de l'AIMV ou du TSV, la résistance est surmontée par l'inoculation d'ARN viral non encapsidé, alors qu'elle ne l'est pas lorsque c'est le virion qui est inoculé. Un premier

modèle, illustré par la *figure 3*, a donc été proposé, dans lequel la CP exprimée dans les plantes transgéniques bloque certaines étapes précoces de l'infection, comme la décapsidation de l'ARN viral [3]. Deux hypothèses ont été proposées pour expliquer les mécanismes de blocage de la décapsidation du TMV [12]. Dans la première, la forte concentration en CP dans le cytoplasme déplacerait l'équilibre du rapport particules encapsidées/particules décapsidées, dans le sens de l'assemblage des sous-unités capsidiales, ce qui empêcherait toute réplication virale. La seconde hypothèse repose sur l'existence de récepteurs cellulaires capables de reconnaître la CP du TMV et d'initier la décapsidation de l'ARN viral nécessaire à sa réplication. L'occupation des récepteurs par la CP d'origine transgénique empêcherait la décapsidation.

Dans le cas des résistances observées pour d'autres virus ou groupes de virus, tels que le PVX, le CMV, le PVS ou les népovirus, la protection de plantes transgéniques qui expriment la CP est également efficace contre un inoculum composé d'ARN ou de virions. Pour le PVX, la résistance pourrait être due à un blocage des interactions entre la CP et les ARN viraux, qui sont nécessaires à l'encapsidation, à la réplication et/ou à la propagation du virus dans les plantes infectées. De même, lors d'infections par le TMV ou le CMV de tabacs transgéniques qui expriment la CP de ces virus, la propagation du virus peut être limitée à la feuille inoculée. Il semble donc qu'il existe dans ces plantes un mécanisme de blocage du mouvement du virus de cellule à cellule et/ou à longue distance (*figure 3*). Cependant, pour le TMV, il est probable que le mouvement du virus dans les tissus vasculaires se fasse à l'état de virions, ce qui nécessite des cycles de décapsidation-encapsidation. La suppression du mouvement du TMV à longue distance dans les plantes transgéniques exprimant la CP du TMV pourrait donc n'être qu'une conséquence secondaire de l'inhibition de la décapsidation des virions.

L'expression d'un transgène viral peut conférer une résistance due à l'ARN et/ou à la protéine. Par exemple, des travaux ont montré que l'expression dans des tabacs transgéniques du seul transcrite du transgène codant la CP du TSWV, et non celle de CP elle-même, permet d'obtenir une protection contre le TSWV par le mécanisme de type PTGS décrit plus haut. En revanche, l'expression d'un haut niveau de la CP du TSWV, à partir du même transgène, et non celle du transcrite correspondant, permet d'obtenir une protection contre des virus appartenant au même groupe que le TSWV [13]. L'absence de travaux similaires dans le cas d'autres transgènes viraux ne permet cependant pas d'évaluer globalement la part de la résistance conférée par l'ARN dans le cas de plantes transgéniques exprimant une protéine capsidique, ni même son existence.

Résistance conférée par la protéine de mouvement

Les protéines de mouvement (MP) sont des protéines virales nécessaires au mouvement de cellule à cellule et/ou à longue distance de certains virus. Localisées au niveau des plasmodesmes, elles en modifient la limite d'exclusion ou permettent la formation de tubules par lesquels transitent les particules virales. L'expression de formes tronquées de MP dans des plantes transgéniques confère une résistance contre un spectre de virus relativement large [pour revue, voir 3]. En revanche, l'expression d'une MP fonctionnelle ne permet pas d'obtenir de protection et peut même accroître la sensibilité des plantes transgéniques au virus homologue. Parmi les modèles proposés pour expliquer la résistance, celui d'une compétition entre les MP défectives exprimées dans des plantes et les MP virales est généralement admis. Ainsi, la MP tronquée du TMV, exprimée dans des plantes transgéniques, entrerait en compétition avec la MP native du TMV pour des récepteurs localisés au niveau des plasmodesmes [14]. Ces auteurs ont également démontré que la résistance au PVX et au PVY obtenue dans des pommes de terre transgéniques exprimant la MP tronquée du PLRV était liée à l'accumulation de la MP modifiée au niveau des plasmodesmes des cellules compagnes. Les complexes MP tronquées/récepteurs cellulaires ainsi formés seraient capables d'interférer avec l'accumulation de la MP virale et empêcheraient la propagation locale ou systémique du virus.

