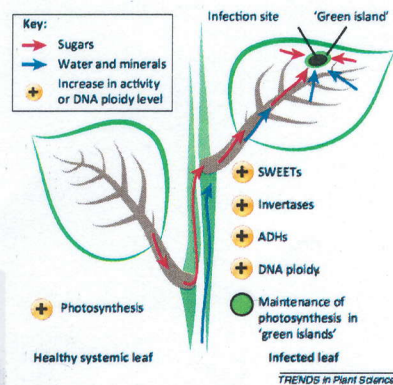


La Résistance des Plantes aux Agents Phytopathogènes



*Bases Moléculaires et
Génétiques des
Interactions Plante-
Pathogène.*

Support du Cours

Dr. Abdelmoumen Taoutaou

Dépt. Botanique

Ecole Nationale Supérieure

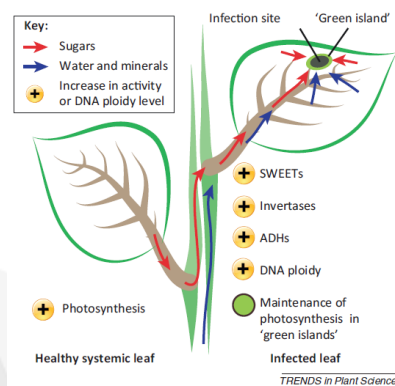
Agronomique, Alger

0.0

02.02.2021



La Résistance des Plantes aux Agents Phytopathogènes



*Bases Moléculaires et
Génétiques des
Interactions Plante-
Pathogène.*

Support du Cours

Dr. Abdelmoumen Taoutaou

Dépt. Botanique

Ecole Nationale Supérieure
Agronomique, Alger

0.0

02.02.2021

Table des matières

Objectifs	7
Introduction	8
I - Concepts Généraux sur la Résistance	9
1. La Résistance non Hôte	9
2. La Résistance Hôte	10
3. Hôte Marginal	12
4. La Résistance Préformée	12
4.1. Rôles	12
4.2. Types de la Résistance Préformée	13
5. La Résistance Induite	14
5.1. La Résistance Induite par les Éliciteurs	15
5.2. La Résistance Induite par les Effecteurs	16
5.3. Exploitation de la Résistance Induite	16
6. La Durabilité de la Résistance	17
7. Évolution de la Résistance Hôte et non-Hôte	17
II - Les Eliciteurs	19
1. Introduction	19
2. Les Différents Types d'Éliciteurs	19
2.1. Selon leur Spécificité	19
2.2. Selon Leur Origines	21
III - Les Gènes de Résistance	22
1. Introduction	22
2. Contrôle de l'Expression des Gènes de Résistance	
3. Caractéristiques des Gènes de Résistance	26
3.1. Les Séquences Hautement Conservées	26
4. Rôles des Gènes de Résistance	27
5. Classification des Gènes de Résistance	27

5.1. Classification Selon les Séquences Conservées	29
5.2. Classification Selon le Mécanisme de Détection	
6. l'Évolution des Gènes de Résistance	31
IV - Les Gènes de Sensibilité	33
1. Introduction	33
2. Le Mode d'Action des Gènes de Sensibilité	34
2.1. L'Installation du Pathogène	34
2.2. Création d'un environnement Favorable au Pathogène	34
2.3. Le Maintien de l'Agent Pathogène	34
2.4. Régulation Négative du Système Immunitaire	35
3. Expression des Gènes de Sensibilité	35
V - Les Phénomènes de Reconnaissance	37
1. Introduction	37
2. Les PRR	38
2.1. Structure	38
2.2. Localisation	40
2.3. Rôles	40
2.4. Les Types de PRR	41
2.5. Mode d'Action des PRRs	41
3. Les Protéines de Résistance	44
3.1. Structure des Protéines de Résistance	45
3.2. Rôles et Fonctions des des Protéines de Résistance	46
3.3. Localisation	49
3.4. Les Phénomènes de Reconnaissance	49
4. Les Mécanismes de Reconnaissance	52
4.1. Perception Extracellulaire	53
4.2. Perception Intracellulaire	54
4.3. Perte de Sensibilité	57
VI - Les Cascades de Signalisation	60
1. Introduction	60
2. Les Receptor-Like Cytoplasmic Kinases (RLCKs)	63
3. La Protéine G	64
4. La Voie de la Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPKinase)	64
5. Le Calcium	66
6. Les Molécules Actives d'Oxygène	68

7. Les Hormones de Croissance	
8. Les Protéines de Résistance Helpers (Assistants)	68
8.1. Famille des ADR1	70
8.2. Famille des NRG1	70
8.3. Famille des NRC	70
VII - Le Système Immunitaire Végétal	71
1. Les Différents Modèles du Système Immunitaire Végétal	72
1.1. Théorie Gène-pour-Gène	72
1.2. Le Modèle Zig-Zag	72
1.3. Le Modèle Invasion	74
1.4. Le Réseau Immunitaire	74
2. L'Immunité Induite par les Eliciteurs	75
3. L'Immunité Induite par les Effecteurs	77
4. Les Réponses Immunitaires	78
VIII - Les Barrières Physiques de la défense	79
1. Les Barrières Constitutives	79
1.1. La Pectine	
1.2. La Lignine	
1.3. L'Hémicellulose	
1.4. La Cire	80
2. Les Barrières Induites	80
2.1. Callose	82
2.2. La Formation des Papillae	84
2.3. Tylls	85
IX - Les Protéines Associées à la Pathogénèse	87
1. Les Protéines PR	87
1.1. Caractéristiques des Protéines PR	88
2. Classification des Protéines PR	88
2.1. La Famille PR1	90
2.2. La Famille PR2	90
2.3. La Famille PR3	90
3. Rôle des Protéines PR	92
4. Le Mode d'Action des Protéines PR	92
5. Les Types des Protéines PR	93

6. La synthèse des Protéines PR	93
6.1. Les Gènes Codant pour les Protéines PR	93
6.2. Expression Génétique	93
6.3. La Sécrétion	94
7. Les Protéines PR Majeures	94
7.1. Les Chitinases	95
7.2. Les Glucanases	95
7.3. Les Thaumatin-Like Proteins	96
7.4. Les Defensines	97
7.5. Les Thionines	98

X - Les Métabolites Secondaires **99**

1. Les Métabolites Secondaires	99
2. Rôles des Métabolites Secondaires	100
3. Les Types de Métabolites Secondaires	102
3.1. Les Anticipines	102
3.2. Les Phytoalexines	105
4. Modes d'Action des Métabolites Seondaires	107
5. La Synthèse des Métabolites Secondaires	108
5.1. Contrôle Génétique et Régulation de la Synthèse des Métabolites Secondaires	109
5.2. Biosynthèse des Métabolites Secondaires	110
5.3. Stockages des Métabolites Secondaires	111
5.4. Libération des Métabolites Secondaires	
6. Les Métabolites Secondaires des Champignons Symbiotiques	112

XI - La Réaction d'Hypersensibilité **114**

1. Introduction	114
2. Niveaux de la HR	114
3. Contrôle de la HR	116
3.1. Expression des Gènes R	116
3.2. Température	116
3.3. Lumière	117
3.4. Humidité Relative	117
4. Les Conséquences de la HR	118
4.1. La résistance	118
4.2. La sensibilité	118
4.3. La Résistance Systémique	119
4.4. Phénomènes d'Autoimmunité	119

Références	120
Bibliographie	121
Webographie	126

Objectifs

A la fin de ce cours, l'étudiant doit être capable de :

- Expliquer les mécanismes de défense des plantes contre les agents pathogènes
- Différencier entre les mécanismes de défense contre les biotrophes et les nécrotrophes
- Faire la différence entre les différents types de plantes hôtes, ainsi qu'entre les différents types de résistance
- Expliquer les inducteurs des réactions de défense
- Expliquer les mécanismes d'action des gènes de résistance et de sensibilité
- Expliquer la transmission de signal d'information chez la plante pour l'induction de la réponse immunitaire
- Faire la différence entre les différents types de mécanismes de défense ainsi que les différentes molécules impliquées
- Définir les avantages et les limites de différents outils d'amélioration de la résistance

Introduction

Étant les producteurs primaires (de nutriments, énergies) les plantes sont la cible de plusieurs organismes (sauf les carnivores). Elles sont donc sous une pression constante pour se défendre. Elles ont développé un système de défense sophistiqué. Ce dernier les a rendu (Les plantes), en général, et dans la majorité des cas, résistantes à la majorité des agents pathogènes. La maladie, en réalité, fait l'exception dans le cycle de vie d'une plante. L'interaction plante-pathogène est une série d'événements qui arrivent comme résultat à un dialogue entre les deux êtres vivants.

Ce document est la suite du premier document : Mécanismes de Pathogénicité des Champignons Phytopathogènes. Ce dernier a détaillé les mécanismes utilisés par les différents agents pathogènes pour réussir leur infection. Dans ce travail, on va exposer les différents mécanismes que les plantes utilisent pour se défendre contre l'agression d'agent pathogènes.

I Concepts Généraux sur la Résistance

1. La Résistance non Hôte

🔍 Définition

C'est la résistance de tous les génotypes d'une espèce végétale contre tous les génotypes d'un pathogène.

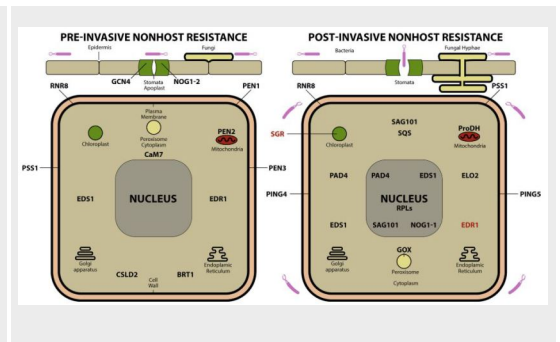
🕒 Exemple

Tous les génotypes (et individu) de la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) sont résistants à la rouille de la fève causée par *Uromyces fabae*.

Tous les individus qui font partie de l'espèce *Triticum aestivum* (blé tendre) sont résistants au *Phytophthora infestans* (agent du mildiou de la pomme de terre et de la tomate).

La résistance non-hôte peut être préformée ou induite.

Fig. 1.1. la résistance non-hôte avant et post invasion par le pathogène (Fonseca & Mysore, 2019).



💡 Fondamental

C'est une inadaptation fondamentale préexistante entre l'hôte et l'agent pathogène potentiel, empêchant la germination ou la pénétration du pathogène ou de la molécule infectieuse dans la plante (présence de substances préformés dans l'hôte).

🔗 Exemple

Inadaptation morphologique ou biochimique de ses surfaces ou de ses ouvertures naturelles (voir le chapitre reconnaissance et structure infectieuses du cours mécanismes de pathogénicité), absence de coexistence temporelle ou spatiale des protagonistes, absence de certaines molécules indispensables aux premières phases de développement du parasite, etc.)

Quelques cas de résistances liées aux structures morphologiques ou aux particularités biochimiques de la surface de l'hôte sont parfois cités :

- Épaisseur et topographie de la cuticule,
- Localisation et forme des stomates,
- Présence d'inhibiteur de surface agissant sur la germination du parasite (substances produites/stockées dans les trichomes)

Figure 1.2. La topographie de la feuille de lotus. Les feuilles ont des propriétés hydrophobes dues à leur richesse en cire (Garbone & Mangialardi, 2005*).

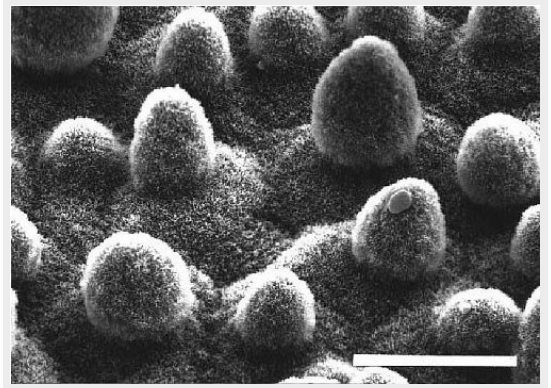
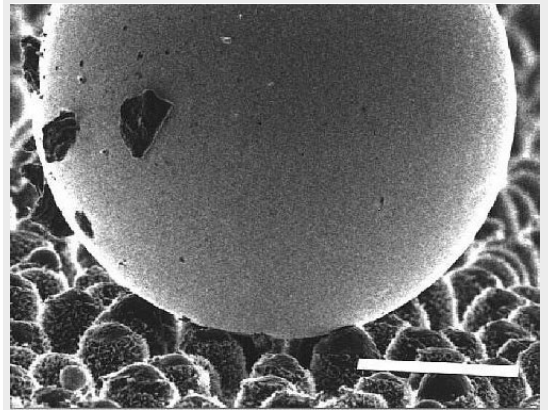


Figure 1.3. La texture et l'hydrophobie des feuilles de lotus lui assurent des propriétés autonettoyantes à ces feuilles (Garbone & Mangialardi, 2005*).



2. La Résistance Hôte

🔗 Définition : Plante Hôte

Une plante hôte est une plante qui peut être infectée par un pathogène donné.

🔗 Définition : La Résistance Hôte

Est la résistance que certains individus (un ou plus) de cette plante hôte montrent face à un agent pathogène donné.

Figure 1.4. Haricot résistant (à gauche) et sensible (à droite) à la rouille causée par *Uromyces appendiculatus* (Schumann & D'Arcy, 2013*).



Figure 1.5. Pomme de terre sensible (en avant plan) et résistante (en arrière plan) au mildiou causée par *Phytophthora infestans* (Schumann & D'Arcy, 2013).



Figure 1.6. Des feuilles de pomme de terre avec différents niveau de résistance. Les génotypes les plus résistants (à gauche) contiennent un nombre extrêmement réduit de lésions et elles sont de petites taille, alors que ceux les plus sensibles (à droite) ont un nombre plus élevé de lésions et elles sont de grande taille (Schumann & D'Arcy, 2013).



La Résistance Qualitative

La résistance d'un certain nombre de génotypes d'une espèce végétale contre un certain nombre de génotypes (un ou plus) d'une espèce pathogène.

Remarque

Ici, il s'agit de qualifier la plante soit elle est résistante (pas de maladie) ou sensible (il y a maladie)

Attention

La résistance qualitative est contrôlée par un seul gène : résistance monogénique

Ce gène confère une résistance totale (100%) contre une race (un génotype) du pathogène.

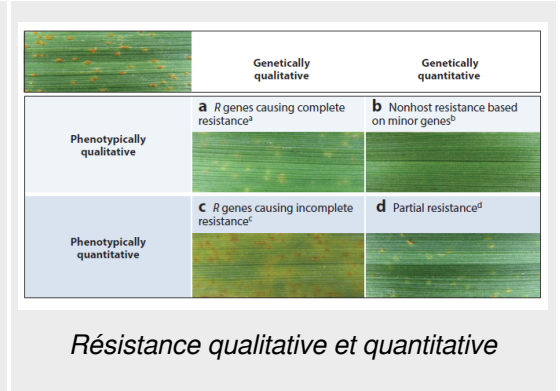
Les autres génotypes de cette espèce dépourvus de ce gène sont sensibles à cette race du pathogène.

La Résistance Quantitative

C'est la résistance de tous les individus d'une espèce contre tous les individus du pathogène jusqu'à un certain niveau. Cette résistance n'est pas totale. Elle est partielle. Elle est contrôlée par plusieurs gènes. Chaque gène contribue avec une partie à cette résistance.

C'est une résistance qu'on peut quantifier : plante résistance à 40% par exemple.

Figure 1.7 La résistance qualitative et quantitative (Niks et al., 2015^{**})



3. Hôte Marginal

🔍 Définition

Ce sont les espèces dont presque tous les génotypes sont résistants à un pathogène, mais quelques uns uniquement montrent un niveau de sensibilité, généralement moindre que chez l'hôte principal de ce pathogène

4. La Résistance Préformée

🔍 Définition

C'est l'ensemble de caractères que la plante développe naturellement en absence de n'importe quel contact avec le pathogène et qui contribuent à la résistance de la plante contre le pathogène.

La résistance préformée, est appelée aussi constitutive ou passive. Elle est constituée par les structures et molécules existantes déjà dans la plante avant l'infection :

Trichomes

Cire sur les feuilles (assurant un degré d'hydrophobie) pour éliminer la stagnation de l'eau sur les feuilles,...

Paroi cellulaire : cellulose, pectines,...

Anticipines, ... : polyphénols, flavonoïdes,...

4.1. Rôles

La résistance préformée (passive, constitutive) a comme rôle de rendre la plante résistante à la majorité des pathogènes potentiels. Elle assure l'incompatibilité entre la plante et la majorité des pathogènes potentiels.

4.2. Types de la Résistance Préformée

Il y a deux types, par rapport à leur nature :

4.2.1. La Résistance Chimique

Il s'agit de toute molécule synthétisée par la plante avant la détection de la présence d'un agent pathogène et qui assure un certain degré de résistance de la plante contre les différents agents pathogènes potentiels.

Figure 1.8. L'antracnose de l'oignon (causée par *Colletotrichum circinans*) affecte surtout les oignons de couleur blanche. Les rouges sont généralement plus résistants à cause des molécules biochimiques qui couleurent leurs bulbes (Schumann & D'Arcy, 2013*).



4.2.2. La Résistance Physique

Ce sont les différentes structures physiques de la plante qui assurent aussi une défense de la plante contre la majorité des agents pathogènes potentiels.

Figure 1.9. Ce poivre ayant une surface couverte de cire rend le fruit hydrophobe empêchant la stagnation de l'eau sur sa surface et ainsi empêchant les spores de pathogènes de germer (Schumann & D'Arcy, 2013).



Figure 1.10. Les cellules épidermiques de tubercule de pomme de terre contiennent du subérine qui renforce leur paroi offrant une très bonne défense contre plusieurs agents pathogènes. Les lenticelles (flèches) sont d'habitude discrètes et invisibles, élargissement dans les sols humides, offrant un point d'entrée pour les pathogènes (Schumann & D'Arcy, 2013).



5. La Résistance Induite

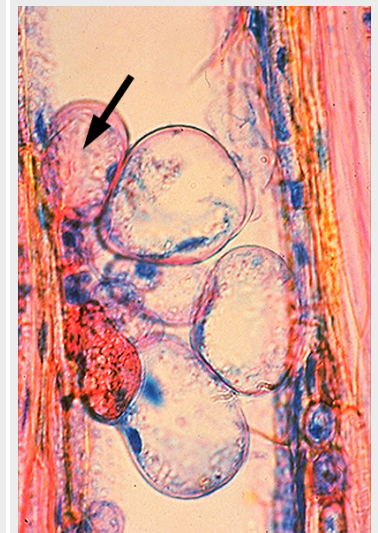
Définition

C'est la résistance qui résulte de la détection du pathogène par la plante. Elle se manifeste comme post infectionnel après contact avec le pathogène.

Figure 1.11. La formation des papilla est un mécanisme de défense physique induite. La papilla (flèche) est formée autour de l'hyphe fongique (Pointe de pénétration) au niveau de site de pénétration essayant d'empêcher le pathogène de pénétrer (Schumann & D'Arcy, 2013*).



Figure 1.12. Les tyloses sont aussi des structures de défense induites après la détection de pathogène (Schumann & D'Arcy, 2013*).



Pour déclencher les réponses de défense, les plantes ont besoin de détecter et de reconnaître les pathogènes. Au cours de l'évolution, elles ont développé différents mécanismes pour reconnaître les différents microorganismes et les classer entre bénéfique, neutres, et pathogènes. Les réponses défensives sont déclenchées uniquement dans le cas de reconnaissance d'une tentative de pénétration (infection) par les agents pathogènes.

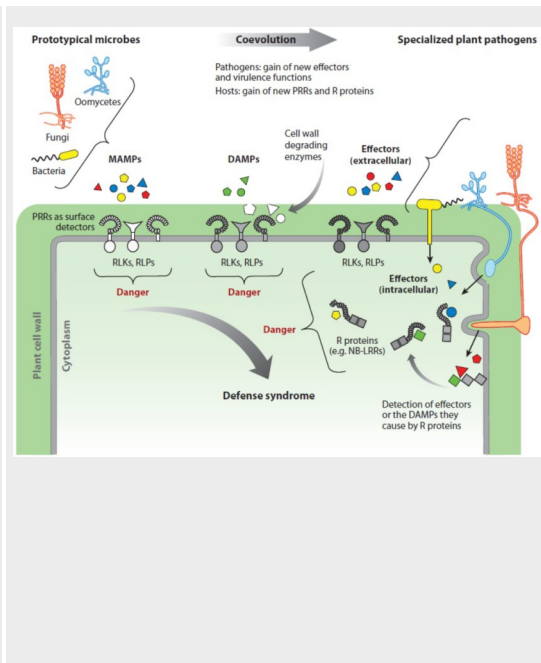
La plante arrive à reconnaître les agents pathogène par la détection de leur signature, qu'on appelle : éliciteurs. Parce qu'ils induisent les défenses de la plante. Il y a plusieurs types d'éliciteurs :

1. Motifs Moléculaires Associés aux Microbes (Microbe-Associated Molecular Patterns: MAMPs) : Ce sont des molécules synthétisées par les différents microorganismes. Ces motifs moléculaires sont communs entre les différents groupes de microorganismes.
2. Motifs Moléculaires Associés aux Pathogènes : Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) : Ce sont ces molécules communes entre plusieurs groupes de pathogènes uniquement. Les microorganismes non pathogènes ne produisent pas ce type de molécules.