Par ailleurs, l'expression des MP fonctionnelles du PVX ou du TMV dans des tabacs transgéniques permet d'obtenir uniquement une protection contre des virus hétérologues, alors qu'elle accroît la sensibilité de ces plantes aux virus homologues [15]. Selon ces auteurs, les MP auraient de multiples sites actifs impliqués dans le transport des virus. Certains de ces sites auraient une fonction identique et non spécifique quel que soit le virus, d'autres en revanche auraient une fonction très spécifique. Cette combinaison de sites pourrait rendre chacune des MP fonctionnelle avec des virus hétérologues. Dans ce cas, les MP fonctionnelles exprimées dans les plantes transgéniques entreraient effectivement en compétition avec les MP virales. Les complexes MP-récepteurs cellulaires formés seraient fonctionnels et permettraient une propagation systémique et une réplication normales du virus homologue. En revanche, dans le cas d'une infection par un virus hétérologue, la MP fonctionnelle préoccuperait les récepteurs cellulaires sans pouvoir les rendre opérationnels pour le mouvement du virus.

Résistance conférée par l'ARN polymérase

L'expression dans des plantes transgéniques de gènes codant pour une ARN polymérase virale tronquée ou complète peut conférer des protections proches de l'immunité, généralement spécifiques du virus dont est issu le transgène [pour revue, voir 3]. Par exemple, des plantes transgéniques exprimant une partie de l'ARN polymérase du TMV contenant le site actif se sont montrées hautement résistantes au TMV. De même, des plantes transgéniques exprimant une forme tronquée de la protéine 2a de la souche Fny du CMV, qui porte l'activité ARN polymérase, sont hautement résistantes à toutes les souches de CMV du sous-groupe I (auquel appartient la souche Fny), mais restent sensibles aux souches de CMV du sous-groupe II ou à d'autres virus. Cette stratégie s'est également avérée efficace pour protéger des plantes contre le PVY ou l'AIMV lorsque la réplicase exprimée n'est pas fonctionnelle. Les mécanismes impliqués dans cette résistance ne sont pas élucidés. Il est proposé que la protéine exprimée par le transgène interfère avec certaines fonctions de l'ARN polymérase virale, probablement en se fixant à des récepteurs cellulaires ou à des protéines virales régulant la réplication et l'expression des gènes viraux. Dans le cas du CMV, l'expression de la protéine 2a dans des plantes transgéniques réduit l'accumulation du virus et inhibe son mouvement de cellule à cellule et/ou à longue distance du virus. Ces observations pourraient résulter d'une inhibition de la réplication du CMV, qui se traduirait par une réduction de la production de protéines de mouvement, nécessaires au déplacement du virus. De fait, les travaux de Wintermantel *et al.* [16] ont montré que l'interaction entre la protéine 2a tronquée et la MP 3a du CMV inhibe le mouvement du virus de cellule à cellule.

Autres stratégies utilisées pour produire des résistances

Résistances obtenues par l'expression de gènes de plantes

* Utilisation de gènes de résistance identifiés dans le cas de résistances de type gène pour gène

Le concept de résistance gène pour gène a été proposé pour la première fois par Flor [17], qui a montré que, pour chacun des gènes de résistance à la rouille du lin, il existe dans le pathogène un gène correspondant, dit gène d'avirulence ou d'incompatibilité. Staskawicz *et al.* [18] ont montré expérimentalement, pour au moins un couple plante-pathogène, que le produit du gène de résistance au pathogène de la plante sert de récepteur à une molécule produite par le gène d'avirulence du pathogène. Chez les individus résistants, cette interaction entre le produit du gène de résistance et celui du gène d'avirulence constituerait un signal activateur de réactions complexes de défense. Le système de défense le plus étudié est la réaction d'hypersensibilité (HR). La HR regroupe un ensemble de défenses cellulaires qui contribue à la localisation de l'infection par la formation de nécroses au site d'infection et empêche la propagation des agents pathogènes à l'ensemble de la plante (*figure 4*).

* Gènes gouvernant la réaction d'hypersensibilité

Les gènes de résistance aux virus identifiés et entraînant la HR sont peu nombreux [pour revue, voir 19]. Par exemple, la HR au TMV est contrôlée par les gènes *N'* chez *Nicotiana sylvestris*, *N* chez *N. glutinosa*, *Tm-1* et *Tm-2* chez la tomate. Les produits viraux déclenchant la HR ne sont pas toujours connus. Cependant, dans le cas de la HR au TMV contrôlée par les gènes *N* ou *N'*, les gènes d'avirulence ont été identifiés et correspondent aux gènes codant pour l'ARN polymérase virale et la CP, respectivement. De même, dans le cas des gènes *Tm-1* et *Tm-2*, les gènes d'avirulence correspondent aux gènes codant pour l'ARN polymérase et la protéine de mouvement, respectivement. Parmi les gènes de plantes identifiés entraînant une résistance aux virus de type HR, le gène *N*, qui confère la résistance au TMV et à la plupart des tobamovirus, et le gène *Rx*, qui confère la résistance au PVX, ont été clonés et séquencés [20, 21]. Le gène *N* code pour une protéine de 131 kDa ayant un site de fixation des nucléotides (NBS) et une région de répétitions riches en résidus leucine (LRR), caractéristiques des protéines codées par les gènes *NBS-LRR* conférant des résistances à d'autres pathogènes. Il a été proposé que la LRR soit impliquée dans des interactions protéine-protéine, et en particulier dans la reconnaissance du produit du gène d'avirulence du pathogène. Les similitudes de séquence entre le produit du gène *N* et les récepteurs cytoplasmiques *Toll* de la drosophile et *interleukin-1* des mammifères [20] suggèrent un rôle de cette protéine dans l'émission d'un signal intervenant dans les cascades de réponses aux pathogènes. Le gène *Rx* code lui aussi pour une protéine NBS-LRR de 107,5 kDa présentant des homologies de structure et de fonction avec celle codée par le gène *N* [21].

Whitham *et al.* [22] ont démontré qu'il était possible de conférer une résistance au TMV dans des cultivars de tomates sensibles en leur faisant exprimer le gène *N*. Ces auteurs ont ainsi observé, sur des tomates transgéniques, la formation de nécroses foliaires locales corrélées à l'inhibition de la réplication et du mouvement du TMV, comme c'est le cas chez les nicotianées.

* Gènes impliqués dans la résistance systémique acquise

La résistance systémique acquise (SAR pour *systemic acquired resistance*) se caractérise par l'acquisition d'une résistance à un grand nombre de pathogènes après une première infection antérieure ayant déclenché une HR. La SAR étant non spécifique, elle est active contre de nombreux pathogènes, dont les virus. Elle se caractérise par une augmentation de la production d'acide salicylique, par la production de protéines induites par les pathogènes (PR pour *pathogenesis-related*) et par la synthèse de composés antimicrobiens connus sous le nom de phytoalexines (*figure 4*) [pour revue, voir 23].