3. Motifs Moléculaires Associés aux Dommages (produits par les pathogènes) : Damage-Associated Molecular Patherns DAMPs : Ce sont ces molécules qui résultent de l'interaction entre l'agent pathogène et la plante, par exemple, sous l'action des cutinases sécrétées par le pathogène, pour dégrader la paroi cellulaire végétale, il y a production de monomère de cutine. Ces monomères de cutine sont reconnus par la plante comme des DAMPs indiquant la présence du pathogène.

4. Effecteurs

Figure 1.13. Les éliciteurs de types MAMPs, même ceux issus de l'interaction entre la plante et le pathogène (DAMPs) et les effecteurs sont perçus par la plante comme des signaux de danger. Les MAMPs/PAMPs ainsi que les DAMPs sont détectés par les récepteurs de reconnaissance de motifs (*Pattern-Recognition Receptors* (PRR)). Au cours de l'évolution, les pathogènes acquièrent les effecteurs comme facteurs de virulence, aussi les plantes évoluent et développent les protéines de résistance dont le rôle est de détecter et de reconnaître les effecteurs (Inter ou intracellulaires). Après reconnaissance des éliciteurs et des effecteurs par les PRR et les protéines R, La plante déclenche les mécanismes de défense. RLK : *Receptor-Like Kinase*, RLP : *Receptor-Like Protein*, NB-LRR : *Nucleotide-Binding Site Leucine-Rich Repeat* (Boller & Felix, 2009^{*}).



🔗 *Fondamental : Eliciteurs et Effecteurs*

Dans ce document, le terme éliciteur est utilisé comme l'équivalent en anglais des MAMPs, PAMPs et DAMPs. Le terme éliciteur n'inclue pas les effecteurs.

Il y a deux types de la résistance induite, en se basant sur le type de molécule reconnue par la plante et qui trahit la présence du pathogène :

5.1. La Résistance Induite par les Éliciteurs

🔗 *Définition : Un Eliciteur*

Un éliciteur est toute molécule produite par le pathogène ou issue de l'interaction entre le pathogène et la plante permettant à la plante de détecter la présence du pathogène

🔗 *Définition*

C'est la résistance induite par la détection de la présence du pathogène à travers la reconnaissance d'une ou plusieurs molécule(s) élicitrice(s) du pathogène par la plante.

5.2. La Résistance Induite par les Effecteurs

C'est la résistance induite par la détection de la présence du pathogène à travers la reconnaissance d'un effecteur par la plante.

💡 *Fondamental : Les Effecteurs et Les Protéines d'Avirulence*

Maintenant on considère que les protéines Avr sont une classe des effecteurs.

Les Protéines Avr sont des effecteurs qui peuvent être détectées par la plante via les protéines R, et par conséquent vont induire les réactions de défense de la plante vis-à-vis du pathogène. Ce type de résistance est appelée Résistance Induite par les Effecteurs (*Effector Triggered Immunity* : ETI).

5.3. Exploitation de la Résistance Induite

Les plantes, après une exposition à un stress (abiotique ou biotique) développent des réponses qui vont les aider à faire face à ce stress. Généralement ce dernier va déclencher des mécanismes de résistance qui seront efficaces contre plusieurs stress.

Figure 1.15. Stratégie d'induction de la résistance (Wilkinson et al., 2019*).

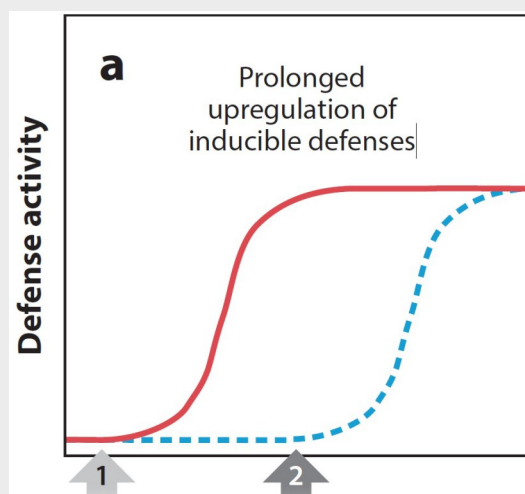


Figure 1.16. Stratégie d'induction de la résistance (Wilkinson et al., 2019*).

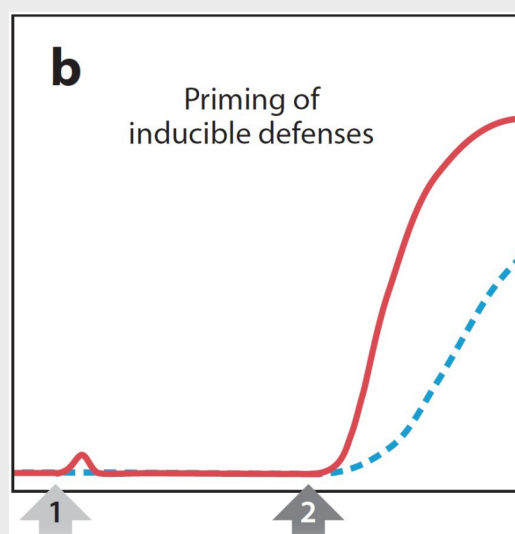
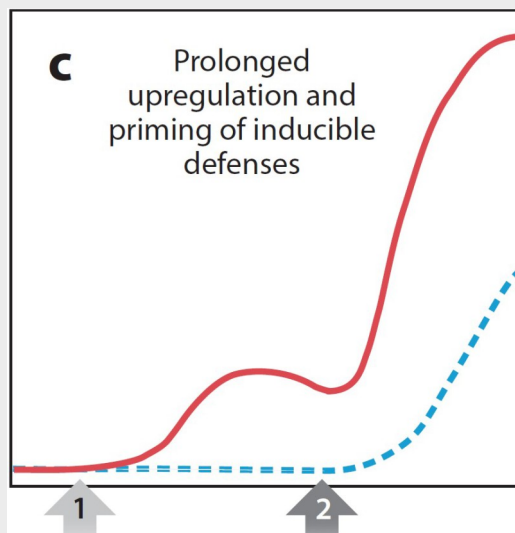


Figure 1.17. Stratégie d'induction de la résistance (Wilkinson et al., 2019*).



6. La Durabilité de la Résistance

On qualifie une résistance de durable uniquement si

C'est la résistance qui reste efficace durant un longue période après utilisation à grande échelle de la résistance et dans un environnement favorable au pathogène

7. Évolution de la Résistance Hôte et non-Hôte

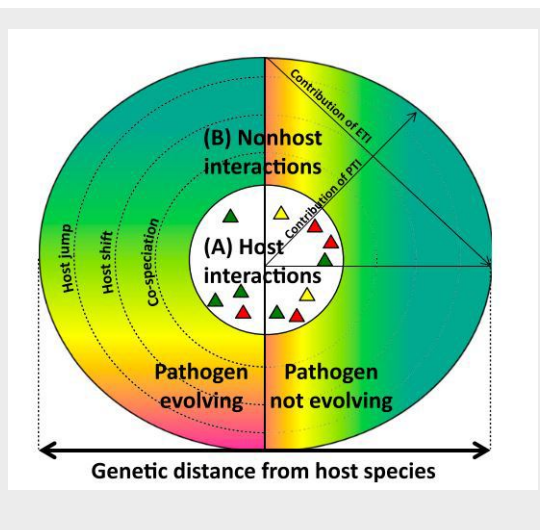


Figure 1. 18. L'évolution de la résistance hôte et non-hôte (Gill et al., 2015).

Figure 1.19. Les stratégies à long et à court terme utilisées par la plante pour s'adapter aux différents stress

(Wilkinson et al., 2019*).

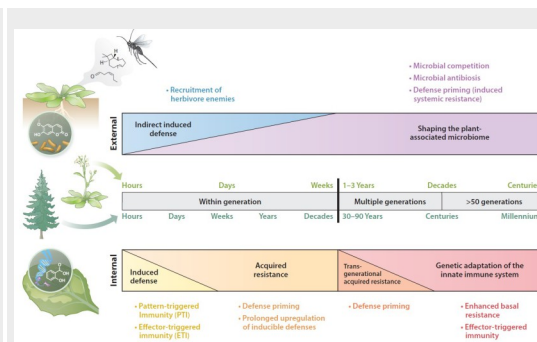
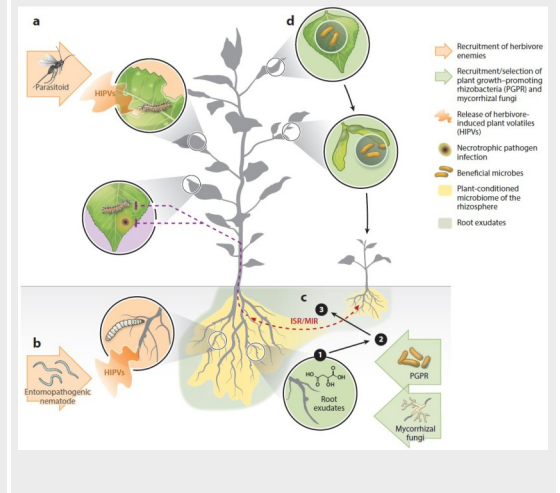


Figure 1.20. Stratégies externes utilisées par la plante pour résister aux différents facteurs de stress biotiques et abiotiques (Wilkinson et al., 2019*).



II Les Eliciteurs

1. Introduction

🔍 Définition

Un éliciteur est toute molécule produite par le pathogène ou issue de l'interaction entre le pathogène et la plante permettant à la plante de détecter la présence du pathogène

Pour détecter la présence du pathogène, la plante a besoin d'un ou de plusieurs marqueurs plus ou moins spécifiques aux pathogènes. Le degré de spécificité de cette molécule (marqueur) va permettre à la plante d'identifier le pathogène et de répondre de manière spécifique et/ou générale

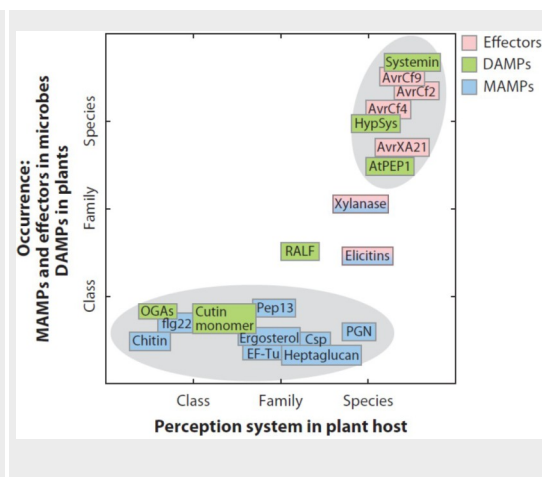
2. Les Différents Types d'Éliciteurs

les éliciteurs peuvent être classés selon leurs degrés de spécificité ou bien selon leur origine :

2.1. Selon leur Spécificité

La spécificité des éliciteurs varie selon le degré de conservation de cette molécule chez les différentes classes taxonomiques. Elle varie entre des molécules très spécifiques, jusqu'au niveau de la race, aux molécules très ubiquistes, commune à tous les membres d'un règne.

Figure 2.1. Le degré de spécificité des différents types d'éliciteurs. Les MAMPs (and PAMPS) sont présents chez plusieurs microorganismes, généralement on les trouve chez les classes taxonomiques des pathogènes, par exemple : la chitine chez les champignons,... Les DAMPS peuvent être spécifiques comme dans le cas de la systemine ou bien commune chez plusieurs classes de plante comme c'est le cas des monomères de cutine. Les effecteurs sont spécifiques (Boller & Felix, 2009*).



2.1.1. Les Éliciteurs Généraux

Ce sont les molécules qui indiquent la présence d'un pathogène.

Ces molécules sont, en général, commune entre plusieurs espèces de pathogène.

Exemple

La chitine chez les champignons

Remarque

En anglais, on parle de PAMPS : Pathogen associated molecular pathern.

Ce sont ces éliciteurs communs entre plusieurs groupes de pathogènes. Par exemple, les molécules communes entre tous les champignons pathogènes, les molécules communes entre les bactéries phytopathogènes,...

Remarque

Pour les molécules commune entres les microorganismes pathogènes et non-pathogènes on parle, en anglais de "MAMP".

MAMPS : Microbial Associated Molécular Pattern.

2.1.2. Les Éliciteurs Spécifiques

Ce sont ces molécules qui permettent à la plante de reconnaître l'agent pathogène, au niveau même de la race.

Exemple

Les effecteurs sont des éliciteurs très spécifiques.

2.2. Selon Leur Origines

2.2.1. Les Éliciteurs Issus du Pathogène

Ce sont les molécules qui indiquent la présence du pathogène.

Leur spécificité varie en fonction de la molécule (voir le point précédent).

2.2.2. Les Éliciteurs Issus de l'Interaction Plante-Pathogène

Ce sont les molécules qui résultent de l'interaction entre le pathogène et la plante

Exemple

Le glucose : C'est le résultat de la dégradation de la cellulose (de la plante) par les cellulases (du pathogène).

a) Les Éliciteurs Constitutives

Ce sont ces molécules qui existe dans la plante même avant l'arrivée du pathogène et elles sont libérées suite à l'action de ce dernier

Exemple

Les molécules de glucose, cellobiose,

b) Les Éliciteurs Induits

Ce sont ces molécules synthétisées par la plante suite à l'infection par le pathogène et dont le rôle est d'induire (éliciter) des réponses immunitaires.

III Les Gènes de Résistance

1. Introduction

Les gènes de résistance jouent un rôle primordial dans la résistance des plantes aux maladies. La majorité de ces gènes sont dominants. Uniquement un nombre de ces gènes est récessifs. Les gènes de résistance assurent une protection totale ou partielle contre un ou plusieurs pathogènes.

Figure 3.1. Le nombre de gènes de résistance clonés (jusqu'au 2018). Le premier est le gène *Hm1* en 1992 chez le maïs. Le gène *Hm1* code pour une protéine qui détoxifie la toxine de *Helminthosporium carbonum*, la HC toxine. Le deuxième était le gène *Pto* de la tomate, assurant la résistance contre *P. syringae* pv. *tomato* en 1993. Puis le gène *Cf-9* aussi de la tomate, contre *Cladosporium fulvum* en 1994. Depuis, des centaines de gènes de résistance ont été clonés.

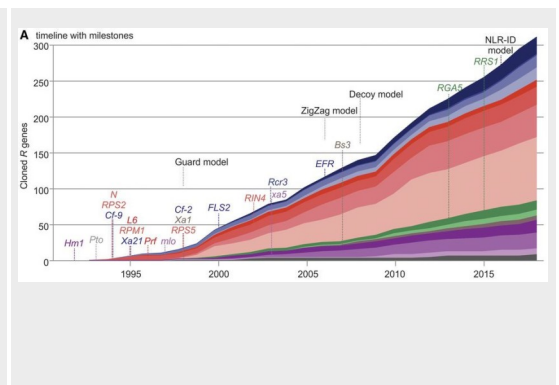
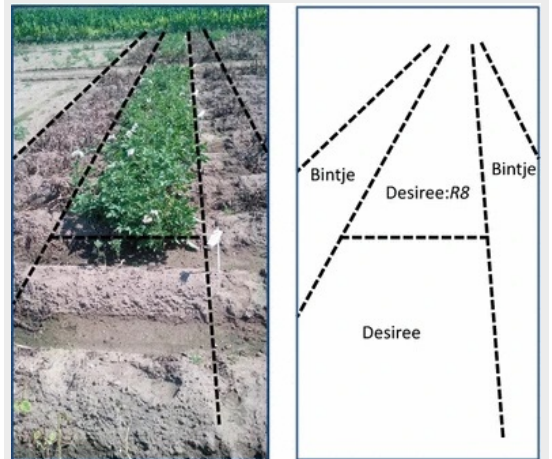


Figure 3.2. Effet des gènes de résistance sur l'interaction plante-pathogène. La variété désirée de la pomme de terre a été transformée génétiquement en introduisant le gène de résistance R8 contre le mildiou (désirée :R8) dans un essai en plein champ. Les variétés désirée et bintje sont des variétés sensibles au mildiou à leur état naturel. Désirée transformée (Désirée : R8) est résistante (au milieu, tandis que désirée et bintjé sont dévastées par la maladie (Vossen et al., 2016).



🔍 Définition

Un gène de résistance (*R*) est tout gène qui détermine une différence dans la sensibilité à un pathogène (Michelmore et al., 2013).

L'un des modèles qui explique la résistance des plantes aux pathogènes est le modèle gène-pour-gène. Il stipule que dans une interaction plante-pathogène il y aura une résistance que s'il y a reconnaissance entre un gène de

résistance dominant (*R*) de la plante et un gène d'avirulence dominant (*Avr*) de la part du pathogène. Ou bien, pour chaque gène de résistance (*R*) il y a un gène d'avirulence (*Avr*). Ce modèle développé par Flor, (1971) est maintenant considéré comme trop simplifié.

Maintenant, on sait que pour reconnaître un pathogène, des fois la plant a besoin de plus d'un gène de résistance, en plus des récepteurs (Pattern Recognition Receptors (PRR)) qui sont à la membrane et qui sont responsable de détecter les pathogènes en se basant sur la reconnaissance des éliciteurs (PAMPS et DAMPS) (voir les chapitres : Eliciteurs et Reconnaissance, dans ce cours, et le chapitre : Effecteurs dans le cours "Mécanisme de pathogénicité"). Aussi, dans certaines situations, un seul gène de résistance est responsable de la résistance d'une plante contre plusieurs agents pathogènes.

Figure 3.3. Nombre de gène de résistance clonés par plante hôte (Kourelis & van der Hooft, 2018*).

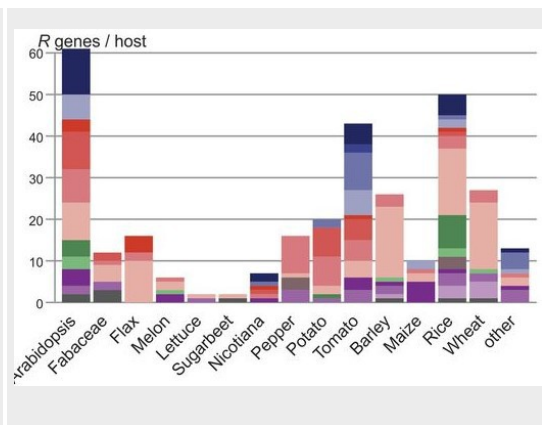


Figure 3.4. Phylogénie de certaines plantes et la quantité des gènes de résistance que chaque plante ait (Barragan & Weigel, 2021*).

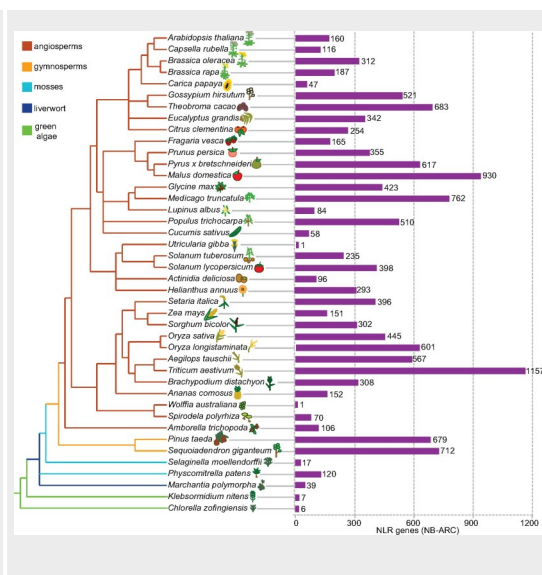


Figure 3.5. Le nombre de gènes de résistance (NOD-like receptor, NLR) par rapport au génome de certaines espèces végétales (Borrelli et al., 2018*).

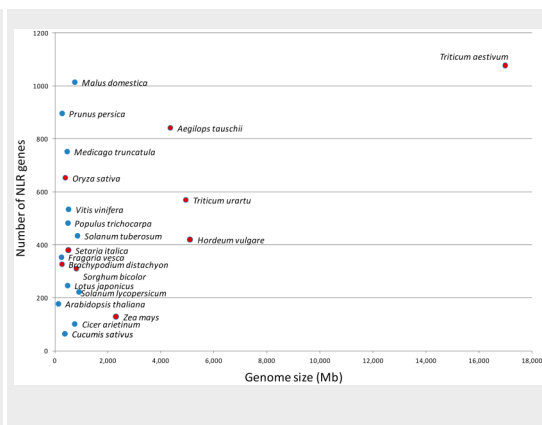


Figure 3.6. Le nombre de gènes de résistance clonés (Kourelis & van der Hooft, 2018*).

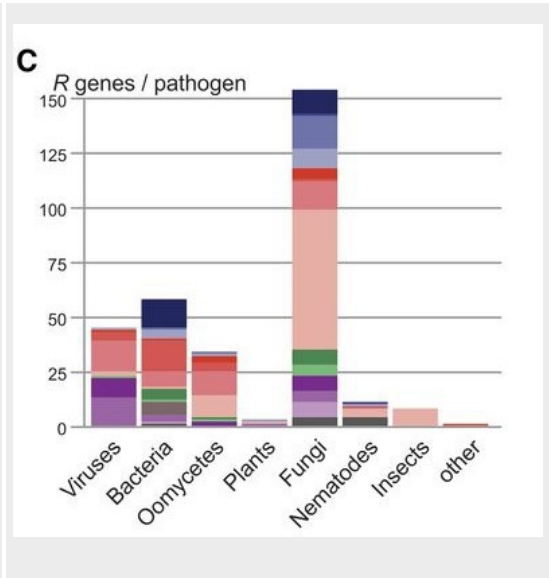


Figure 3.7. Schéma de la structure d'une protéine de résistance NB-LRR typique (Lukasik & Takken, 2009).