Aucune résistance aux virus dans des plantes transgéniques exprimant des protéines PR n'a encore été obtenue. De même, l'utilisation de mutants d'*Arabidopsis thaliana* affectés dans la SAR n'a pas encore permis d'isoler de gènes directement impliqués dans la résistance aux virus. En revanche, l'expression du gène *rgp1*, codant pour une petite protéine de riz fixatrice de GTP, dans des tabacs transgéniques provoque une augmentation de la synthèse de cytokinines, qui induit à son tour une surproduction d'acide salicylique, une modification de la SAR et une résistance au TMV. Ce résultat suggère donc un rôle des hormones de croissance, telles les cytokinines, dans les mécanismes de résistance. Ce rôle a d'ailleurs été confirmé par Nasuta *et al.* [24], qui ont montré que la suppression de l'expression du gène codant pour la S-adénosylhomocystéine hydrolase dans des tabacs transgéniques accroît le niveau de production de cytokinines et induit une résistance aux TMV, CMV, PVX et PVY.

Plus récemment, les expériences de Oldroyd *et al.* [25] ont montré qu'il était possible d'activer la SAR en faisant surexprimer le gène *Prf*, qui, comme le gène *Pto*, conditionne la résistance de la tomate à *Pseudomonas syringae*. *Prf* appartient à la famille des gènes codant pour des protéines NBS-LRR, comme le gène *N* du tabac, alors que *Pto* code pour une protéine ayant les spécificités d'une protéine kinase à sérine-thréonine. Ces auteurs ont montré que les plantes surexprimant le gène *Prf* étaient résistantes aux bactéries et qu'elles étaient également résistantes au TMV. Le développement de stratégies permettant la surexpression dans les plantes de gènes codant pour des protéines NBS-LRR pourrait donc permettre de créer de nouvelles sources de résistance contre des pathogènes, notamment contre des virus.

* Gènes codant pour des protéines inhibitrices de ribosomes

Les protéines inhibitrices de ribosomes (RIP pour *ribosome inactivating protein*) sont des N-glycosidases très répandues dans le règne végétal qui catalysent la dépurination d'un ou plusieurs résidus adénosine spécifiques, localisés vers l'extrémité 3' de l'ARN des grandes sous-unités ribosomales (ARNr) eucaryotes et procaryotes. La dépurination des ARNr, conduisant à l'inactivation irréversible des ribosomes et au blocage de la traduction, porte sur le résidu adénosine d'une boucle très conservée contenant la séquence 5'-AGUCGAGAGNANC-3'. Le résidu adénosine cible des RIP est impliqué dans les interactions avec le facteur d'élongation 2 chez les eucaryotes et avec le facteur G chez les procaryotes [pour revue, voir 26]. Bien que l'activité catalytique de toutes les RIP soit identique, leur spécificité est très variable. Par exemple, certaines RIP de dicotylédones comme la protéine antivirale de *Phytolacca americana* (PAP pour *pokeweed antiviral protein*), ont un niveau d'activité identique contre tous les ribosomes eucaryotes, alors que les RIP des graines d'avoine n'ont pratiquement pas d'effet sur les ribosomes de plantes. Les RIP s'accumulant en quantité très importante, l'insensibilité des ribosomes de la plante productrice semble être un des mécanismes importants permettant de prévenir des effets autotoxiques. Ainsi, certaines RIP de dicotylédones sont synthétisées sous forme inactive, et sont activées au cours de leur séquestration dans les vacuoles ou l'espace intercellulaire, d'autres sont synthétisées directement sous forme active et immédiatement séquestrées dans des compartiments cellulaires.