Légende : Orange : domaine CC-TIR, Rouge : NB, Rose : ARC1, Bleu : ARC2, Vert : LRR ; les motifs conservés sont représentés sous forme de lignes, dont les séquences sont affichées à côté de chacun.

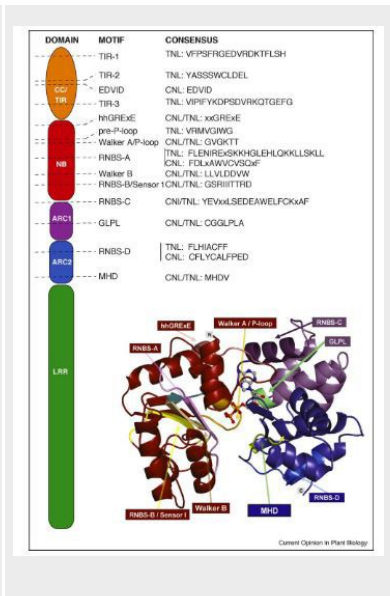
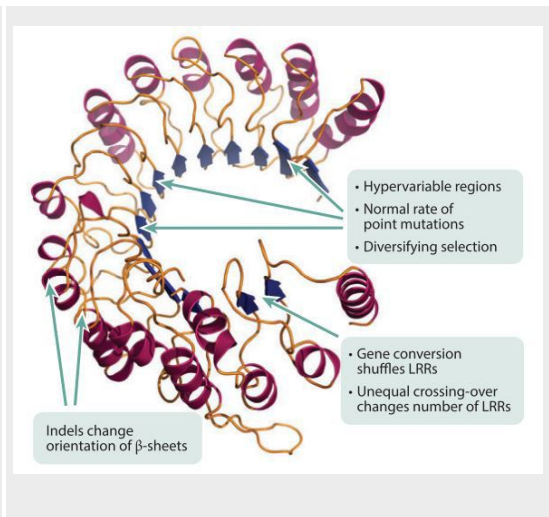


Figure 3.8. Schéma de la partie C-terminale du fragment Leucine Rich Repeat (LRR) du gène Dm3 de la laitue illustrant les événements probables en cas de changement de la spécificité de fixation (Michelmore et al., 2013).



Exemple

Le blé a besoin de 2 gènes de résistance : *Lr10* et *RGA2*, pour induire une résistance contre la rouille, Chez la tomate, le gène *Cf-2* confère la résistance contre *Cladosporium fulvum* et un nématode,

Aussi chez la tomate, le gène Mi assure la résistance contre un nématode, puceron et un aleurode (mouche blanche).

2. Caractéristiques des Gènes de Résistance

2.1. Les Séquences Hautement Conservées

Les gènes de résistance sont composés de séquence d'ADN. Certaines de ces séquences sont hautement conservées. Elles ne changent pas même à travers les différentes espèces et familles botaniques de plantes.

Généralement, un gène contient au moins une séquence hautement conservée.

Les séquences hautement conservées les plus rencontrées sont les suivantes :

Figure 3.9. Sequence d'acide aminées des régions hautement conservées du gène *R8*, gène de résistance de la pomme de terre contre l'agent causal du mildiou *P. infestans*. (Vossen et al., 2016*).

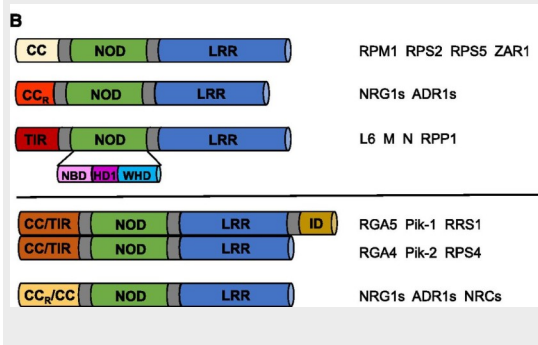
```

CC MNENEIEEMLDHLRRRIKIEGNLDFFKIRRIIGDLDIVLRFVFTFIKYHVLLPDCFVKLTMAE
WTVEMLHRVFDGISDECKTNLNLERLESHLEFFEGNSSLSYNELNDFLSKYMDCLEKIL
NDVLMFLKGRSCYPIEKLAIQLSIRKLRIVQKKMIFLRYTYTTEINGNVNVEKLECLETR
IQFIAMTVGGFLAVLDYVADIEFSNDNDFNIPPLYLSLIVFVELEMKKIFHGELKVSFT
QSKTFKDKLRFESDLYLMLYLRNEKLENFENNISAQNDVAIEFLVFLDADVSNHVI
NGNNLNEVLKVGAIAGDILYVIQKLLPRSNKDDTSKISFCISIQLEKTKDLKAQVETYYK
SLKFTPSQFPTEGGLSPLDSLRLKLNEMSKSKGLDFLMPKLLGNLEKELSSLTSILEKELS
SIFRIVVHHEHKIPKDLQRRITNLAIEAIVDSILAQYNFLHFCSLPTLILKRIKQINAE
VTEMWSANIFLNPRYVAAPFKHLPARHSNLVTDEEVVG 534

NB - ARC FENKAELIGYLIRGTNELDVIPIVGGGQKTTIARKLYNNDIIVSRFNVRWCIIISQTSY
RRELLQEIFSQVTGSKDKEVGLADRLRSLMGKRYLIVLDDMDCMVWDDLRLSFPDDG
IRSRIVVTRLEEVGKQVKNHTDPYSLPFLTKECQLQKVFQKEDCCPELQVVSQVAE
KCKGLELVVVLVAGIIRKRMEEESWNEVKDALFDYLDSEFEESYSLATMQLSFDNLADCLKP
CLLYMGFLEDARIPVSKLISLWIAEGFVENTESGRLEEMEEAEGYMLDLISSNVVIVSKGY
NGVKCCQVHDVVHVFCLKRSREERFMLAVKQYIQOPLDWDKGRSVSFSF 895

LRR SEELSKFASLVSKTKRPFHQHLS
LITANGGESSLDIIPVCO
INEERLLKVLDSYYSIMLAR
INPQLKYLAVNAGTFYFDP
QSHLPHIETLIVTSCFYGVRLPVSFWE
MEKLRHVHFAGAGFAMQGLFEGSSKLEN
LRILKIEEPIDRDLVSRRCFNLQQLQITFEDDVEFPCK
LESITQELQISFVHPRILSG
LQLPSNMLKLVKGIHMESAIPIAE
LPSLEYQLLVCFPQSEWCLGDIT
FHKLKLKLVQINISKWDAE
EESFPLETLVIRKCDLEEIPLS
FADIPSLKQIKLIGSWKVSMEASAVRIKEEVEEIEGCDRIDLVRRSRDD 1245
    
```

Figure 3.10. Structure des différents gènes de résistance (Wang & Chai, 2020).



2.1.1. Leucine Riche-Repeat

Il s'agit d'une séquence très riche en acide aminé Leucine. Ce motif se répète plusieurs fois. Alors, c'est un fragment d'ADN riche en Leucine et ce fragment est répété en plusieurs copies dans le même gène.

2.1.2. Nucleotide Binding Site

C'est le domaine où s'attache une molécule d'ATP/ADP pour l'activation de la protéine de résistance

2.1.3. Coiled Coil (Leucine Zipper)

Il s'agit d'une queue en hélice.

2.1.4. TIR Domain

C'est domaine qui ressemble au gène *Toll* qui contrôle le phénotype de gigantisme chez la Drosophile. Il est aussi impliqué dans l'immunité de la Drosophile, et aussi au domaine *Interleukin* chez les mammifère.

2.1.5. Protein Kinases

C'est un domaine où s'attache le phosphore. Il est impliqué dans la signalisation.

3. Rôles des Gènes de Résistance

Les gènes de résistance ont le rôle de coder pour des protéines de résistance.

Ces protéines, appelées protéines de résistance ont le rôle de détecter et de reconnaître l'agent pathogène.

Figure 3.11. Interaction des protéines d'avirulence (virulence) avec les protéines de résistance (Ali et al., 2013^{*}), selon la théorie gène-pour-gène.

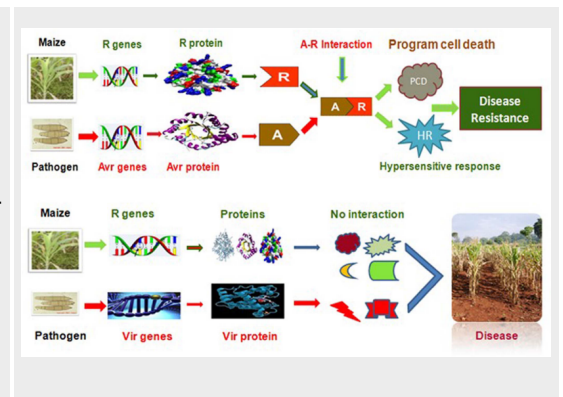
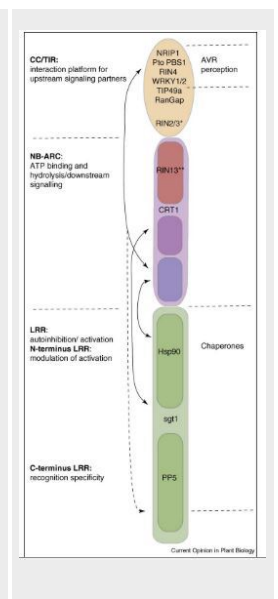


Figure 3.12. Rôles de certains domaines constituant les protéines de résistance NB-LRR (Lukasik & Takken, 2009).



💡 Fondamental

Les gènes (Protéine de résistance) de résistance n'ont aucun rôle dans le processus de "tuer" le pathogène. Ces protéines ont le rôle de détecter le pathogène.

4. Classification des Gènes de Résistance

Les gènes de résistance ont été classés selon les séquences d'ADN hautement conservées qui les composent. Plusieurs classifications ont été faites, mais toutes ont été basées sur la ressemblance de séquences hautement conservées dans ces gènes.

 *Attention*

La classification des gènes de résistance varie considérablement selon les auteurs.

4.1. Classification Selon les Séquences Conservées

4.1.1. Classe I

Cette classe est caractérisée par la présence d'un domaine N-terminal variable, la présence d'un domaine "Nucleotide-Binding Site" (NBS=Site d'attachement de nucléotides) hautement conservé, et qui participe dans la transduction de signal après une interaction entre la plante et un pathogène. En plus, il y a un domaine "Leucine-Rich Repeat" (LRR=domaine riche en leucine répétée) contenant un nombre variable de répétitions dans le C-terminal. Ce dernier est responsable de la reconnaissance du pathogène.

Fondamental

Les gènes de cette classe sont appelés : NB-LRR, NB-ARC ou bien NBS-LRR. C'est la classe la plus répandue des gènes de résistance. Elle contient plus de la moitié des gènes de résistance des plantes (61% des gènes clonés sont de ce type).

Les gènes de cette classe codent pour des protéine cytoplasmiques , de grande taille (de 860-1900 acides aminés).

Cette classe est divisée en 2 sous classes :

Remarque

Dans la littérature scientifique actuelle, on parle de NLRs et NODs pour désigner les gènes de résistance appartenant à cette classe.

a) Sous Classe TNL

Attention

TNL= Toll Interleukin Receptor (TIR) Nucleotide-Binding Site (NBS) Leucine-Rich Repeat (LRR)

Complément : Le Gène Toll

Le gène Toll est un gène de la drosophile. Le nom *Toll* vient de l'allemand vernaculaire, et signifie super ou fantastique. Il a été utilisé au début des années 1980 par C. Nu'sslein-Volhard pour qualifier le phénotype d'un nouveau mutant découvert dans son criblage de mutagenèse pour disséquer les voies génétiques contrôlant développement embryonnaire chez la mouche des fruits *Drosophila melanogaster*.

Il a fallu plusieurs années aux chercheurs pour se rendre compte que le récepteur Toll (codé par ce gène) a aussi des fonctions immunitaire chez les drosophiles adultes et que ces orthologues chez les mammifères jouent un rôle clé dans l'immunité innée.

Complément : Interleukin

Le terme interleukine dérive de "inter" : en tant que moyen de communication", et "leukine" : dérivant du fait que beaucoup de ces protéines sont produites par les leucocytes et agissent sur les leucocytes".

Les protéines de ce type ont été observées la première fois dans les globules blanches (leucocytes).

Les protéines de la sous classe TNL ont un domaine de signalisation intracellulaire Toll dans la région N-terminale et au récepteur Interleukin-1 (IL-1) des mammifères.

b) Sous Classe CNL

Attention

CNL= Coiled-Coil (CC) Nucleotide-Binding Site (NBS) Leucine-Rich Repeat (LRR)

Les protéines de cette sous classe contiennent au moins un domaine sous forme d'une queue en spirale (Coiled-Coil) dans la région N-Terminale.

4.1.2. Classe II

Les gènes de cette classe codent pour des protéines ayant un domaine transmembranaire (TM) associé à un domaine LRR extracellulaire, avec un motif cytoplasmique court dans la région C-terminal, et sans domaine kinase.

Exemple

Les gènes de résistance de la tomate contre l'agent de la cladosporiose, *Cladosporium furvum* : Cf-2, Cf-4, Cf-5 et Cf-9.

4.1.3. Classe III

Les gènes de la classe III sont caractérisée par un domaine LRR extracellulaire, une région TM et un récepteur Serine /Threonine Kinase (STK).

Exemple

Les gènes de ce type on les trouve chez *Arabidopsis thaliana* (600 gènes) et *Oryza sativa* (1 100 gènes) assurant la résistance de ces 2 espèces aux différentes races de la bactérie *Xanthomonas*.

4.1.4. Classe IV

Les gènes de cette classe ont un domaine STK (Serine/Threonine Kinase). Connus aussi comme kinases. Les protéines codées par les gènes de cette classe sont des protéines cytoplasmiques. Elles sont caractérisées par une kinase cytoplasmique active qui phosphoryle les résidus sérine et thréonine.

Exemple

Les gènes de résistance *Pto* de la tomate contre la bactérie *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

4.1.5. Classe V

Les gènes de cette classe codent pour des protéines ayant domaine menu d'une queue en spirale (CC) et qui sont attachées à la membrane cellulaire. Certaines protéines ont un domaine TM et un domaine CC.

Exemple

Le gène *Hm1* du maïs contre *Cochliobolus carbonum*,

Le gène *Mlo* de l'orge contre l'oïdium, et le gène *RPW8* (*A. thaliana*) contre l'oïdium.

5. L'Évolution des Gènes de Résistance

En écosystèmes naturels, les gènes de résistance sont en constante évolution suivant l'évolution des effecteurs des pathogènes.

Figure 3.13. Évolution des gènes de résistance en interaction avec les effecteurs des pathogènes. La co-évolution de type course à l'armement entre les gènes de résistance de la plante (ici NLRs) et les effecteurs du pathogène. La reconnaissance directe des effecteurs par les protéines de résistance peut conduire à la diversification et à l'expansion du pool d'effeteur du pathogène et des gènes de résistance dans une population d'hôte et du pathogène respectivement. Dans un processus itérative, le pathogène est forcé à diversifier et à élargir son répertoire d'effeteur pour éviter la reconnaissance par les protéines de résistance existantes chez la plante hôte (étapes 1 et 4). De l'autre coté, la plante va diversifier et élargir sa gamme de gènes de résistance en réponse à l'expansion du répertoire d'effecteurs du pathogène (étapes 2 et 5) et par conséquent, les allèles codant pour des variants de protéines de résistance efficaces dans la détection et reconnaissance d'effecteurs du pathogènes seront sélectionnés et maintenus dans la population (étapes 3 et 6) (Saur et al., 2020*).

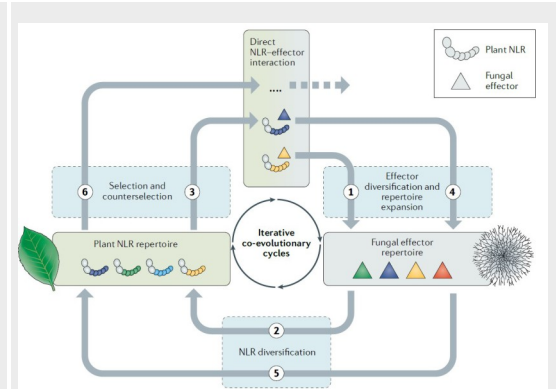


Figure 3.14. Exemples de changements possibles dans la sequence génomique et dans l'organisation dans le cas des gènes individuels et en cluster durant l'évolution (Barragan & Weigel, 2021).

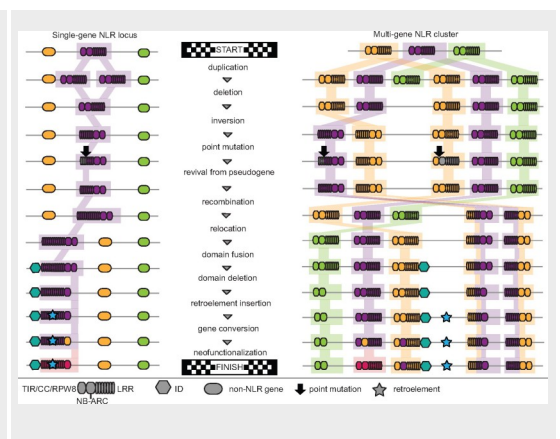


Figure 3.15. Des exemples de variations alléliques dans un locus individuel de gènes de résistance. P/A : Présence/Absence ; R/S : Resistant/Sensible (Barragan & Weigel, 2021).

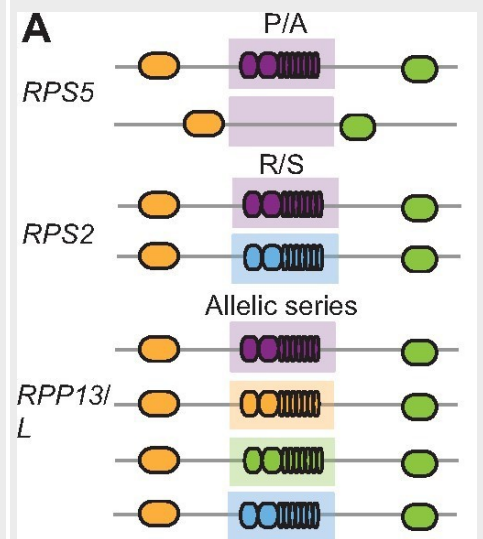


Figure 3.16. Le cluster RPP4/RPP5 de gènes de résistance dans 8 accessions différentes d'*Arabidopsis thaliana*. Les rectangles longs représentent les gènes R et les rectangles courts ne sont pas des gènes R. Les couleurs indiquent la ressemblance des séquence. Il y a une diversité importante dans le nombre de rectangles bleus des gènes R dans le cluster. Dans le gène RLM3 adjacent (violet), il y a un polymorphisme de présence/absence. Pour le cluster RPP4/RPP5 a été envahi par d'autres gènes R qui n'ont aucune relation avec les gènes du cluster (en jaune). d'autres gènes (vert, rose) qui ne sont pas des gènes R se sont enserrés et dupliqués dans le cluster (Barragan & Weigel, 2021).

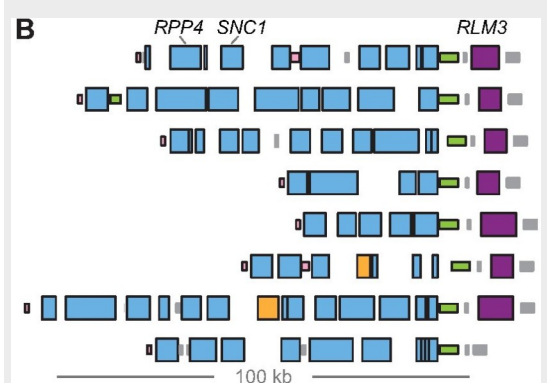
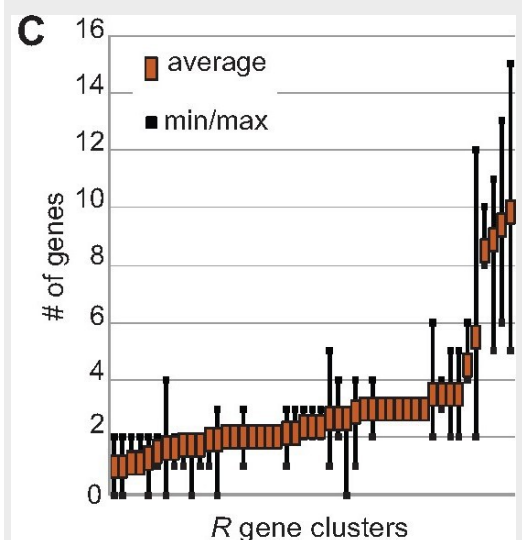


Figure 3.17. Le nombre de clusters de gènes R par génotype dans 8 accessions d'*Arabidopsis thaliana*. La moyenne est 3, mais certaines accessions ont plus de 10 clusters de gènes R (Barragan & Weigel, 2021).