Les RIP, appliquées sur des feuilles ou exprimées dans les plantes transgéniques, peuvent avoir une activité antivirale à large spectre [27]. Des résistances au CMV, au PVX et au PVY ont été obtenues dans des tabacs, *N. benthamiana* et pommes de terre transgéniques exprimant le gène de la PAP. De même, l'expression de la dianthine, une RIP d'œillet, a permis d'obtenir une protection contre l'ACMV et celle de la trichosanthine, RIP de *Trichosanthes kirilowii*, une protection contre le TuMV. Pour expliquer les résistances obtenues, Bonness *et al.* [28] ont proposé que l'infection virale d'une plante sensible traitée par application de RIP ou d'une plante transgénique sécrétant une RIP dans l'espace intercellulaire provoquerait la perméabilisation de la membrane cellulaire et permettrait l'entrée de la RIP dans la cellule. Ainsi la RIP inhiberait la synthèse protéique et, de fait, la réplication virale. Néanmoins, d'autres mécanismes peuvent intervenir, comme cela a été suggéré pour la trichosanthine qui a un effet inhibiteur de la réplication *in vitro* du VIH1, du fait de ses activités topo-isomérase et inhibitrice de l'intégrase [29].

Il est possible de limiter les effets cytotoxiques des RIP exprimées dans les plantes transgéniques en les faisant excréter dans l'espace intercellulaire ou en plaçant, par exemple, le transgène codant la RIP sous contrôle d'un promoteur spécifiquement inductible en *trans* par une infection virale. Cette dernière approche a permis l'obtention de résistances à certains isolats d'ACMV après *trans*-activation d'un transgène codant pour la dianthine par l'infection

virale, la RIP n'étant pas détectable en l'absence de virus. Dernièrement, Tumer *et al.* [30] ont montré qu'il était possible de dissocier l'effet toxique d'une RIP de son activité antivirale : une forme de la PAP délétée de son extrémité C-terminale et exprimée dans des tabacs transgéniques conserve son activité antivirale mais n'est plus toxique pour la plante, du fait de la perte de son activité glycosidasique. Cet exemple ouvre la voie au développement de nouvelles RIP mutantes ayant une activité antivirale à large spectre et ne présentant pas de toxicité pour les plantes.

Résistances dues à l'expression d'anticorps dans les plantes

Des anticorps complets, des fragments qui fixent des antigènes (Fab) et des chaînes simples d'anticorps (scFv) ont été exprimés avec succès dans des feuilles ou des graines de tabac et d'*Arabidopsis thaliana* [pour revue, voir 31]. De nombreux travaux ont permis une expression ciblée de fragments d'anticorps recombinants dans différents compartiments cellulaires. Cependant, seules des scFv ont pu être exprimées dans le cytoplasme [32]. Ainsi, une résistance à l'AMCV a été obtenue dans des plantes transgéniques exprimant un gène codant pour une scFv dirigée contre un site conservé de la CP [31]. Le mécanisme impliqué reste inconnu. Cependant, des travaux récents suggèrent que l'anticorps inhibe la réplication virale ou certaines phases de décapsidation-encapsidation dans les premières cellules infectées. En effet, Voss *et al.* [33] ont obtenu des tabacs transgéniques exprimant un anticorps complet dirigé contre un épitope spécifique des virions du TMV. Dans ces plantes, qui possèdent le gène de résistance *N* responsable de la HR, la synthèse de l'anticorps, qui est sécrété dans l'espace intercellulaire, a permis de réduire de 70 % le nombre de lésions formées après HR au TMV. Pour expliquer cette réduction, les auteurs suggèrent que les anticorps interagissent avec le virus au moment de la pénétration du TMV dans la cellule. De plus, même après avoir été cultivées à des températures élevées capables de lever la résistance due au gène *N*, 11 % des plantes testées ont manifesté une résistance durable au TMV [33]. L'application d'une telle approche est intéressante mais la sécrétion d'anticorps dans l'espace intercellulaire ne semble pas pouvoir bloquer totalement l'infection virale. Aussi, la réplication virale ayant lieu dans le cytoplasme, Zimmermann *et al.* [32] ont proposé d'améliorer l'efficacité de cette stratégie en ciblant l'expression de scFv, dirigées contre les virions du TMV, dans le cytoplasme de cellules de tabacs exprimant le gène de résistance *N*. Même en présence de très faibles quantités de scFv, ils ont observé une réduction de 90 % du nombre de lésions dans 11 % des plantes transgéniques infectées. Ces auteurs pensent que le niveau réduit d'expression des scFv est suffisant pour neutraliser la faible quantité de virions entrant dans le cytoplasme au moment de l'infection en interférant avec la décapsidation et/ou l'encapsidation et l'accumulation du virus. Ils proposent en outre, que le nombre réduit de plantes protégées est dû à la faible quantité de scFv fonctionnelle au moment de l'entrée du virus dans la cellule et suggèrent que toute variation dans les conditions de cultures, comme une augmentation de la température, peut conduire à la diminution de la quantité de scFv dans le cytoplasme et donc permettre au TMV de se propager à toute la plante. Cela rend peu probable l'utilisation au champ d'une telle stratégie, qui requiert la stabilité des scFv dans le cytoplasme.