IV Les Gènes de Sensibilité

1. Introduction

Les Gènes de Sensibilité

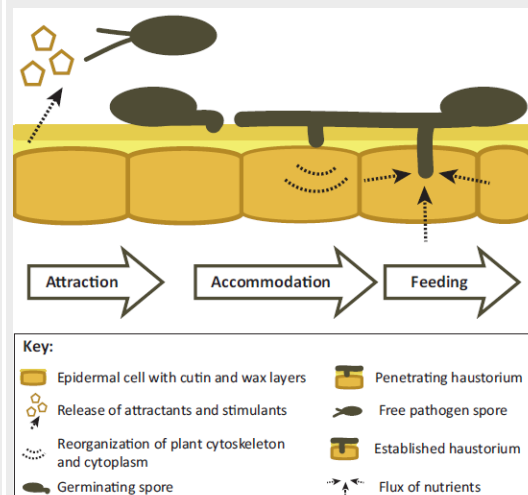
🔍 Définition

Les gènes de sensibilité sont les gènes codant pour des protéines/molécule facilitant l'infection et/ou la colonisation et la survit du pathogène chez une plante hôte

Figure 4.1. Le gène *PMR6* est associé avec la sensibilité à l'oïdium chez *Arabidopsis*. Semis d'*Arabidopsis* inoculés avec *Erysiphe cichoracearum*. Le type sauvage (à droite) présente des symptômes caractéristiques de l'oïdium. Le mutant *pmr6* (à gauche) est complètement résistant à l'infection et ne développe pas de symptômes de la maladie, même s'il ne présente aucune des caractéristiques bien définies de la défense des plantes (telles que la mort de la cellule hôte), ce qui suggère que *PMR6* code pour un facteur de sensibilité de l'hôte.



Figure 4.2. La plante hôte promouvrait l'infection et le développement du pathogène. La plante hôte ayant des gènes de sensibilité attire, favorisent l'infection et l'installation du pathogène et ainsi sa fitness ((Lapin & Van den Ackerveken, 2013)*).

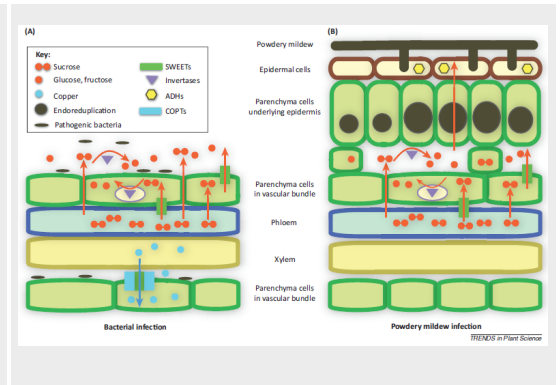


TRENDS in Plant Science

2. Le Mode d'Action des Gènes de Sensibilité

Les gènes de sensibilité jouent un rôle important dans la vie de la plante. Autrement, les plantes les auraient éliminés durant l'évolution. Les pathogènes utilisent la nécessité de ces gènes pour la plante pour faciliter l'infection.

Figure 4.3. Mode d'action des gènes de susceptibilité dans le cas d'agent pathogènes bactériens, fongiques ou oomycètes.



2.1. L'Installation du Pathogène

Une infection réussie et le développement de la maladie qui s'ensuit exigent que les agents pathogènes soient accueillis par la plante hôte, créant des niches favorables à la croissance et à la propagation.

Les pathogènes utilisent les gènes qui facilitent l'installation des microorganismes symbiotiques à leurs avantages. En réalité ils profitent de ces mécanismes. Les gènes communs de symbiose peuvent agir comme des gènes de sensibilité.

Chez *Arabidopsis*, la mutation de plusieurs orthologues de gènes de symbiose des légumineuses a entraîné une sensibilité réduite au mildiou.

La mutation des gènes *Medicago API* et *RAD1* a également perturbé la sensibilité à la racine infectant *Phytophthora palmivora*.

2.2. Création d'un environnement Favorable au Pathogène

Plusieurs pathogènes bactériens créent un environnement aqueux chez leur hôte. *Xanthomonas gardneri* active indirectement une pectate lyase dans la tomate et *Xanthomonas translucens* stimule la voie de biosynthèse de l'ABA dans le blé, entraînant toutes les deux une accumulation de liquide (*watersoaking*) qui est suggéré pour favoriser la multiplication et/ou la propagation bactérienne. L'activation de ces voies par les TALes est illustrée à la figure 1.

2.3. Le Maintien de l'Agent Pathogène

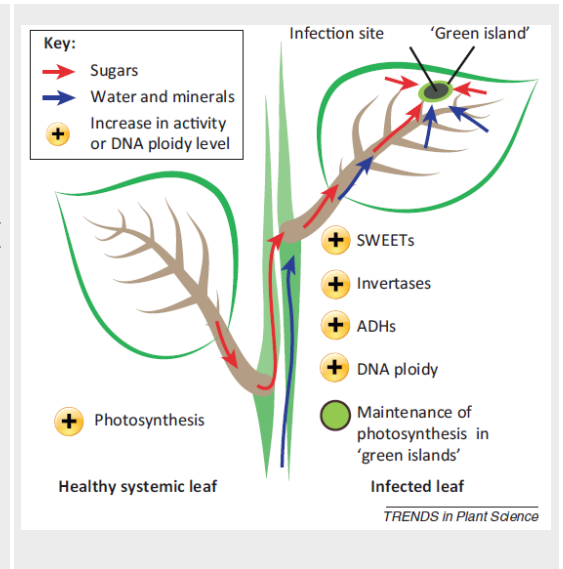
Une fois les infections établies, les agents pathogènes ont besoin d'un approvisionnement continu en nutriments et en facteurs cellulaires de l'hôte pour soutenir la colonisation de l'hôte.

Les transporteurs de sucre contribuent à la prolifération des agents pathogènes. Plusieurs espèces bactériennes détournent les systèmes de sécrétion de nutriments de l'hôte pour une reproduction efficace des agents pathogènes in planta, comme l'illustrent les exportateurs d'efflux de saccharose SWEET dans le riz. Leur induction transcriptionnelle par les effecteurs TAL de *Xanthomonas* est cruciale pour le développement de la maladie.

Le rôle des transporteurs de sucre SWEET dans la sensibilité semble être conservé chez d'autres hôtes, tels que le coton et le manioc, et dans les infections par des agents pathogènes dépourvus de TALE, par exemple, *Pseudomonas syringae*.

Ralstonia solanacearum détourne le métabolisme de l'hôte végétal pour la biosynthèse de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) afin de soutenir sa croissance.

Figure 4. 4. Flux de nutriments chez une plante attequée. Les nutriments sont transportés vers les "Îles vertes" (Lapin & Van den Ackerveken, 2013*). Les changements affectant la physiologie de la plante durant une infection par un pathogène obligatoire (biotrophe)



2.4. Régulation Négative du Système Immunitaire

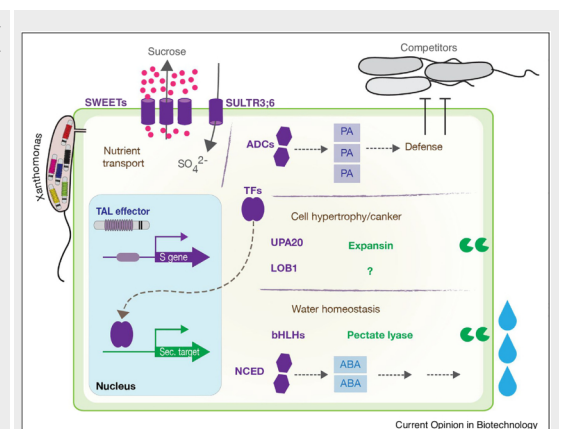
Vu qu'il y a un antagonisme entre la productivité des plantes et l'activation du système immunitaire, les plantes régulent ce dernier très soigneusement (voir chapitre sur la HR). Un groupe important de gènes *S* code pour les régulateurs négatifs de l'immunité que les plantes utilisent pour affiner les réponses de défense et limiter les compromis (entre résistance et productivité). Les mutants de ces gènes *S* présentent une résistance accrue, souvent à un plus large éventail d'agents pathogènes.

Certains régulateurs négatifs sont ciblés par des effecteurs des pathogènes pour stimuler leur effet suppresseur sur l'immunité des plantes.

3. Expression des Gènes de Sensibilité

L'expression des gènes de sensibilité est stimulée par le pathogène. Le pathogène utilise les effecteurs pour manipuler l'expression de ces gènes.

Figure 4. 5. Rôle des gènes *S* ciblés par les effecteurs TAL (*Transcription Activator-Like effectors*). Notre compréhension approfondie des mécanismes moléculaires sous-jacents à l'action des effecteurs TAL (TALe) a révolutionné la recherche de leurs cibles in planta. Parce que les TALes agissent comme de véritables facteurs de transcription eucaryotes dont les sites de liaison à l'ADN sont hautement prévisibles, les approches transcriptomiques combinées à la recherche de promoteurs cibles in silico permettent une identification rapide de leurs gènes candidats cibles. A tel point que près de 10 classes de gènes *S* ont été découvertes depuis l'élucidation du code TAL en 2009 [49,50]. Leur fonction est assez diverse, allant des transporteurs de saccharose (SWEET) et de sulfate, des enzymes impliquées dans la voie de biosynthèse de



divers composés comme les polyamines (arginine décarboxylases), l'ABA (9-cis-époxy-caroténoïde dioxygénase) ou encore de petits ARN (la méthyltransférase Hen1), à différents types de facteurs de transcription (LOB, bHLH, bZIP, ERF) impliqués dans le contrôle de divers phénotypes tels que l'élargissement de la cellule hôte, la formation de pustules, l'eau, etc. On s'attend à ce que d'autres catégories de gènes S soient découverts en tant que nouveaux effecteurs TAL avec des fonctions de virulence majeures ou même modérées sont caractérisés. Le potentiel est élevé car la majorité des espèces de *Xanthomonas* dépendent des TALes pour infecter leur hôte et seuls les gènes S correspondant à 7 pathosystèmes ont été étudiés aujourd'hui alors qu'il existe au moins cinquante espèces ou pathovars de *Xanthomonas* avec des caractéristiques uniques qui restent à étudier. Cette figure donne un aperçu des catégories de gènes S les plus pertinentes ciblées par TALes et pour lesquelles une fonction est décrite. Le texte en marron fait référence aux types d'activités conférées par les gènes S. Les cibles principales et secondaires sont affichées en violet et en vert (texte, forme), respectivement. Abréviations : SWEET, Sugars Will Eventually Be Exported Transporter ; SULTR, transporteur de sulfate ; ADC, arginine décarboxylases ; PA, polyamines; TF, facteurs de transcription ; UPA, régulée positivement par AvrBs3 ; LOB1, limites des organes latéraux 1 ; ABA, acide abscissique; bHLH, hélice-boucle-hélice de base ; NCED, 9-cis-époxy-caroténoïde dioxygénase. Formes : cylindre, transporteur de nutriments ; hexagone, enzyme de la voie de biosynthèse ; facteur de transcription à deux ovoïdes ; Protéines de type Pacman, modifiant la paroi cellulaire (Garcia-Ruiz et al., 2021*).

V Les Phénomènes de Reconnaissance

1. Introduction

Comme dans le cas des animaux, les plantes ont développé un système immunitaire capable de neutraliser les différents agents pathogènes et de contenir l'infection. La plante, pour se protéger contre toute invasion par les agents pathogènes surveille tout signe d'invasion qu'il soit extra- ou intracellulaire.

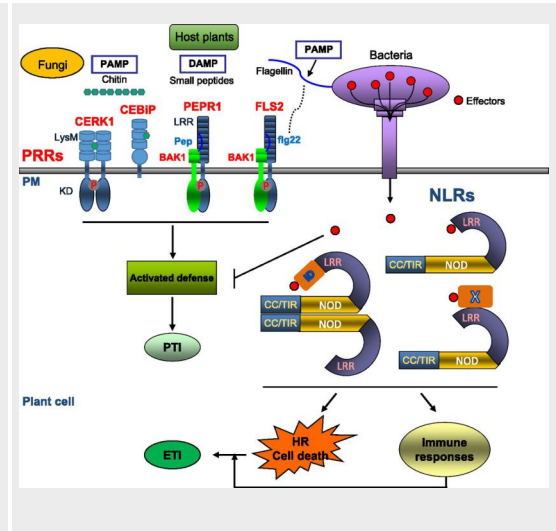
Pour que les mécanismes de défense se mettent en fonction, la plante doit détecter et reconnaître l'agent pathogène en cause. Au cours de l'évolution, les plantes et leurs pathogènes ont développé des systèmes pour contrecarrer les "armes" de l'autre partenaire. Les pathogènes évoluent rapidement, certains plus rapidement que les autres, pour dépasser les mécanismes de défense des plantes et même pour résister à différentes pesticides chimiques. Les plantes, à leur tour, évoluent pour pouvoir résister à leurs agents pathogènes.

Le prérequis de la défense est l'identification du pathogène. Les plantes, au cours de leur évolution ont développé deux systèmes de détection et de reconnaissance des agents pathogènes. D'autres auteurs parlent d'un seul système mais avec deux niveaux de perception.

Le premier niveau est la reconnaissance des éliciteurs (MAMPs, PAMPs, et DAMPs). Cette détection est assurée par des récepteurs membranaires extracellulaires, appelés *Pattern-Recognition Receptors* (PRR : les récepteurs de reconnaissance des éliciteurs)). Ce type de reconnaissance induit ce qu'on appelle la PTI (*PAMPs Triggered Immunity* : immunité induite par les éliciteurs).

Le deuxième niveau est responsable de la détection et reconnaissance des effecteurs. Cette fonction est assurée par les protéines de résistance. La détection et reconnaissance des pathogènes via les effecteurs va conduire au déclenchement des réactions de défense, appelé une ETI (*Effector Triggered Immunity* : l'immunité induite par les effecteurs).

Figure 5.1. Reconnaissance des pathogènes est basée sur la reconnaissance des éliciteurs (MAMPs, PAMPs & DAMPs) et les effecteurs par les *Pattern Recognition Receptor* (PRR) (Recepteurs de reconnaissance de motifs) et les protéines de résistance respectivement (Wang & Chai, 2020*).



2. Les PRR

Les PRRs sont de récepteurs membranaires extracellulaires dont le rôle est de interagir avec les différents éliciteurs issus de tout organisme étranger à la plante (MAMPs, PAMPs), et les éliciteurs résultant de l'interaction plante-pathogène (DAMPs). La perception de ces éliciteurs induit différentes réponses immunitaire chez la plante (PTI) qui varient en intensité en fonction de la concentration et la nature de l'éliciteur.

2.1. Structure

Un très vaste éventail des récepteurs immunitaire végétaux ont été identifiés comme étant des "*Receptor-Like Kinases*" (RLK) (des kinases type récepteurs) et des "*Receptor-Like Protein*" (RLP) (protéine de type récepteur). Ils ont en commun la même structure, sauf que les récepteurs kinases ont un domaine kinase intracellulaire.

Figure 5.2. Schéma représentatif de la structure des différentes protéines PRRs, avec des exemples à droite.

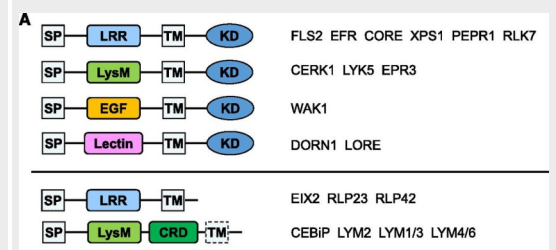
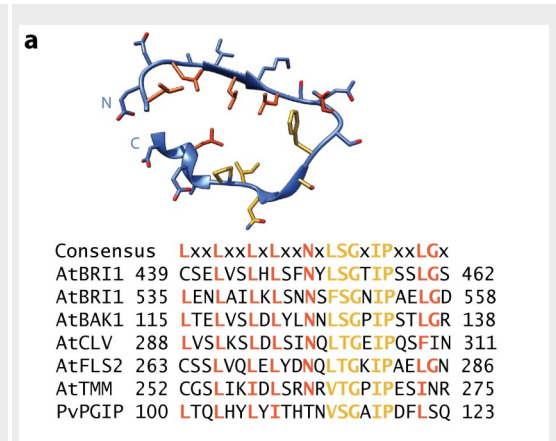


Figure 5.3. Les séquences conservées dans les récepteurs PRRs. Les séquences (en acides aminés) constituant l'ectodomaine Leucine-Rich Repeat (LRR) des récepteurs de type kinase. Elles peuvent varier dans leur taille, et forme, mais elles sont composées des unités similaires répétitives (en rouge, jaune,..). On observe l'acide aminé leucine (lettre "L" dans la séquence) qui se répète plusieurs fois et chez plusieurs récepteurs de ce type (ayant un ectodomaine à LRR), d'où vient l'appellation Leucine-Rich Repeat (domaine riche en leucine et répétitif) (Hohmann et al., 2017).



Les récepteurs PRR contiennent les domaines suivants :

1. Ectodomaine de liaison de ligand
2. Domaine transmembranaire à passage unique
3. Domaine kinase cytoplasmique : divisé en 3 sous classes
 - Domaine RD (arginine-aspartate) kinase
 - Domaine non RD kinase
 - Domaine Pseudokinase

Figure 5.4. Structure des PRRs

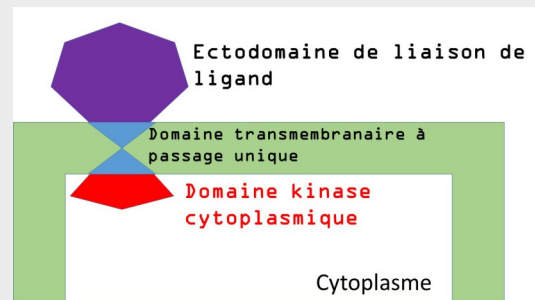
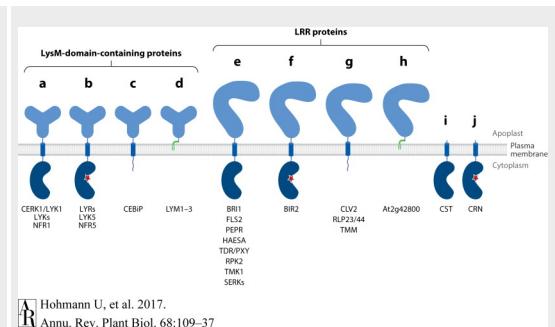
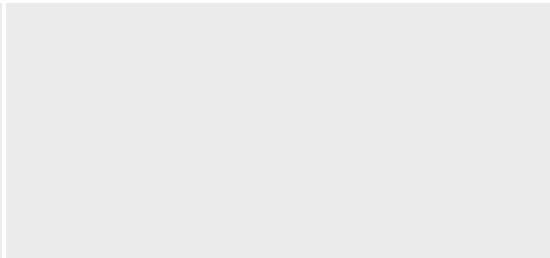


Figure 5.5. L'architecture des PRRs chez les plantes. Les récepteurs kinases (*Receptor Kinases* (RK)) (a, b, e, et f) consistent en un domaine extracellulaire ligand-récepteur (bleu clair), un domaine transmembranaire en hélice (cylindre bleu), et un domaine kinase cytoplasmique (bleu foncé), qui peuvent être une pseudokinase avec des capacités catalytique affaiblies (bleu foncé avec des étoiles rouges). Les régions Loop (lignes en bleu) lient les différents domaines. Les récepteurs protéiques (*Receptor-Like Protein* (RLP)) (c, d, g, et h) sont dépourvus du domaine kinase cytoplasmique. La majorité des *receptor-like proteins* ont un seul domaine transmembranaire en hélice et peuvent avoir une région Loop long et non-structurée (c et g), d'autres peuvent être dépourvus de tout élément transmembranaire et ils s'attachent à la membrane cytoplasmique via un ancre de glycosylphosphatidylinositol (GPI) (en vert) (d et h). Les récepteurs de type *Receptor-Like Cytoplasmic Kinases* (RLCK) (Les kinases cytoplasmiques de type récepteur) (i et j) sont composés d'un domaine transmembranaire en hélice et un domaine kinase ou bien pseudokinase cytoplasmique, et ils sont dépourvus de domaines extracellulaires. Malgré que l'architecture des RK et RLP est presque la même, la nature du domaine extracellulaire varie à travers les familles des différents RK et RLP. Les schémas a-d montrent des récepteurs ayant un domaine extracellulaire qui consiste en 3 motifs de lysine (LysM). Les schémas e-h



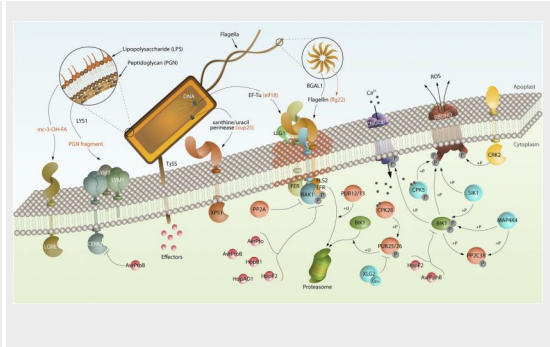
représentent les récepteurs ayant un domaine *Leucine-Rich-Repeat* (LRR). Les schémas montrent les différentes combinaisons possibles des domaines extracellulaires, hélice transmembranaire, kinases cytoplasmiques et les ancrés GPI dans ces protéines (Hohmann et al., 2017*).



2.2. Localisation

Les PRRs sont situées au niveau de la membrane cytoplasmique

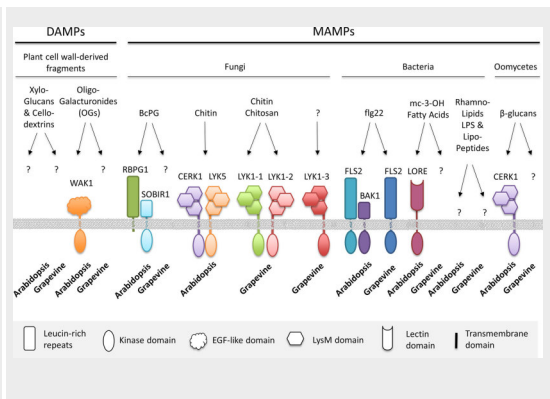
Figure 5.6. Interaction entre la bactérie *Pseudomonas syringae* et sa plante hôte. La reconnaissance de la bactérie *P. syringae* par les PRR et le rôle des effecteurs de la bactérie pour empêcher la reconnaissance (Albert et al., 2020*).



2.3. Rôles

Le rôle des PRR est de détecter et de reconnaître les agents pathogène et d'initier la cascade de signalisation pour la transmission de l'information vers le noyau afin de déclencher les mécanismes de défense.

Figure 5.7. Les éliciteurs de différents types (DAMPs, MAMPs) sont reconnus par les PRR. Ici dans le cas de la vigne et d'arabidopsis (Héloir et al., 2019*).



2.4. Les Types de PRR

2.4.1. Les Récepteurs ayant un Ectodomaine Leucine-Rich Repeat

Ce sont les récepteurs ayant un fragment riche en résidus répétés de l'acide aminé leucine. Dans ce groupe on trouve 2 sous classes des récepteurs membranaires :

a) Les récepteur du type LRR-RK

Ces récepteurs sont menus d'un fragment kinase intracellulaire

Figure 5.8. Les récepteur du type LRR-RK

RECEPTOR COMPLEX	PATTERN	PATTERN ORIGIN
AIFL52, AIBAK1	flagellin (flg22)	bacteria
SIFL53, BAK1	flagellin (flgI-28)	bacteria
AIEFR, AIBAK1	Elongation Factor-Tu (elf18)	bacteria
SICORE, SISERK3a	cold shock protein (csp22)	bacteria
AIIPF1	xanthine uracil permease (xup25)	bacteria
OxXa21, OsSERK2	proflaxX (RaxX21/RaxX16)	<i>Xanthomonas oryzae pv. oryzae</i>
AIMIK2, AIBAK1	enriched <i>Fusarium oxysporum</i> elicitor EnFOE (u. l.)	<i>Fusarium</i> spp.
OsRLK1	u. l.	herbivores
AIBNLRI, AIBAK1	nematode water (u. l.)	nematodes
SISYRI, SISYR2, SIPORK1	prosystemin (systemin)	plants
AIBLK7, AIBAK1	AtrepPAMP-induced Peptides (AIP1-11)	plants
AIPFR1, AIPFR2, AIBAK1	AtproPep1-8 (AtPep1-8)	plants

i Les récepteur du type LRR PK

Ces récepteurs sont dépourvus du fragment kinase intracellulaire.

Figure 5.9. Les récepteur du type LRR PK

RECEPTOR COMPLEX	PATTERN	PATTERN ORIGIN
NicSPR, NISOBIR1, NIBAK1	cold shock protein (csp22)	bacteria
AIRL1, AISOBIR1, AIBAK1	enigmatic MAMP of <i>Xanthomonas eMax</i> (u. l.)	<i>Xanthomonas</i> spp.
AIRLP23, AISOBIR1, AISERK3	NEP1-like protein NLP (nlp20)	bacteria, oomycetes, fungi
AIRLP30, AISOBIR1, AIBAK1	Sclerotinia culture filtrate elicitor SCFE1 (u. l.)	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
AIRLP42, AISOBIR1	polygalacturonase	fungi (<i>B. cinerea</i> , <i>Aspergillus niger</i>)
SICZ, SISOBR1	AVR2/SIRc3	<i>Cladosporium fulvum</i>
SIC4, SISOBR1, SISERK1/3a	AVR4	<i>C. fulvum</i>
SIC5	AVR5	<i>C. fulvum</i>
SIC9, SISOBR1, SISERK1/3a	AVR9/SIRc-1, SIRc-2	<i>C. fulvum</i>
SIEIX, SIEK1, SOBR1, BAK1	ethylene-inducing xylanase EIX	<i>Trichoderma</i> spp.
SIVe1, SISOBR1	Ave1	<i>Verticillium, Fusarium, Colletotrichum</i> spp.
SmELR, SOBR1, BAK1	elicitor Pre-INF1 (INF1)	<i>Phytophthora, Pythium</i> spp.
NbXEG1, SOBR1, BAK1	XEG1	<i>Phytophthora sojae</i>
BrlLpS13/BrLpLJ2, BrSOBR1	AvrL1/AvrLm2	<i>Leptospira muculosa</i>
VuNLR, SOBR1, BAK1	chloroplastic ATP Synthase (inceptin)	<i>Spodoptera exigua</i> treated plants
SICuRe1, SISOBR1	Cuscuta factor Cuf (u. l.)	<i>Cuscuta reflexa</i>

2.4.2. Les Récepteurs ayant un Motif Lysine (LysM)

Figure 5.10. Les récepteurs de type LysM

RECEPTOR COMPLEX	PATTERN	PATTERN ORIGIN
OsCEBP, OsCERK1	chitin (CO ₂)	fungi
AILYK4, AILYK3, ASCERK1	chitin	fungi
AILYK4, AILYK3, AILYK2	chitin	fungi
LJLY56	chitin (CO ₂) ^a	fungi
MELYK9, MELYB4	chitin	fungi
PaLYK9	chitin	fungi
VvLYK1-1, VvLYK1-2	chitin	fungi
MACEK1	chitin	fungi
ASCERK1	1,3-beta-D-Glucan(Glc ₃)	fungi
OsLYP4, OsLYP6, OsCERK1	chitin (CO ₂), peptidoglycan	fungi, bacteria
AILYK1, AILYK3, ASCERK1	peptidoglycan	bacteria
LJNFR1, LJNFR5	Nod factors (lipid-chitinoligosaccharides LCO)	bacteria
MELYK3, MNFP, MELYB3	Nod factors (LCO)	bacteria
PaSYM37, PaK, PaLYB3	Nod factors (LCO)	bacteria
MELYK9	chitooligosaccharides (CO)	bacteria
LJEP3	enopolysaccharides (EPS)	bacteria
OsCERK1	lipopolysaccharides (LPS)	bacteria

2.4.3. Autres Types de Récepteurs PRR

Figure 5.11. Les récepteurs PRR d'autres type

OTHER RECEPTORS	PATTERN	PATTERN ORIGIN
AILORE	mc-3-OH fatty acid	bacteria
AIWAK1	pectin (oligogalacturonides)	fungi
AILECRK-L8	egg extract (u. l.)	insects
AILECRK-L8	NAAD ⁺	plants
AIDORN1 (AILECRK-L9)	extracellular ATP	plants
AILLG1-3, AIFER	At rapid alkalization factors (e.g. RALF1, RALF23)	plants

2.5. Mode d'Action des PRRs

Les récepteurs PRRs reconnaissent les différents éliciteurs issus de différents pathogènes, microorganismes, et aussi de la plante elle-même. Généralement les éliciteurs (PAMPs, DAMPs,...) ne sont pas spécifique à une espèce donnée. Ils sont au contraire conservés chez plusieurs groupes de microorganismes. Par exemple, la chitine est commune à tous les champignons. Les éliciteurs sont détectés par une relation ligand-récepteur.

Figure 5.12. Les 4 étapes de signalisation par les récepteurs kinases des plantes. (1) : Les récepteurs kinases détectent le ligand en utilisant leur domaine extracellulaire. Parmi plusieurs molécules ligands potentielles présentes dans l'espace extracellulaire, les récepteurs kinases détectent spécifiquement les petites molécules étrangères ou natives, les peptides, et/ou protéines. (2) : L'attachement du ligand au domaine extracellulaire active le récepteur par le changement induit dans son domaine kinase cytoplasmique. (3) : Par la suite, le domaine kinase active (flèches bleues) ou désactive (bars rouges) les composants cytoplasmique pour générer un signal sortant, qui par la fin va influencer l'activité des facteurs de transcription (TFs). (4) : La régulation de l'activité des récepteurs kinases est assurée à plusieurs niveaux. Par exemple, les sites d'interaction protéique permettent une régulation par les protéines inhibitrices (en orange), le domaine kinase peut être inactivé par des phosphatases des protéines (PP2s), en plus, la place des récepteurs kinases peut être altérée par endocytose, conduisant ainsi à leur recyclage ou bien dégradation. Légende : bleu claire : domaine extracellulaire, Cylindre bleu (au milieu) : domaine transmembranaire (hélice), Bleu foncé (en forme haricot, en bas) : domaine kinase cytoplasmique, Lignes bleues connectant les différentes parties : domaine Loop, Les ligands potentiels, en pentagones rouges, étoiles vertes, bâtons jaunes, Cercles rouges : sites de phosphorylation des protéines (Hohmann et al., 2017*).

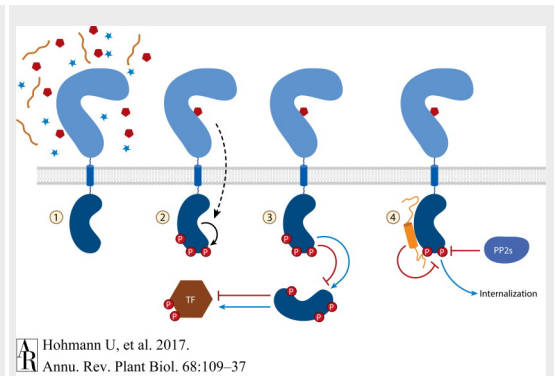
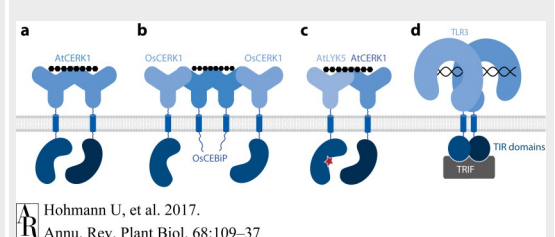


Figure 5.13. Modèle d'activation des récepteurs de type RK contenant un motif lysine (LysM). (a) Un oligomère de chitine d'au moins 7 unités de N-acetyl-d-glucosamine (NAG) (hexagones en noir) induit une dimérisation de deux récepteurs kinases AtCERK1. Les deux protéines se lient au ligand (chitine) avec leurs domaines LysM2. Chaque récepteurs s'attache à des unités NAG différentes, ainsi la molécule de chitine rattache les deux récepteurs ensembles. (b) : Comme AtCERK1, le OsCEBiP (un récepteur de type RLP) s'associe à un autre récepteur du même type (dimérisation) en se rattachant par une molécule de chitine. Les deux CEBiP se lient aux côtés opposés du même oligomère de chitine (de manière opposée à la liaison des AtCERK1s). Parce que les études ont suggéré qu'OsCERK1 se lie à OsCEBiP (hétérodimérisation), la liaison au ligand pourrait conduire à la formation d'un complexe de signalisation tétramère (4 molécules) ou plus. (c) : Après fixation du ligand, l'hétérodimérisation d'AtCERK1 avec un autre récepteur attachant la chitine de type



LysM-RK, par exemple AtLYK5, peut initier la signalisation en aval. (d) : l'homodimérisation des AtCERK1 induite par la chitine pourrait ressembler à l'homodimérisation de TLR3 à ARN double brin dans le système immunitaire animal. Dans les 2 cas, un ligand polymérique cause l'homodimérisation des domaines extracellulaires, qui à son tour rapproche les parties intracellulaires des récepteurs pour initier la signalisation en aval (Hohmann et al., 2017*).

Figure 5.14. Reconnaissance des éliciteurs par les récepteurs PRR (Hohmann et al., 2017*).

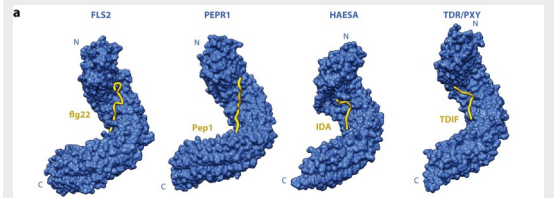
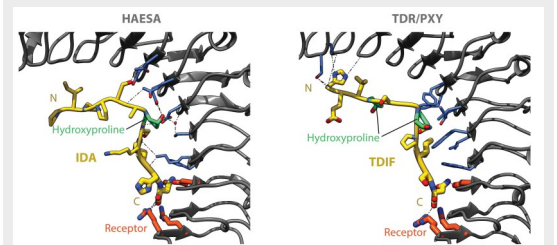


Figure 5.15. Reconnaissance des éliciteurs par les récepteurs PRR (Hohmann et al., 2017*).



Pour améliorer l'efficacité et la spécificité de la réponse immunitaire, les plantes utilisent des stratégies bien définies.

Figure 5.16. Les récepteurs PRRs utilisent aussi des co-récepteurs. Les protéines SERK sont des protéines coréceptrices essentielles pour les récepteurs kinases. (Hohmann et al., 2017*).

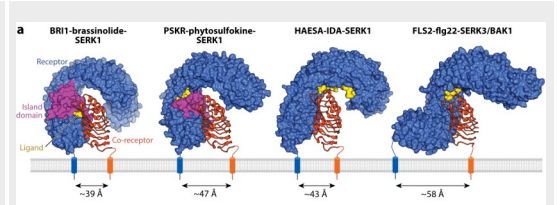


Figure 5.17. Les récepteurs PRRs utilisent aussi des co-récepteurs. Les protéines SERK sont des protéines coréceptrices essentielles pour les récepteurs kinases. les domaines kinases de ces récepteurs peuvent former un dimère dans le cytosol avec les corécepteurs au moment de l'activation suite à la détection des éliciteurs par les récepteurs PRRs. L'ectodomaine LRR (extracellulaire) (Hohmann et al., 2017*).

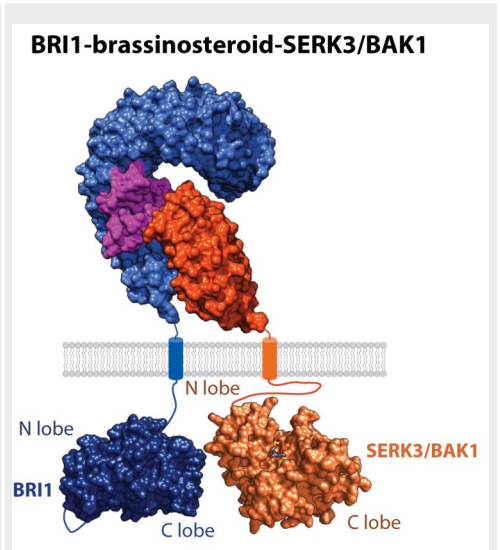


Figure 5.18. Les récepteurs PRRs utilisent aussi des co-récepteurs. Les protéines SERK sont des protéines coréceptrices essentielles pour les récepteurs kinases.

(Hohmann et al., 2017*).

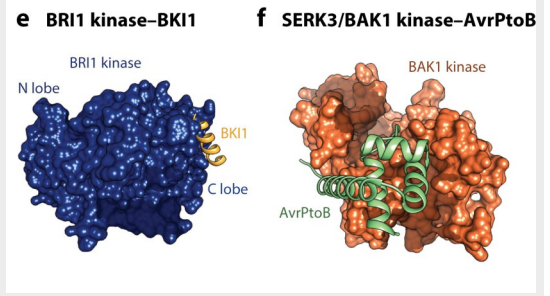
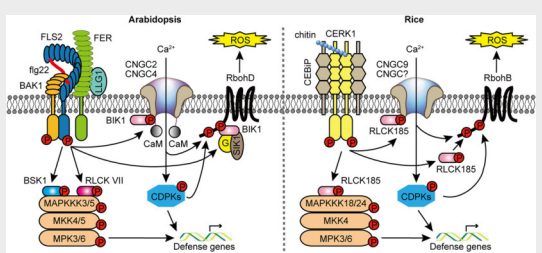


Figure 5.19. Mode d'action des PRRs pour détecter les éliciteurs issus des pathogènes. Les récepteurs membranaires extracellulaires (PRR) détectent les éliciteurs (PAMPs) et activent une série de réponses immunitaire (PTI). Par exemple, les récepteurs *leucine-rich repeat receptor-like kinase* (LRR-RLK) *Flagellin Sensing 2* (FLS2) d'*Arabidopsis*, implique (embauche) un co-récepteur *LRR-RLK Brassinosteroid Receptor-Associated Kinase 1* (BAK1) pour former un complexe au moment de l'attachement de flg22 et initie (le complexe) la PTI par auto- et trans-phosphorylation (cercles rouges) de leurs domaines kinases. Un autre récepteur LRR-RLK FER et son co-récepteur LLG1 agissent comme un échafaud pour la formation du complexe FLS2-BAK1 induit par l'éliciteur flg22. Le complexe FLS2-BAK1 activé phosphoryle et libère, en aval, les récepteurs RLCKs (*receptor-like cytoplasmic kinases*), comme par exemple, *Botrytis-Induced Kinase* (BIK1) et *BR-Signaling Kinase 1* (BSK1), pour activer la signalisation en aval (par la MAPK et les autres voies de signalisation, voir chapitre *transduction de signal*). BSK1 et les membres groupe VII des RLCKs phosphorylent directement la MAPKKK5 et activent la cascade de signalisation de la Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK), suivi par la surexpression des gènes de défense. BIK1 régule positivement l'activation de la RbohD et la protéine G hétéromérique pour induire les dérivés réactifs de l'oxygène



3. Les Protéines de Résistance

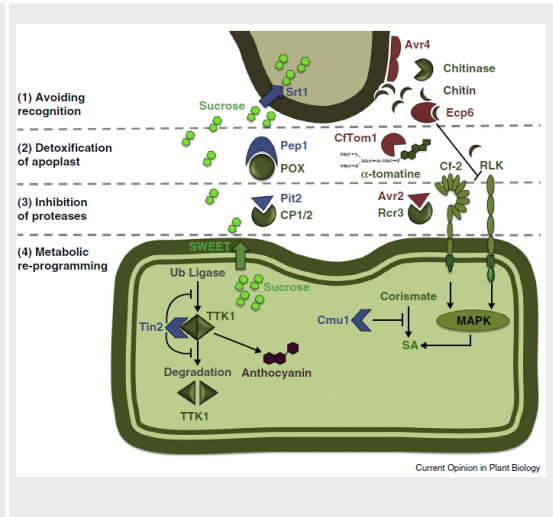
Les protéines de résistance sont codées par les gènes de résistance. Il y a une variabilité énorme des gènes de résistance. et par conséquent des protéines de résistance.

⊕ Complément : Les Effecteurs

Les effecteurs sont des molécules utilisées par le pathogène pour manipuler la plante hôte et modifier sa physiologie en faveur du pathogène. Si les effecteurs sont reconnus par les protéines de résistance, ils induisent la résistance.

Pour plus de détails sur les effecteurs, veuillez consulter le cours "Mécanismes de pathogénicité des Champignons Phytopathogènes"

Fig 5.20. Les rôles des effecteurs dans le processus infectieux (Okmen & Doehlemann, 2014*)



3.1. Structure des Protéines de Résistance

Comme dans le cas des PRR, les protéines de résistance ont des structures bien définies (voir Gènes de résistance). Elles ont généralement 3 domaines hautement conservés :

N-Terminal

Domaine central (Généralement un domaine NBS)

C-Terminal

Figure 5.21. Structures et caractéristiques des protéines de résistance. Les fonctions et les propriétés des domaines individuels prévues ou bien prouvées expérimentalement sont indiquées, ainsi que les traits particuliers et aussi des exemples. L'échelle n'est pas respectées dans le dessin des domaines. CC : Coiled Coil (queue en spirale), TIR : Toll/Interleukin-1 Receptor (Récepteur Toll /Interleukin-1), NB : Nucleotide-Binding Site (Site d'attachement de nucléotide), LRR : Leucine-Rich Repeat (Domaine riche en leucine en se répétant), ID : Integrated-Domain (Domaine intégré), RPW8 : Resistance to Powdery Mildews 8 (gène 8 de la résistance à l'oïdium), NLR : Nucleotide-binding and Leucine-rich repeat-containing protein of resistance (protéine de résistance contenant un site d'attachement de nucléotide et un fragment riche en résidus répétés de leucine) TNL : Toll/Interleukin-NLR,(Cesari, 2018).