Résistances dues à l'expression de gènes codant pour une 2',5'-oligoadénylate (2-5A) synthétase de mammifère

De nombreux travaux ont mis en évidence l'activité antivirale de la voie des 2-5A chez les mammifères, qui permet notamment d'inhiber la réplication de picornavirus dans les cellules de mammifères traitées aux interférons [pour revue, voir 34]. Des stratégies utilisant la voie de biosynthèse des 2-5A ont donc été développées dans les plantes transgéniques. Ainsi, Truve *et al.* [35] ont montré l'existence dans les tissus végétaux d'oligomères 2-5A endogènes capables de provoquer une diminution de la synthèse protéique et l'hydrolyse d'ARN dans des extraits de germe de blé. Ces auteurs n'ont pas détecté d'activité correspondant à la 2-5A synthétase dans les plantes, mais ils suggèrent que ces dernières contiennent certains composants de la voie de biosynthèse des 2-5A, et qu'il serait possible de reconstituer cette voie dans des plantes en y exprimant une 2-5A synthétase de mammifère (*figure 5*). De fait, l'expression de la 2-5A synthétase de rat dans des plants de pomme de terre a permis d'obtenir une tolérance au PVX et au PVY, et une résistance au PVS [35, 36].

Cependant, des résultats contradictoires ont été obtenus par Mitra *et al.* [37], qui n'ont pas observé de résistance à l'AIMV, au TMV ou au TEV dans des tabacs transgéniques exprimant la 2-5A synthétase humaine. Cette absence de protection pourrait s'expliquer par les caractéristiques spécifiques des virus testés, comme leur mode de réplication, leur localisation intracellulaire ou d'autres éléments rendant l'ARN viral inaccessible aux mécanismes de dégradation, ou par l'isoforme et l'organisme d'origine de la 2-5A synthétase utilisée. En effet, il existe dans les cellules de mammifères plusieurs isoformes de 2-5A synthétase pouvant s'accumuler dans différents compartiments cellulaires [34]. Néanmoins, des tabacs transgéniques exprimant la 2-5A synthétase et la RNase L humaines qui montrent une résistance à l'AIMV, au CMV, au PVY, au TMV et au TEV ont été obtenus [37, 38]. Bien que les mécanismes de ces résistances ne soient pas encore élucidés, les auteurs proposent que la voie de biosynthèse des 2-5A reconstituée dans les plantes soit activée par les ARNdb servant d'intermédiaires de réplication aux virus à ARN. Cette activation entraînerait la dégradation des ARN viraux et cellulaires par la RNase L dans les cellules infectées, provoquant les

lésions locales observées sur les feuilles inoculées. Dans le cas du PVY, ces destructions cellulaires sont insuffisamment régulées et entraînent la mort de la plante [38]. Malgré les contradictions observées entre les travaux de Truve *et al.* [35, 36] et ceux de Mitra *et al.* [37] et Ogawa *et al.* [38], ces approches sont prometteuses, car elles permettent d'obtenir des résistances à large spectre contre les virus.