	N-terminal domain(s)	Central domain(s)	C-terminal domain(s)	Other features	Examples
TNL/CNL	Oligomerization, signaling TIR	Nucleotide binding, regulation NB, ARC1/ARC2	Specificity, regulation LRR	• Dicot plants: TNLs and CNLs • Monocot plants: CNLs only	TNLs: L5, N, RPP1 Helper TNL: RPS4 CNLs: R3, RPS5, I2 Helper CNLs: RGA4, NRCs
RNL	Signaling RPW8	NB, ARC1/ARC2	Regulation LRR	• NLR-helpers • Evolutionarily conserved • Unknown mode of action	RNLs: ADR1 and NRG1
NLR-SD	CC/TIR	NB, ARC1/ARC2	Regulation LRR	• Sensor NLRs • Effector-ID direct interaction • Extremely variable IDs • Often paired with another NLR	ID after LRR: RRS1, RGA4, Pto-2 NLR ID: RPP2A ID after CC: Pto-1 NLR ID no CC near TIR: Xa1
NLR-like	Oligomerization, signaling TIR	NB, ARC1/ARC2		• Effector perception • Lack of regulatory domains • Helper NLR required?	TIR only: RBA1 TIR-NB: TN2

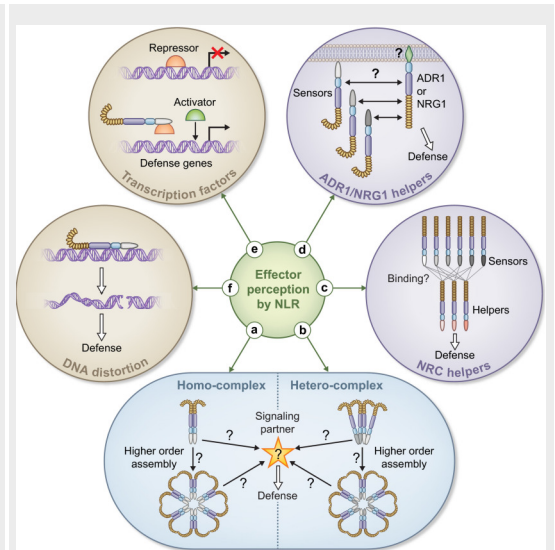
3.1.1. Le Domaine Central

Dans cette partie de la protéine on trouve des domaines hautement conservés appelés : *Nucleotide-Binding Site* (NBS (Site d'attachement de nucléotide)).

3.2. Rôles et Fonctions des des Protéines de Résistance

Le rôle principal des protéines de résistance est de détecter et reconnaître les pathogènes attaquant la plante, à travers les différents systèmes de surveillance (Voir **Modèle de reconnaissance**).

Figure 5.22. Rôles et fonctions des protéines de résistance. Les protéines de résistance sont impliquées dans les divers mécanismes de signalisation et d'activation après la perception des effecteurs. (a, b) : Plusieurs protéines de résistance de type TNLs et CNLs ont besoin d'une oligomérisation pour fonctionner (voir **Résistosome**). Certains forment des hétéro-complexes de stœchiométrie inconnue tandis que d'autres vont probablement homo-multimériser via leur domaines terminaux de type CC ou TIR. L'autoassociation (plusieurs protéines R de même type s'associent pour former un oligomère) via le N-terminal est importante pour le déclenchement de la mort cellulaire programmée (HR), et on pense qu'elle permet l'interaction avec des "partenaire" de signalisation (voir **Transduction du signal**) non encore définis. La signalisation peut implication un ordre plus élevé d'assemblage des protéines R, mais ça reste encore non prouvé expérimentalement. (c) : Certaines protéines R ont besoin d'autres protéines appelées **Helpers** (Assistentes) pour fonctionner. Une classe des protéines R helpers, spécifiques aux astéridées est appelée NRC. Cette classe est nécessaire pour les protéines R en aval pour les protéines R type **Sensor**. (d) : ADR1 et NRG1 sont des RNLs helpers possédant un domaine N-terminal qui ressemble à protéine ciblant les membranes RPW8. Ceasri (2018) suppose que les RNLs pourrait avoir une fonction au niveau de la membrane, mais leur mécanisme de signalisation lié à la défense reste à déterminer. (e, f) : Certaines protéines R induisent la la résistance par une interaction avec des facteurs de transcription (activateurs ou supprimeurs) dans les noyaux des cellules hôtes, alors que d'autres se lient physiquement à l'ADN par leur domaine NB et induisent une distorsion et potentiellement un clivage de l'ADN (Cesari, 2018).



3.2.1. Les NLRs

🔍 Définition

Ce sont les NLRs qui sont menues d'un N-terminal homologue au domaine de signalisation RPW8

🔍 Définition : RPW8 : *Arabidopsis broad-spectrum mildew resistance protein*

C'est une famille de protéine de résistance d'*Arabidopsis thaliana* contre l'oïdium et ayant un large spectre d'action.

3.2.2. Les Sensors

🔍 Définition

Ce sont des NLRs responsables de lier un effecteur ou bien reconnaître son activité. Ces protéines jouent le rôle de détecteur des effecteurs

3.2.3. Les Helpers

🔍 Définition

Ce sont les NLRs qui sont activées par une autre NLR ou bien en aval de la cascade de signalisation suite à la reconnaissance d'effecteurs

Ces protéines jouent un rôle important dans les voies de signalisation liées à la ETI. Elles travaillent en étroite liaison avec les protéines de résistance de type *sensors*. Elles sont responsables de la transduction du signal et l'induction des réactions de défense.

📌 Remarque

Les protéines de résistance *sensors* and *helpers* sont employées par la plante comme étant un couple, dont le rôle est de reconnaître les effecteurs du pathogène et activer les réponses immunitaire.

3.2.4. Le Résistosome

🔍 Définition

Le résistosome est une structure oligomère sous forme de roue composée de plusieurs NLRs et qui sont assemblées après activation.

Figure 5.23. Formation de résistosome en réponse à l'invasion par un pathogène. L'uridylylation de PBL2 par l'effecteur AvrAC entraîne des changements dans les interactions entre PBL2 et RKS1 liés à ZAR1. Cela modifie à son tour le niveau d'exposition du domaine de liaison aux nucléotides de ZAR1, permettant aux domaines CC de ZAR1 de s'oligomériser. Le pentamère résultant a été appelé le "résistosome" de la plante (Wersch et al., 2020^{*}).

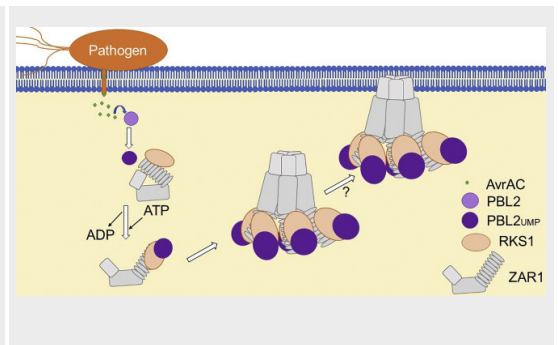
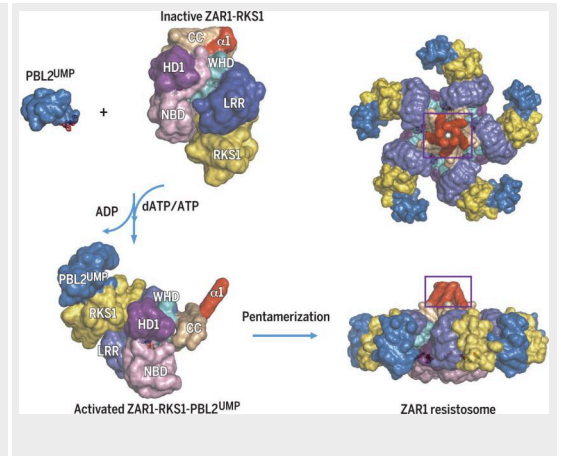


Figure 5.24. Formation de résistosome en réponse à l'invasion par un pathogène. L'interaction de PBL2^{UMP} (bleu) avec le complexe préformé ZAR1-RKS1 (ZAR1-RKS1 inactif) déclenche des changements de conformation dans la libération de ZAR1^{NBD} et d'adénosine diphosphate (ADP), permettant au complexe de se lier au dATP ou à l'ATP. La liaison d'ATP ou à l'ATP induit un remodelage structurel et une commutation de repliement de ZAR1, entraînant

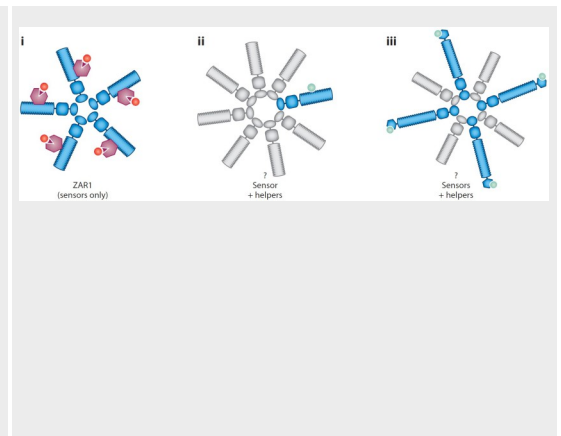
l'activation complète de ZAR1 (ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} activé) et la formation du résistosome pentamérique ZAR1 (présenté dans deux orientations). L'hélice très N-terminale ($\alpha 1$) (rouge) de ZAR1 enfouie dans le complexe ZAR1-RKS1 inactif devient exposée au solvant dans le complexe ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP} activé et forme une structure en forme d'entonnoir (surlignée dans le cadre violet) dans le résistosome ZAR1 qui est requis pour l'association ZAR1 PM, le déclenchement de la mort cellulaire et la résistance aux maladies (Wang et al., 2019^{*}).



Définition : Uridylation

L'uridylylation est l'addition post-traductionnelle d'un groupe uridylyle à une protéine, un ARN ou un phosphate de sucre.

Figure 5.25. Les différentes formations possibles de formation de résistosome. La formation d'un complexe multimère des protéines R activées est conservée (commune) à travers les règnes. (i) : Le résistosome connu, comme démontré par Wang et al. (2019) plusieurs combinaisons hypothétiques sont possibles (ii = une protéine sensor avec plusieurs protéines helpers et iii= plusieurs protéines sensors et d'autres helpers) qui peuvent être des analogues à la diversité des inflammasomes qu'on trouve chez les protéines R des mammifères (Tamborski & Krasileva, 2020^{*}).

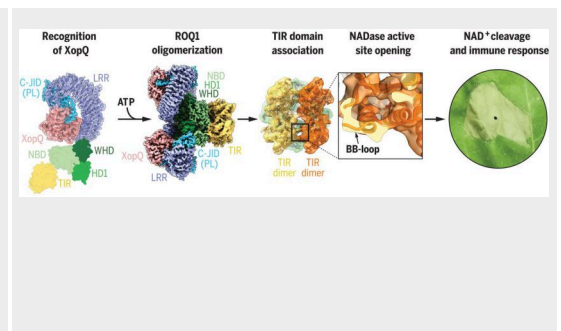


Attention

La découverte de résistosome est très récente chez les végétaux (Wang et al., 2019). On ne connaît pas le mode de fonctionnement, ni la signalisation.

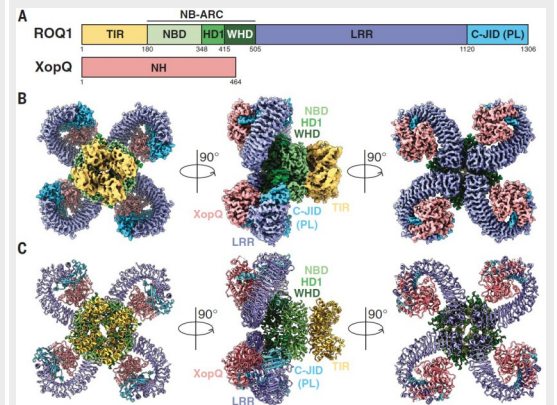
On sait qu'il est impliqué dans des réactions autoimmunes et induit la réaction HR, mais on connaît pas les mécanismes d'action.

Figure 5.26. Mécanisme proposé de l'activation de ROQ1. Les domaines LRR et C-JID de la protéine ROQ1 reconnaissent l'effecteur XopQ du pathogène. Le ROQ1 devient un oligomère (plusieurs molécules de ROQ1 s'associent ensemble) via le domaine NB-ARC (NBD, HD1, WHD) dans un état lié à l'ATP. L'association du domaine TIR induit un réarrangement conformationnel du domaine BB-loop ouvrant ainsi le site active de



la NADase. L'activité catalytique du domaine TIR L'activité catalytique des domaines TIR signale en outre la réponse immunitaire, entraînant la mort cellulaire (Martin et al., 2020*).

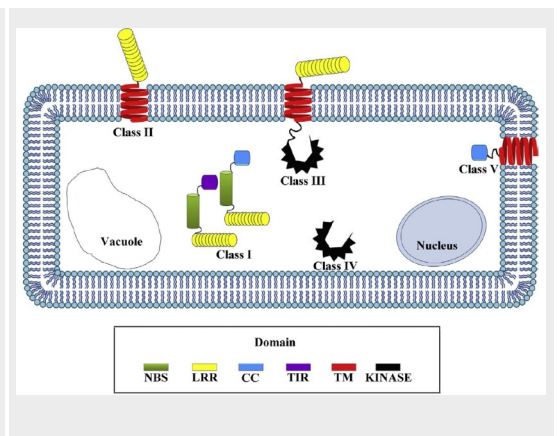
Figure 5.27. Formation du Résistosome ROQ1. (A) : Représentation schématique du gène de résistance ROQ1 et de l'effecteur XopQ, avec un code en couleur des domaines : TIR, jaune ; NB-ARC NDB, HD1, et WHD, vert clair, vert et vert foncé respectivement ; LRR, violet ; C-JID, (ou bien domaine PL), bleu clair et XopQ, rose saumon. (B) et (C) : Carte de densité composite du complexe ROQ1-XopQ à partir de 3 reconstructions cryo-EM (B) et modèle atomique correspondant (C) montré en 3 vues orthogonales (Martin et al., 2020*).



3.3. Localisation

La majorité des protéines de résistance sont localisées au niveau du cytoplasme. Une petite partie se situe au niveau de la membrane cytoplasmique.

Figure 5.28. Localisation des différentes familles de protéines de résistance. Certaines protéines se trouvent dans la membrane cytoplasmique : protéines appartenant aux classes II (TM-LRR), III (RLK : Receptor-Like Kinase) et V (CC : Coiled Coil) ; les protéines appartenant aux classes I (NBS-LRR) et IV (STK : Serine /Threonine Kinase) sont localisées dans le cytoplasme. Abbreviations: NBS—Nucleotide Binding Site; LRR—Leucine-Rich Repeats; CC—coiled-coil; TIR—Toll-Interleukin Receptor; TM—Transmembrane Domain (Bezerra-Neto et al., 2020*).



3.4. Les Phénomènes de Reconnaissance

La reconnaissance des pathogènes par les protéines de résistance résulte de l'interaction entre la protéine R et une molécule effectrice du pathogène. Vu la diversité des pathogènes et aussi la multitude de plante en interaction avec des pathogènes, et aussi la complexité de ces interactions, plusieurs modèles ont été proposés :

- Interaction directe
- Le modèle "Guard"
- Le modèle "Decoy"
- Le modèle "Integrated Decoy" (ID)
- Le modèle NLR-Like, et le modèle "Bait"

Il faut noter que chaque modèle explique la reconnaissance du pathogène par sa plante hôte. Certains pathosystèmes suivent un modèle, d'autres suivent un autre modèle. Chaque modèle est valide pour certaines interactions et pas d'autres.

Fig. 5.29. Activation d'un gène de type TIR-NB-LRR (Bernoux et al., 2011).

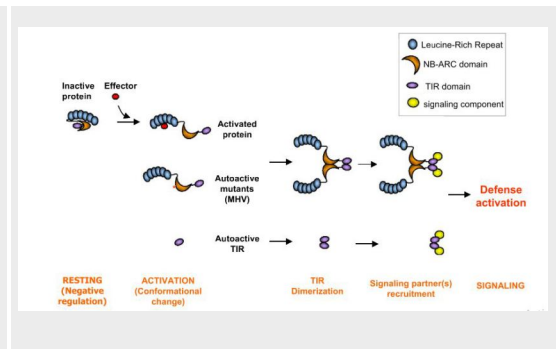
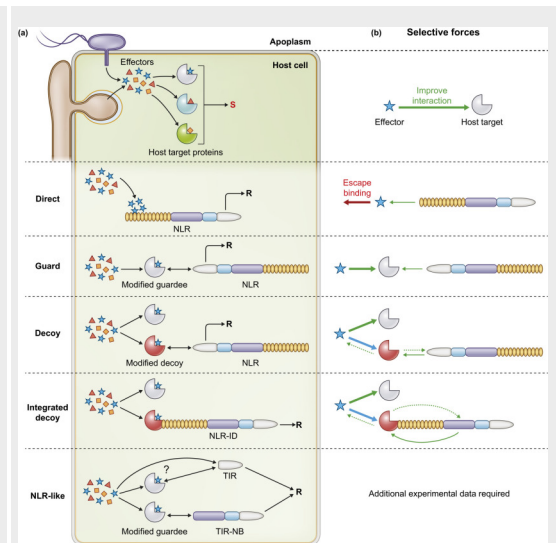


Figure 5.30. Les différents modèles expliquant la reconnaissance des pathogènes par les protéines de résistance. Les protéines de résistance détectent et reconnaissent les pathogènes de manière spécifique, en utilisant différents mécanismes avec différentes contraintes évolutives. (a) : à l'infection, les effecteurs du pathogènes ciblent et modulent les protéines de l'hôte afin de promouvoir la sensibilité (de la plante hôte) (S). L'interaction directe entre les effecteurs et les protéines de résistance induit la résistance (R). La reconnaissance indirecte est que la l'effecteur cible une protéine "surveillée" par une protéine R (la protéine surveillée est appelée *guardee*), ou bien, si une copie du gène de la protéine cible évolue et code pour une protéine leurre (*decoy*), qui soit elle aussi surveillée par les protéines R. Dans ces deux dernière situations (reconnaissance indirecte) les protéines de résistance détectent les modifications subies par les protéines cibles/leurres surveillée sous l'action de l'effecteur. Les molécules *decoy* sont souvent intégrées à la protéine R. Certaines protéine NLR-like (qui ressemblent aux gène de résistance de type NBS-LRR) mais n'ont pas de domaines régulateurs tels que NBS et LRR ou bien uniquement LRR, fonctionnent aussi comme des détecteurs d'effecteurs, mais leur mode d'action n'est pas claire. (b) : Les effecteurs évoluent vers une interaction avec les protéines cibles de l'hôte (les protéines *guardee* incluses), alors que leurs cibles (les protéines cibles) ne montre pas des preuves d'une sélection positive orientée, probablement parce que les variations (mutations aux niveau des gènes codant ces protéines) peuvent nuire /perturber leurs fonctions principale dans la physiologie et/ou immunité de la plante hôte. Dans le modèle de reconnaissance directe, (effecteur-protéine R) les gènes des effecteurs mutent afin d'éviter la liaison (reconnaissance) et les gènes R sont sous pression pour maintenir ou restaurer cette liaison (reconnaissance).



Les modèles *guard*, *decoy* et *integrated decoy* offrent plus d'efficacité dans la détection/reconnaissance que le modèle de reconnaissance directe. A travers leurs fonctions, les effecteurs sont contraints à évoluer vers plus de reconnaissance/délectabilité (plus ils évoluent plus il est plus probable d'être détecté) et ils ne peuvent pas éviter facilement la détection sans modifier leurs fonctions (physiologie, rôle). Les protéines *decoy* n'ont aucune fonction à part de détecter et reconnaître l'effecteur, et du point de vue évolution, et par conséquent, elles évoluent de manière à promouvoir les liaisons (interactions) avec les effecteurs et les protéines R. Dans le modèle *integrated decoy* (ID), la proximité des protéines R des cibles d'effecteurs (protéines cibles=leurres) est maintenue par un attachement (connexion) physique. Le ID et les autres domaines de la protéine R peuvent encore évoluer afin de maintenir l'interopérabilité.

(Cesari, 2018^{**}).

Attention

Indifféremment du pathogène, plante hôte, et/ou modèle, la reconnaissance basée sur les protéines R (NLRs) est hautement spécifique.

Fondamental

Une molécule (protéine) hôte peut être la cible de plusieurs effecteurs divers (n'ont pas de relation entre eux). Généralement cette molécule est surveillée par une ou bien un nombre limité de protéines de résistance.

3.4.1. Reconnaissance Directe

Dans cette situation, la molécule effectrice est détectée après interaction directe avec la protéine R. Cette interaction est de type récepteur-ligand. La protéine de résistance entre en interaction physique directe avec l'effecteur

Remarque

Jusqu'à maintenant, les recherches ont montré que ce type de détection est rare dans la nature. Dans la majorité des cas (jusqu'à maintenant), la détection est faite de manière indirecte. C'est rarement où il y a un contact physique directe entre la protéine R et l'effecteur.

3.4.2. Le Modèle Guard

Dans ce cas, la protéine de résistance détecte les modifications subies par la molécule cible (protéine) nommée "*gardee*" (gardée), causées par l'effecteur.

3.4.3. Le Modèle Decoy

Dans ce cas, la protéine R détecte les modifications subies par une molécule (protéine) leurre qui mimique la molécule cible

💡 *Fondamental*

Les molécules (protéines) *decoy* n'ont aucune fonction à part attraper l'effecteur.

3.4.4. Le Modèle Integrated-Decoy

Dans ce modèle, la protéine *decoy* est intégrée (liée physiquement) à la protéine de résistance.

🔗 *Remarque*

On estime qu'il y a 10% des protéines de résistance dans chaque espèce qui fonctionnent suivant ce modèle.

🔗 *Remarque*

La molécule decoy peut s'intégrer à n'importe quelle place dans la protéine R

4. Les Mécanismes de Reconnaissance

Les plantes ont un système de reconnaissance des pathogènes à deux niveaux. Le premier niveau est constitué par les récepteurs membranaires : les PRR qui sont responsables de détecter les PAMPs et les DAMPs. Le deuxième niveau, plus compliqué, est constitué par les protéines de résistance. Les protéines de résistance sont localisées soit au niveau de la membrane plasmique, ou bien dans le cytoplasme. Les protéines de résistance cytoplasmiques sont majoritaires par rapport aux protéines de résistance membranaires. En plus, la reconnaissance est directe dans le cas des PRRs. Dans le cas des protéines de résistance, la majorité des protéines de résistance détectent et reconnaissent les effecteurs des pathogènes de manière indirecte.

Figure 5.31. Les différents mécanismes expliquant la détection et reconnaissance des agents pathogènes par la plante hôte (Kourelis & van der Hoven, 2018^{*}).

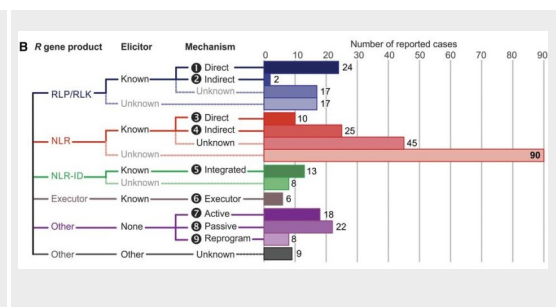
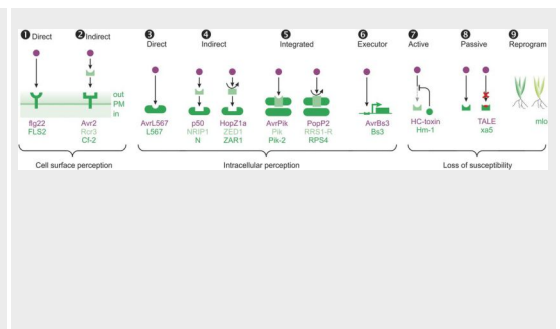


Figure 5.32. Mécanismes de reconnaissance expliquant les fonctions des protéines de résistance. (1): Reconnaissance directe, (2) : reconnaissance indirecte, dans ce cas les protéines R sont à la surface de la cellule (membrane cytoplasmique, Dans le cas des protéines R actives dans le cytoplasme, il y a 4 mécanismes d'actions (3-6), en plus, il y a 3 mécanismes basés sur la perte de sensibilité (loss-of-susceptibility mechanisms) (7-9). Les PAMPs et



les effecteurs sont colorés en rose, les récepteurs à reconnaissance directe (en vert clair) et les récepteur à reconnaissance indirecte (en vert foncé) (Kourelis & vad der Hoom, 2018^{*}).

4.1. Perception Extracellulaire

La perception extracellulaire arrive lorsque la plante détecte et reconnaît l'agent pathogène avant qu'il puissent pénétrer à la cellule. La plante a deux mécanismes qui lui assurent cette capacité :

- Les PRRs
- Les Protéines R membranaires

4.1.1. Perception Directe à la Surface Cellulaire

Dans cette situation, la plante reconnaît l'agent pathogène par les PRRs. Les PRRs interagissent directement (relation récepteur-ligand). La plante détecte les PAMPs, et DAMPs et certains types d'effecteurs (mais cette reconnaissance est conforme à une reconnaissance PRR-PAMPs : la plante reconnaît un fragment de la protéine et non l'activité de la molécule effectrice).

🕒 Exemple : Le récepteur FLS2

Le meilleur exemple est la flagelline qui est une protéine bactérienne. Il y a un fragment appelé flg22 qui est reconnu par le récepteur FLS2 (*Flagellin-Sensitive 2*(Récepteur sensible à la flagelline)) chez *Arabidopsis*. Le peptide flg22 se lie directement à FLS2 ce qui attire le BIR1-Associated Receptor Kinase (BAK1).

Plusieurs autres PAMPs sont perçus de la même manière que la flagelline, par exemple : la chitine, lipopolysaccharide, peptidoglycane, ARN,...

Certains effecteurs sont aussi perçus de manière directe extracellulaire par les récepteurs membranaires.

🕒 Exemple : Le Récepteur RLP23

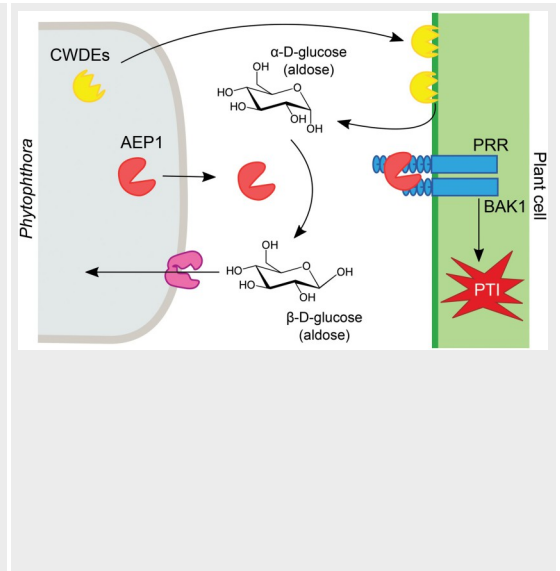
D'autres effecteurs sont aussi reconnus par les PRRs, par exemple le nlp20, qui est un fragment de l'effecteur NEP1 (*Necrosis and Ithylene-inducing Peptide 1*) par le récepteur RLP23. Les NLPs (NEP-Like proteins) sont sécrétées par les bactéries, oomycètes, et les champignons phytopathogènes.

⊕ Complément : Cas de l'effecteur AEP1

AEP1 (Aldose-1 Epimerase enzyme) est un effecteur dont le rôle est de modifier les sucres comme le glucose de sa forme α - à la forme β -, pour faciliter leur absorption par le pathogène (*Phytophthora sojae*).

Figure 5.34. l'effecteur AEP1 induit la PTI après sa détection par les PRRs. A l'infection, le pathogène *P. sojae* secrète des CWDEs pour dégrader les parois cellulaires de sa plante hôte (soja). Les CWDEs libèrent dans l'appoplasme différents monomères issus de la dégradation des parois cellulaires (sucres, acides gras,...). Les pathogènes généralement utilisent ces produits de la dégradation

comme des sources de carbone (voir cours **Mécanismes de pathogénicité des champignons phytopathogènes**). Dans le cas de *P. sojae*, et sa plante hôte, le soja, les CWDEs libèrent dans l'appoplasme des aldoses (α -glucose), le problème est que ce pathogène n'arrive pas à absorber cette forme, le pathogène sécrète aussi avec les CWDEs un effecteur appelé AEP1 dont le rôle est de convertir le α -glucose en β -glucose, facilement absorbé. La plante (soja) arrive à reconnaître le pathogène à travers la détection du AEP1 via les PRRs et induit la résistance. La plante ici ne reconnaît pas l'AEP1 comme étant un effecteur (effet de l'effecteur sur la protéine/molécule cible) mais elle reconnaît sa forme secondaire ou primaire (tant que PAMPs) (Copeland, 2021^{*}).



4.1.2. Perception Extracellulaire Indirecte

Les protéines R membranaires reconnaissent les effecteurs du pathogène mais pas d'une manière directe (pas d'interaction directe effecteur-protéine R de type récepteur-ligand). Les protéines R surveillent les protéines cibles des effecteurs du pathogène et détectent les modifications dont la protéine a subi.

🕒 Exemple : La protéine Cf-2

La protéine de résistance Cf-2 de la tomate contre *Cladosporium fulvum*. Cette protéine ne reconnaît pas directement la protéine Avr2. En réalité, l'Avr2 qui est un inhibiteur de protéase, cible la protéine Rcr3 (une protéase de type cystéine). La Cf-2 surveille la Rcr3 et reconnaît les modifications qu'elle subisse.

4.2. Perception Intracellulaire

La perception intracellulaire est assurée par les protéines de résistance intracellulaires.

4.2.1. Perception Directe des Effecteurs

Dans cette situation, la protéine R reconnaît le pathogène par un contact physique direct de type récepteur-ligand avec l'effecteur.

🕒 Exemple : La protéine RPP

l'ATR1 (*Arabidopsis thaliana Recognition 1*) est un effecteur sécrété par l'oomycète *Hyaloperonospora arabidopsidis* et interagit directement avec la protéine RPP (*NLR Recognition of Peronospora parasitica 1*). Cette interaction conduit à la reconnaissance du pathogène puis l'induction des réponses de défense.

🕒 Exemple : Les protéines L5, L6, et L7

Un autre effecteur, l'AvrL567 produit par *Melampsora lini* est reconnu par les protéines de résistance L5, L6 et L7. L'interaction entre l'effecteur et la protéine de résistance est de type directe.

4.2.2. Perception Indirecte des Effecteurs : Decoys & Guardees

Plusieurs effecteurs sont reconnus de manière indirecte par les protéines de résistance. Dans cette situation la protéine de résistance et l'effecteur n'entrent pas en une interaction de type récepteur-ligand. Dans le cas *guard*, la protéine de résistance surveille une protéine cible de l'activité d'effecteur. Dans le cas *decoy*, la plante produit des protéines leurre (appât) qui imitent la protéine cible.

Dans cette situation, les protéines R déclenchent les réactions de défense par la surveillance de :

- L'interaction des effecteurs avec les protéines de l'hôte
- Les modifications enzymatiques des protéines de l'hôte
- l'homéostasie des cellules de l'hôte

Exemple : La protéine N

Le *Tobacco mosaic virus* produit un effecteur p50, une hélicase de 50 kD. La protéine de résistance est une protéine appelée la protéine N. La protéine N ne reconnaît pas le p50 directement. Elle le reconnaît uniquement s'il est en interaction avec la protéine NRIP1 (une sulfotransférase rhodanèse au niveau des chloroplastes). La protéine N n'interagit pas avec la NRIP1 quand elle est libre. La protéine N reconnaît la protéine NRIP1 uniquement en présence de l'effecteur p50.

Exemple : La protéine RPM1

La protéine RIN4 (*RPM1 Interacting protein4* (La protéine4 qui interagit avec la RPM1)) est surveillée avec la protéine de résistance RPM1. Les effecteurs de *Pseudomonas syringae* AvrB et AvrRPM1 induit la phosphorylation de la RIN4, réduisant ainsi sa capacité à interagir avec la *prolypeptidyl isomérase Rotamase CYP1* (ROC1), modifiant ainsi la conformation de la RIN4. Cette conformation altérée alerte la protéine de résistance RPM1 déclenchant par la suite les réactions de défense.

La bactérie utilise un autre effecteur, l'AvrRpt2, qui brise la RIN4, ce qui empêche la RPM1 de déclencher les défenses (n'est plus reconnue par la RPM1). La plante a une autre protéine R surveillant la RIN4 : la RPS2. La RPS2 reconnaît les divisions de la RIN4 et induit les défenses.

Exemple : La protéine SUMM2 d'*Arabidopsis*

La protéine R d'*Arabidopsis* SUMM2 (*Suppressor of MKK1 MKK2 2*) surveille l'état de la phosphorylation de la CRCK3 (*Calmodulin binding RLCK*). La CRCK3 est phosphorylée par la cascade de signalisation MAP kinase, impliquant les kinases MEKK1, MKK1 et la MKK2, ainsi que la MPK4. L'état de phosphorylation de la CRCK3 en l'absence de l'activité des kinases MPK4, MKK1/MKK2 ou bien MEKK1 induit une réponse immunitaire dépendante de la SUMM2. La bactérie *P. syringae* produit un effecteur, HopA1 qui bloque l'activité de la MPK4. La protéine SUMM2 reconnaît la perturbation de l'homéostasie de la phosphorylation cellulaire et détecte la présence du pathogène.

4.2.3. Perception Indirecte : Domaines Intégrés

Certaines protéines R ont un domaine, en plus (*decoy*) qui est nécessaire pour la reconnaissance du pathogène et qui est intégré avec la protéine de résistance. Les 3 gènes de résistance de ce type les plus connus sont : *RRS1* et

'*Arabidopsis* et *RGA5* et *Pik* du riz. Ces gènes sont exprimés à partir du même promoteur et dans une direction opposée avec un gène de résistance qui n'a pas de domaine intégré.

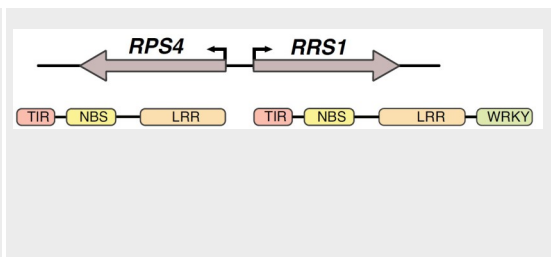
Les domaines les plus fréquents comme étant des domaines intégrés à des protéines de résistance sont :

- Le domaine kinase : impliqué dans la phosphorylation des protéines
- Le domaine WRKY : impliqué dans la liaison avec l'ADN et la transcription
- Le domaine BED : impliqué dans la liaison avec l'ADN

Il y a d'autres domaines mais ils sont moins fréquents.

Les protéines de résistance ayant un domaine intégré (ID) fonctionnent comme les protéines de résistance de type sensors (détectrices), et généralement elles travaillent en couple avec d'autres protéines de résistance. Par exemple, la protéine de résistance RRS 1 d'*Arabidopsis* contient un domaine intégré dans la région C-terminal : *WRKY transcription factor domain* (domaine de facteur de transcription WRKY), et qui travaille avec la protéine de résistance RPS4 pour induire la reconnaissance des effecteurs.

Figure 5.35. Le couple de protéine de résistance RPS4 et RRS1 d'*Arabidopsis*. La dernière protéine (RRS1) contient un domaine intégré WRKY vers la région C-terminal. Les deux gènes ont le même promoteur et qui sont transcrits dans deux directions inversées l'une de l'autre. (Lolle et al., 2020*).



🔗 Exemple : La protéine de résistance RRS1 d'*Arabidopsis*

Le domaine WRKY de la RRS1 interagit avec l'effecteur AvrRps1 de la bactérie *P. syringae*, induisant ainsi les réponses immunitaires. L'effecteur PopP2 de *Ralstonia solanacearum* agit comme une acétyltransférase, et agissant par acétylation de certains résidus clés de l'acide aminé lysine dans le domaine WRKY de la RRS1. Dans les génotypes ayant l'allèle Col-0 du gène RRS1 (RRS1-S), l'acétylation bloque la reconnaissance du AvrRps4. Dans le cas des génotypes ayant les allèles Nd-1 et Ws-2 (RRS1-R), l'acétylation est signalée (reconnaissance du pathogène), et en plus elle reconnaît l'effecteur AvrRps1.

🔗 Exemple : La protéine RGA5 du riz

La protéine RGA5 du riz contient un domaine intégré appelé RATW1 ou HMA, qui est localisé dans la région C-terminal. La RGA5 interagit avec les effecteurs Avr-Pia et Avr-CO39 en utilisant le domaine HMA, déclenchant ainsi les réponses immunitaires.

💡 Fondamental

Toutes les protéines de résistance ayant un domaine intégré ont besoin d'une protéine génétiquement liée à celle-ci pour déclencher la signalisation (voir figure ci-dessus).

🔗 Exemple

Le couple de protéine RRS1 et RPS4. La protéine RRS1 est capable de détecter différents pathogènes, mais pour les signaler elle a besoin de la protéine RPS4. Les gènes de ces deux protéines sont liés, ayant le même promoteurs (voir figure ci-dessus).

4.2.4. Les Gènes Exécuteurs

Définition : Gène exécuteur

Les gènes exécuteurs sont les gènes de résistance dont la transcription est activée par les effecteurs TALEs (*Transcription Activator-Like Effectors* = Les effecteurs ressemblant aux activateurs de transcription) produits par les bactéries du genre *Xanthomonas* et qui confèrent la résistance contre les bactéries de ce genre produisant ces effecteurs.

Les effecteurs TALEs se lient à des séquences d'ADN spécifiques, et modifient la transcription des facteurs de sensibilité de la plante hôte. Les promoteurs de gènes exécuteurs jouent le rôle de piège pour ces effecteurs en les forçant à promouvoir la transcription des gènes impliqués dans la résistance.

Les promoteurs des gènes exécuteurs agissent comme un "decoy" pour ces effecteurs, en imitant les régions de promoteurs des facteurs de sensibilité. Par conséquent, ces effecteurs vont induire l'expression des gènes impliqués dans la défense au lieu de sur-exprimer les gènes codant pour les facteurs de sensibilité de l'hôte.

Exemple

Jusqu'à maintenant il y a 6 gènes exécuteurs qui ont été clonés :

Riz : *Xa27*, *Xa10*, et *Xa23* : codent pour des protéines avec de multiple domaines transmembranaires hypothétiques (Le *Bs4C-R*, code pour une protéine de ce type)

Poivron : *Bs3/Bs3-E* et *Bs4C-R* : codent pour des protéines ayant une fonction catalytique. Les *Bs3* et *Bs3-E* codent pour une flavine mono-oxygénase hypothétique.

Complément

Une meilleure compréhension de la spécificité de la liaison des TALEs à l'ADN a permis le développement gènes exécuteurs synthétiques induisant l'immunité contre de multiples races de *Xanthomonas*. Cette stratégie peut être utilisée pour concevoir la résistance contre la bactérie *R. solanacearum*, qui elle aussi produit des effecteurs de type TALE, connus sous le nom de RipTALs.

4.3. Perte de Sensibilité

La perte de la sensibilité est le moyen de résistance dans le cas des plantes portant de gènes de sensibilité (S)(voir Chapitre : Gènes de sensibilité). La perte de sensibilité peut avoir lieu de 3 manières :

- Active
- Passive
- Reprogrammation de la plante hôte (mutations)

Remarque

Plusieurs cas de perte de sensibilité confère une résistance durable.

⊕ Complément

Quand les pertes de sensibilité arrivent à se fixer dans la population, elles vont se comporter comme une résistance non-hôte.

4.3.1. Perte de Sensibilité Active

Les gènes de résistance (*R*) contrôlant les mécanismes de la perte active de la sensibilité codent pour des protéines qui désarment la pathogène, en interrompant un processus clé du pathogène. Ces mécanismes actives sont, généralement, exprimés de manière constitutive, et dans certains cas, sur-exprimés suite à la détection d'un pathogène.

En plus, les mécanismes actives de perte de sensibilité peuvent causer une production d'éliciteurs (PAMPs et DAMPs) qui seront par la suite aperçus et vont amplifier les réponses immunitaires.

🔗 Exemple : Le gène *Hm1*

Le gène *Hm1* (orge) code pour une réductase dépendant de NADPH, qui impliquée spécifiquement dans la détoxification de la HC toxine produite par le champignon *Cochliobolus carbonum* (*Helminthosporium carbonum*)

🔗 Exemple : Le gène *TM-1*

Le gène *Tm-1*, de la tomate, code pour une protéine qui inhibe la réplication de l'ARN du *Tomato mosaic virus*, en se liant aux protéine de réplication du virus, et conférant ainsi la résistance à tomate contre le TMV.

4.3.2. Perte de Sensibilité Passive

La perte de la capacité d'interagir avec les facteurs de sensibilité clés de l'hôte par les effecteurs du pathogène est mécanisme très commun contrôlant la résistance récessive (contrôlée par des gènes de résistance récessifs).

🔗 Exemple

La moitié des gènes de résistance contre les virus, confèrent cette résistance par une perte d'interaction avec les effecteurs viraux. La majorité des gènes *R* récessifs identifiés agissent contre les Potyvirus. Ces gènes codent pour des facteurs d'initiation de la traduction faisant partie de familles 4E ou bien 4G, et qui sont incapable d'interagir avec la tête de l'ARNm viral pour initier la traduction.

🔗 Exemple

Un tiers des gènes de résistance du riz contre *Xanthomonas oryzae* sont hérités de manière récessifs.

Une mutation récessive dans le promoteur du gène *xa13* empêche l'effecteur TALEAvrXa13 de manipuler le promoteur de ce gène, ainsi rendant ce génotype de riz résistant contre cette bactérie, par la perte de sensibilité. Ce riz n'est plus sensible à la bactérie.

4.3.3. Perte de Sensibilité Passive par la Reprogrammation d'hôte

La reprogrammation de l'hôte par mutations dans les composantes des voies cellulaires est une stratégie commune conduisant à une résistance durable contre un spectre large de pathogène. Il s'agit, généralement d'un trait récessif, mais peut impliquer dans certains cas des allèles dominant-négatifs. Les gènes faisant partie de ce groupe sont

généralement appelé : *Adult Plant Resistance gene* (APR= gène de résistance des plantes adultes). La résistance contrôlée par ces gènes est exprimée dans la plante adulte, généralement.

🕒 Exemple : Le gène *MLO*

La senescence associée au mécanisme de perte de sensibilité, est contrôlée par la perte de fonction récessive du gène *mlo* (*Mildew Locus O*) Le gène *MLO* code pour une protéine membranaire avec des fonctions inconnues et qui agit comme étant un régulateur négatif de la mort cellulaire dans le cas des stress biotique et abiotique. Les allèles de *MLO* subissant une perte de fonction sont associés avec la mort cellulaire spontanée. Dans le cas du riz et d'*Arabidopsis*, le gène *MLO* est co-exprimé avec les gènes *PEN1*, *PEN2*, et *PEN3*, qui sont nécessaires pour une réponse active contre les oïdiums. *MLO* agit comme un régulateur négatif des voies *PEN1/PEN2/PEN3*. mais ces gènes sont nécessaires pour l'immunité induite par *mlo*. Par conséquent la perte d'un suppresseur général de la mort cellulaire peut conférer la résistance contre les oïdiums.