La formation de lésions locales induites par la reconstitution de cette voie dans des plantes transgéniques rappelle la réaction hypersensible observée dans des plantes manifestant des résistances aux pathogènes de type gène pour gène. Aussi, certains travaux suggèrent-ils qu'à l'instar des cellules de mammifères, les cellules de plantes contiennent des analogues des protéines kinases (PKR) de mammifère activées par des ARNdb, qui sont impliquées dans les mécanismes d'apoptose, en particulier dans l'inhibition de la synthèse des protéines et dans la défense cellulaire contre les virus [39-41]. La caractérisation moléculaire des gènes codant des analogues végétaux de ces PKR pourrait permettre la mise au point de nouvelles stratégies de lutte antivirale.

Résistances dues à l'expression de gènes codant pour des endoribonucléases spécifiques des ARNdb

Le gène *Pac1* de *Schizosaccharomyces pombe* code pour une RNase appartenant à la famille des RNases III spécifiques des ARNdb (dbRNase). Chez *S. pombe*, il a été proposé que cette enzyme inhiberait la méiose en dégradant spécifiquement des ARNm nécessaires au développement sexuel, jouerait un rôle indispensable à la croissance végétative des levures et serait également impliquée dans la maturation des ARN ribosomiaux [42, 43].

De nombreux virus de plante ont un génome constitué d'un ou plusieurs ARN simple brin et produisent des ARNdb au cours de leur réplication. Aussi, plusieurs équipes ont proposé d'introduire et d'exprimer dans des plantes des dbRNases qui dégraderaient ces intermédiaires de réplication et permettraient d'obtenir des résistances à large spectre. Des plants de tabacs et de pommes de terre transgéniques exprimant *Pac1* et résistants au ToMV, au CMV ou au PVY ont été obtenus [44]. Sano *et al.* [45] ont montré que des plants de pomme de terre transgéniques exprimant *Pac1* étaient résistants à un viroïde de la pomme de terre, le PSTVd, et que la transmission de ce viroïde aux tubercules était diminuée. Dans ces deux exemples, les auteurs proposent que la résistance soit due à une inhibition de la réplication, du fait de la dégradation par *Pac1* des intermédiaires de réplication des virus ou des structures en épingle à cheveux indispensables à la réplication des viroïdes.

Par ailleurs, une RNase III codée par le gène *rnc* d'*Escherichia coli* a également été exprimée dans des tabacs transgéniques. Des tests de résistance ont montré que ces plantes étaient efficacement protégées contre deux virus dont le génome ARN est divisé (AIMV, TSWV), mais pas contre un virus dont le génome ARN est monopartite (TEV) [46]. Une résistance a également été observée dans des plantes exprimant une RNase mutée, qui fixe les ARNdb sans les cliver. Cette observation, encore inexplicite, montre que la résistance ne dépend pas du clivage des ARNdb viraux. Les résistances obtenues dans les exemples cités plus haut montrent l'intérêt d'une telle stratégie. Cependant, les différences de protection observées selon les virus testés pourraient constituer un facteur limitant à son utilisation.

CONCLUSION

Certaines variétés transgéniques utilisant les stratégies de RDP décrites dans cette revue et basées sur l'expression de CP viraux sont déjà commercialisées aux États-Unis. D'autres font actuellement l'objet d'ultimes évaluations expérimentales au champ et devraient être commercialisées à plus ou moins brève échéance. Pourtant, face à l'augmentation des surfaces cultivées dévolues à ces plantes génétiquement modifiées et aux inquiétudes du public quant à leur utilisation, il est nécessaire d'évaluer rigoureusement non seulement leur efficacité, mais également la durabilité des résistances obtenues et les problèmes potentiels de biosécurité liés à leur utilisation.

Comme mentionné plus haut, il a été récemment démontré que les plantes utilisent le PTGS pour répondre à certaines infections virales en dégradant des ARN viraux de façon très spécifique. Certains virus sont toutefois capables de contourner ce mécanisme de résistance naturelle, grâce à l'action antagoniste du PTGS de certaines protéines viraux [47]. Quelle serait la stabilité d'une résistance d'origine transgénique basée sur le PTGS lors de l'infection de ces plantes par un virus non-cible capable de bloquer le PTGS ? Nous travaillons actuellement à apporter une réponse à cette question, importante au niveau de la stabilité au champ des résistances basées sur le PTGS.

Par ailleurs, l'expression de séquences viraux dans des plantes transgéniques pose certains risques écologiques, que nous ne détaillerons pas ici [pour revue, voir 4]. L'étude de ces risques et la mise au point de stratégies pour les éliminer ou les atténuer, menée par quelques équipes dont la nôtre, sont essentielles à une utilisation raisonnée de ces plantes transgéniques.

Afin de diversifier les sources de résistances et de s'affranchir des problèmes éventuels liés à l'utilisation de transgènes viraux, l'utilisation de gènes de plantes est particulièrement attractive. Cependant, l'expression de ces gènes peut également avoir des effets négatifs, comme c'est le cas pour l'expression constitutive de RIP, qui entraîne parfois des toxicités dommageables à la qualité agronomique des plantes. Il semble néanmoins possible de modifier les RIP pour en éliminer les effets toxiques, tout en conservant leur aptitude à conférer la résistance aux virus, comme l'ont montré les travaux de Tumer *et al.* [30] sur la PAP. La reconstitution de voies métaboliques de mammifères dans les plantes ou l'expression de RNases de type III sont également des stratégies attractives de création de résistances aux virus. L'exemple des résistances obtenues grâce à l'expression de 2-5A synthétase seule ou associée à celle de RNase L, ou de Pac1 démontre l'efficacité de telles approches. En outre, l'utilisation de certains transgènes non viraux permet d'obtenir des résistances à plus large spectre que celle de transgènes viraux. Cependant, nous disposons actuellement de moins de données concernant la durabilité et l'efficacité au champ des protections conférées par ces transgènes que dans le cas des PDR, ce qui limite encore leur utilisation.

Les efforts actuels de mise au point et de caractérisation de transgènes viraux et non viraux sont parfaitement complémentaires et sont appelés à faire partie intégrante des schémas de sélection variétale. En effet, l'expression combinée dans des plantes de plusieurs transgènes utilisant des mécanismes distincts, qui n'est pas encore très répandue, devrait permettre de réduire les risques de contournement des résistances transgéniques, comme c'est le cas pour les résistances naturelles. Nous pensons que la levée des derniers éléments d'incertitude concernant ces différentes stratégies permettra leur utilisation agronomique dans un avenir proche. Cela permettra de bénéficier pleinement des avantages attendus : meilleure qualité des produits agronomiques, diminution de l'utilisation de pesticides, et nourriture plus abondante pour l'humanité plus nombreuse du prochain millénaire.

MON COMPTE

Bonjour **Richard Berthomé**

> [Connexion à mon institution](#)

> [Déconnexion](#)

MON COMPTE



Mes abonnements revues



Mes articles / ma bibliographie



Mes informations personnelles



Mes adresses



Mes commandes / factures



Mes ebooks et chapitres



Mes statistiques de consultation



Mes quiz



Mes newsletters

MES ABONNEMENTS

ALERTES SOMMAIRE

PETITES ANNONCES



ESPACE PARTENAIRES

[Publicité](#) • [Partenaires](#) • [Auteurs revues](#) • [Auteurs livres](#)

SERVICES

[Abonnez-vous](#) • [Conditions générales de vente](#) • [Achetez un numéro](#) • [Article à la carte](#) • [Congrès](#) • [Petites annonces](#)



[Politique éditoriale John Libbey](#) • [Infos légales](#) • [Aide/FAQ](#) • [Qui sommes-nous ?](#) • [Contact](#) • [Quelle est mon adresse IP ?](#)

Copyright © 2022 JOHN LIBBEY EUROTTEXT