🕒 Exemple : Le gène *Lr67*

Le gène *Lr67* est un gène dominant du blé conférant une résistance partielle contre les rouilles et l'oïdium et causé par une mutation dans un transporteur de sucres qui diffèrent par 2acides aminés des allèles sensibles. La protéine *Lr67* montre un effet négatif-dominant avec l'hétérodimérisation avec la protéine codée par l'allèle sensible, réduisant ainsi la quantité de sucre prélevée par le pathogène, et qui finalement cause une nécrose au bout de la feuille.

VI Les Cascades de Signalisation

1. Introduction

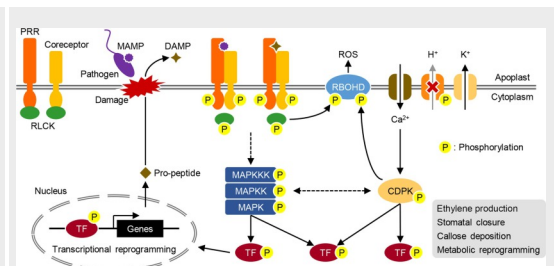
Le succès de la réponse immunitaire nécessite un contrôle précis du moment, de l'amplitude et de la durée de la réponse induite. L'activation spontanée ou l'incapacité à atténuer la signalisation après l'activation immunitaire peut avoir un effet néfaste sur l'hôte. Ce qui explique la complexité des processus de transduction de signal à partir des récepteur immunitaires jusqu'aux sites responsable du contrôle des réponses immunitaires.

Après détection de la présence d'un agent pathogène et reconnaissance de quel agent pathogène il s'agit, le message doit être transféré des systèmes de reconnaissance (PRRs et protéines de résistance) vers le noyau et/ou les autres organites impliqués dans les réponses immunitaire. Plusieurs voies de signalisation sont impliquées, en fonction de l'origine du message : les PRRs ou les protéines R.

- Les *Receptor-Like Cytoplasmic Kinases* (RLCKs)
- La Protéine G
- La Voie de la *Mitogen-Activated Protein Kinases* (MAPKinase)
- Le Calcium
- Les *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Espèces/Molécules Actives d'Oxygène)
- L'Oxyde Nitrique
- Les Protéines de Résistance Helpers (Assistants)

et autres molécules...

Figure 6.1. La perception des PAMPs et DAMPs par les récepteurs PRRs implique une association/dissociation dynamique avec des corécepteurs et des kinases cytoplasmiques de type récepteur (RLCK), et une transphosphorylation au sein des complexes PRR pour lancer la signalisation en aval. Les signaux dérivés du PRR sont transmis via d'autres cascades de phosphorylation, y compris les protéines kinases activées par des mitogènes (MAPK) et les protéines kinases dépendantes du calcium (CDPK) vers les cibles en aval telles que la NADPH oxydase RBOHD, les H⁺-ATPases de la membrane plasmique (PM) et les facteurs transcriptionnels (TF) pendant PTI.



Remarque

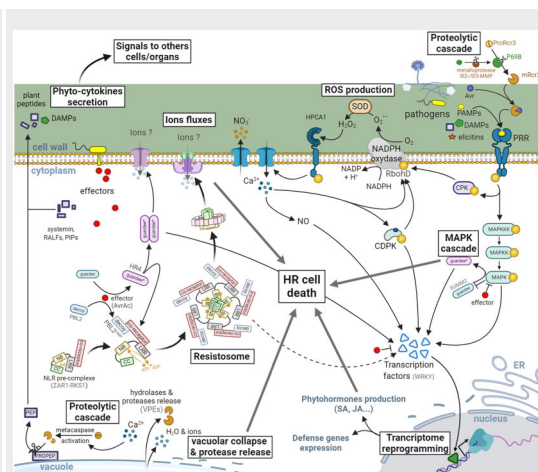
Le système de signalisation chez les plantes fonctionne en réseau et de manière redondante afin d'éviter la réussite des actions des effecteurs de manipuler la physiologie de la plante et bloquer le système immunitaire végétal, et aussi d'amplifier les réactions de défense afin d'assurer d'éliminer le pathogène et limiter la maladie.

La signalisation (transduction du signal) est l'étape clé entre la détection et reconnaissance de l'agent pathogène et les réponses immunitaire de la plante. Les pathogènes les plus adaptés peuvent interférer avec cette étape par l'utilisation des effecteurs. Dans ce cas, malgré que la plante a détecté et reconnu l'agent pathogène n'arrive pas à déclencher les réponses immunitaires. Le message portant cette information est bloqué quelque part entre la détection et la réponse. Pour dépasser cet issus les plantes utilisent plusieurs voies de signalisation. Certaines sont spécifiques à la PTI, d'autres à l'ETI et il existent d'autres voies communes entre les deux niveaux immunitaires.

La plante utilise, en réalité, un réseau pour transmettre le message indiquant la présence du pathogène. Plusieurs voies peuvent transmettre le même message. On parle de la redondance dans la signalisation. Malgré les couts supplémentaires que représentent cette redondance, elle est conservée pour plusieurs raisons, principalement pour :

- Le renforcement des réponses immunitaires
- Échapper au contournement du système de signalisation par les effecteurs du pathogène.

Figure 6.2. La transduction du signal du moment de la détection et reconnaissance de l'agent pathogène jusqu'au déclenchement de la réaction d'hypersensibilité. Les PRRs sont activés par la reconnaissance de molécules élicitrices résultantes de la dégradation des cellules végétales (DAMPs) ou bien libérées par le pathogène (PAMPs : élicitines, facteurs d'avirulence apoplastiques (Avr)). Le signal est par la suite transmis par une cascade (série) d'événement de phosphorylation dans laquelle sont impliqués : les MAPKs, les protéines kinases cytoplasmiques (CPK) et des facteurs de transcription, principalement la famille WRKY. Cette phosphorylation peut aussi activer la NADPH oxydase RhoH, conduisant à la production des ROSs (O_2^- transformé en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par la superoxyde dismutase (SOD)). Un flux de Ca^{2+} intracellulaire déclenché rapidement après la perception du H_2O_2 par la HPCA1 conduisant à la production de l'oxyde nitrique (NO), ainsi qu'à l'activation des facteurs de transcription via les protéines kinases dépendantes du calcium (CDPKs). Par la suite, une reprogrammation des activité de transcription pour exprimer les gènes de défense impliqués dans la synthèse des phytohormones (SA, Ja,...), les phytoalexines à activité antimicrobienne ou bien même la libération des enzymes à activité lytique (glucanases, chitinases,...) qui font partie des protéines liées à la pathogénèse (*Pathogenesis-Related Proteins (PR proteins)*). En même temps, les effecteurs sécrétés par le pathogène afin de surmonter les défenses de la plante peuvent être aussi détectés de



manière directe ou indirecte (par la reconnaissance d'une protéine modifiée de l'hôte), reconnus par les protéines de résistance. Cette reconnaissance induit, en général, induit un changement de conformation dans la protéine (noté ici par un asterix et une modification de couleur), permettant l'échange d'un ADP par un ATP et par conséquent, l'activation de protéine de résistance, ce qui résulte dans certains cas un complexe macromoléculaire comme par exemple le résistosome ou une activation des facteurs de transcription. On pense que ces complexes moléculaire de grande taille travaille par l'engagement d'autres moyens de signalisation conduisant au renforcement des défenses déjà en place, ou par la formation des pores dans la membrane plasmique. Une mort cellulaire de type HR est observée par la suite, localisée au point de pénétration, afin de bloquer la dissémination du pathogène. Cette HR sera aussi associée avec la libération des DAMPs, phytohormones et des phyto-cytokines qui vont transmettre l'information aux cellules et organes avoisinant(e)s pour prévenir les infections futures des tissus sains. Certains peptides végétaux (par exemple : PEPs) peuvent être transformés par la metacaspase et libérés dans l'apoplaste pour amorcer les réponses immunitaire dans les cellules du voisinage, et par conséquent établir la résistance locale (Roudaire et al., 2021*).

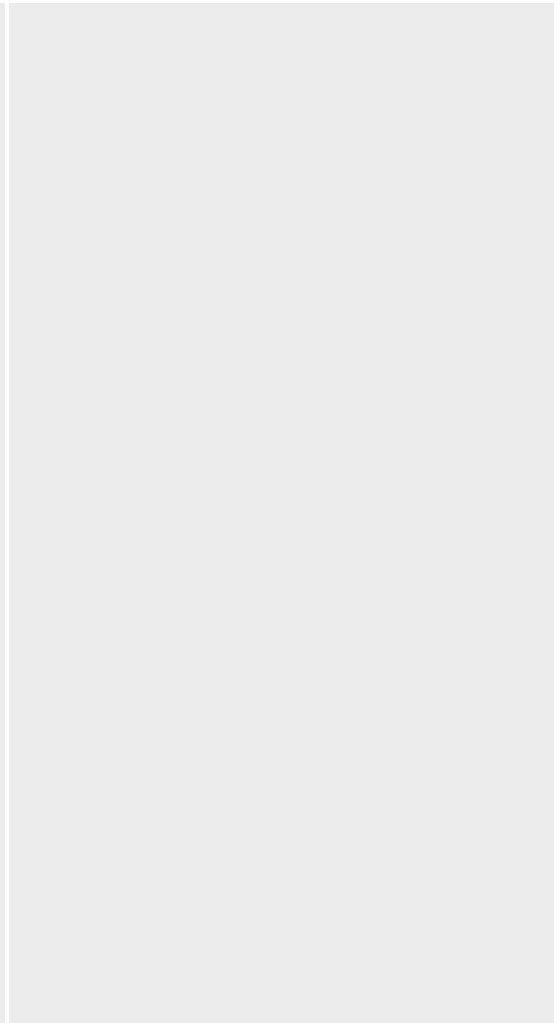
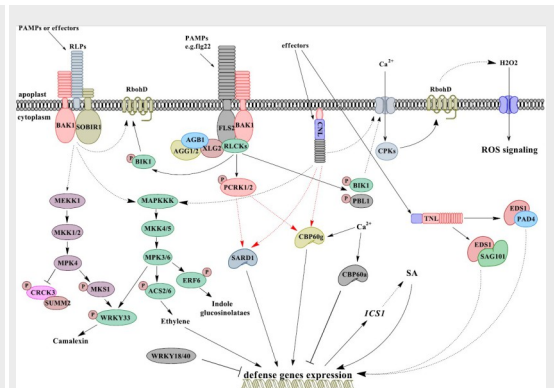


Figure 6.3. Aperçu sur les voies de signalisation aboutissant aux réponses de défense et déclenchés par les récepteurs immunitaires végétaux. La perception des PAMPs ou bien des effecteurs cause une activation des récepteurs membranaires dans la famille des *receptor-like kinase* ou bien *receptor-like proteins* et chez les familles de protéines de résistance induisant un flux de calcium, l'activation des *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs ou MPKs) et la production des espèces réactives d'oxygène (ROS). Plusieurs *Receptor-like Cytoplasmic Kinases* (RLCKs= les kinases cytoplasmiques ressemblant aux récepteurs)) s'associent avec les PRRs comme par exemple la FLS2. Parmi lesquelles, BIK1 et PBL1 contribuent à l'activation des flux de calcium. La BIK1 contribue aussi à la induction de la production des ROS par la phosphorylation de la RbohD. Deux RLCKs (PCRK1 et PCRK2) contribuent à l'activation de l'expression de SARD1 et CBP60g. Le flux du calcium contribue à l'activation de la RbohD et à la production des ROS via la phosphorylation de la RbohD par les protéines kinases dépendantes du calcium (CPKs). L'activation des MPKs induit la synthèse de l'éthylène, camalexine et l'indole glucosinolate. L'activation des réponses de défense par les



protéines R (TNLs) est facilité par les complexes EDS1/PAD4 et EDS1/SAG101. BAK1 = *BRI1-associated receptor kinase1*, SOBIR1 = *suppressor of bir1 1*, MKK = *MAPK kinase*, MEKK = *MAPK/ERK kinase kinase*, MAPKKK = *MAPK kinase kinase*, CRCK3 = *calmodulin-binding RLCK3*, SUMM2 = *Suppressor of mkk1 mkk2 2*, MKS1 = *MAP kinase substrate 1*, WRKY = *WRKY DNA-binding protein*, BIK1 = *Botrytis-induced kinase 1*, PBL1 = *PBS1-like 1*, ACS = *1-AMINO-CYCLOPROPANE-1-CARBOXYLATE SYNTHASE*, ERF6 = *ethylene response factor 6*, FLS2 = *flagellin-sensitive2*, AGB1 = *Arabidopsis G protein b-subunit 1*, AGG1/2 = *Arabidopsis G protein g-subunits 1 and 2*, XLG2 = *extra-large GTP-binding protein 2*, PCRK1/2 = *pattern-triggered immunity compromised receptor-like cytoplasmic kinase 1 and 2*, TNL = *Toll-interleukin 1-like receptor-nucleotide binding-leucine rich repeat*, SARD1 = *SAR deficient 1*, CBP60 = *calmodulin-binding protein 60*, RhohD = *respiratory burst oxidase protein D*, SA = *salicylic acid*, ICS1 = *isochorismate synthase 1*, EDS1 = *enhanced disease susceptibility 1*, PAD4 = *phytoalexin deficient 4*, SAG101 = *senescence-associated gene 101*. Les lignes rouges indiquent la régulation par contrôle transcriptionnel (Peng et al., 2018*).

2. Les Receptor-Like Cytoplasmic Kinases (RLCKs)

Les *Receptor-Like Cytoplasmic Kinases* (RLCKs) (kinases cytoplasmiques ressemblant à des récepteurs) sont des molécules qui contiennent un domaine kinase cytoplasmique spécial contenant un motif Ser/Thr, mais il n'a pas de domaine extracellulaire ni transmembranaire. Après détection des éliciteurs (MAMPs, PAMPs, DAMPs) les PRRs interagissent immédiatement et directement avec les RLCKs.

🕒 Exemple : BIK1

Chez *Arabidopsis*, BIK1 interagit avec le récepteur FL2 (un PRR) et il est rapidement phosphorylé dans une manière dépendante de la perception du peptide de la flagelle bactérienne (flg2) par le récepteur FLS2. Le BIK1 est nécessaire pour la production des ROSs, après détection des différents PAMPs.

Le PBL1 (un autre RLCK) et en association avec le BIK1 sont tous les deux nécessaires pour l'augmentation de la concentration du Ca²⁺ induite par la perception des PAMPs, suggérant ainsi qu'ils sont impliqués dans l'activation de signal par le Ca²⁺ dans la PTI.

Exemple : PCRK1 et PCRK2

Les PCRK1 et PCRK2 interagissent aussi avec la FL2 et sont rapidement phosphorylés suite à la perception du flg2. Les PCRK1 et PCRK2 fonctionnent de manière redondante pour stimuler la production de l'acide salicylique induite par les pathogènes. La perte des PCRK1 et PCRK2 résulte en une PTI compromise et une résistance faible contre les pathogènes

Exemple : OsRLK185

Chez le riz, l'OsRLK185 s'associe à l'OsCERK1 (récepteur PRR de la chitine) et il est phosphorylé par celui dernier après la perception de la chitine. L'OSRLK185 et son homologue d'*Arabidopsis* PBL27, sont impliqués dans l'induction (liée à la perception de la chitine) de la production des ROSs et l'activation de la voie MAPK.

3. La Protéine G

Chez les champignons, la protéine G est composée de 3 sous-unités : G α , G β , et G γ servant comme coupleurs pour connecter la protéine à d'autres enzymes dans le processus de transduction de signal. Chez les plantes, la protéine G fonctionne comme un point convergent dans les processus de signalisation immunitaires via les RLKs. La perte de la sous-unité G β (AGB1) ou les sous-unités G γ (AGG1 et AGG2) résulte en une production réduite des ROSs induite par les différents éliciteurs, ce qui va compromettre la PTI.

4. La Voie de la Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPKinase)

Il s'agit d'une cascade avec plusieurs MAPKs, et qui hautement conservée chez les eucaryotes. La perception des éliciteurs (MAMPS, PAMP, ou DAMPs) par les PRRs induit une activation rapide de la voie à MAPKs. Chez *Arabidopsis* au moins 6 enzymes kinases : MPK1, MPK3, MPK4, MPK6, MPK11 et MPK13 qui sont activées par l'éliciteur bactérien flg22 (fragment protéique des flagelles bactériennes).

Les MAPKs phosphorylent une gamme large des protéines cibles, avec différents rôles dans les réponses immunitaires de la plante, servant ainsi comme un point divergent de signalisation.

L'activation de la MPK3 et MPK6 dépend des MKK4 et MKK5 en amont. L'activation du MPK4 par l'éliciteur flg22 est dépendante de MEKK1 et MKK1 et MKK2 en amont.

Figure 6.4. La voie de signalisation MAPKinase (Meng & Zhang, 2013*)

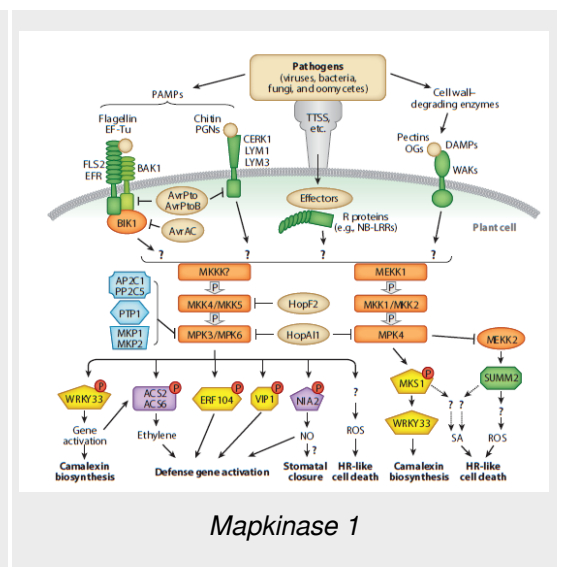
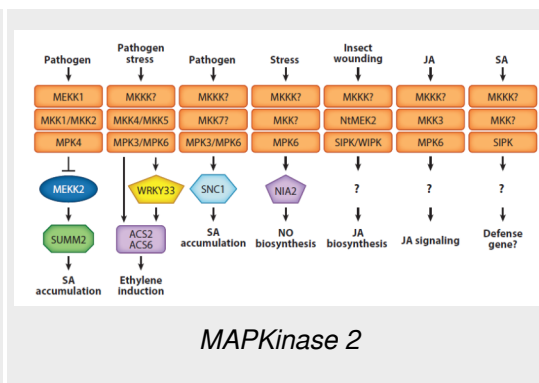


Figure 6.5. La voie de signalisation MAPKinase (Meng & Zhang, 2013)



Chez *Arabidopsis*, MPK3 et MPK6 sont impliquées dans l'activation d'une multitude de réponses immunitaires. Elles stimulent la biosynthèse de l'éthylène par la phosphorylation des ACS2 et ACS6 (2 enzymes impliqués dans sa synthèse). Cette phosphorylation stabilise ces 2 enzymes et par conséquent améliore la synthèse de l'éthylène.

Les MPK3 et MPK6 contrôlent la synthèse de la camalexine en ciblant la protéine WRKY33. La phosphorylation de cette dernière par les MPK3 et MPK6 est nécessaire pour assurer son rôle dans la stimulation de la synthèse de la camalexine induite par le pathogène. Ces 2 MPK stimulent la synthèse de l'indole glucosinolate (impliqué dans les réactions immunitaires) par la phosphorylation de l'*Ethylene Response Factor6* (ERF6). Elles sont impliquées aussi dans la stimulation des réponses immunitaires impliquant les stomates par la modulation du métabolisme du malate durant l'infection.

La MPK4 est une enzyme multifonctionnelle. Elle est impliquée dans la régulation positive et négative de l'immunité chez les plantes. Elle contribue d'environ 50% dans la stimulation de l'expression génétique suite à la détection de l'éliciteur flg22. La cascade MEKK1-MKK1/MKK2-MPK4 stimule la résistance basale contre les pathogènes. Elle est surveillée par la protéine de résistance SUMM2.

Dans la tomate, le silencing de la MAPKKK α réduit l'intensité de la HR suite à la détection de l'effecteur bactérien AvrPto.

Remarque

L'activation de la MAPK dans une réponse PTI dure moins d'une heure. L'activation de la MPK3 et MPK6 par la protéine de résistance (ETI) dure plusieurs heures.

Fondamental

L'activation continue des MPK3 et MPK6 contribue à l'activation de l'expression génétique et de la résistance contre les pathogènes, sans l'implication de l'acide salicylique (hormone impliquée dans la signalisation).

Attention

Jusqu'à maintenant, l'implication de la cascade MAPK dans la signalisation suite à la détection des pathogènes par les protéines de résistance reste à prouver. La méthode par laquelle la protéine de résistance RPS2 active la MAPK reste inconnue.

5. Le Calcium

La calcium joue le rôle d'un messenger secondaire dans plusieurs processus de signalisation. La détection des éliciteurs par les PRRs induit immédiatement un flux de Ca^{2+} au niveau de la membrane cytoplasmique. De la même manière, la détection des effecteurs des pathogènes par les protéines de résistance induit un flux de Ca^{2+} . Plusieurs protéines impliquées dans l'immunité végétale et qui répondent aux changements des concentrations de Ca^{2+} dans le cytoplasmes ont été identifiées. Les chaînes à travers lesquelles le Ca^{2+} traverse la membrane cytoplasmique sont encore inconnues.

Figure 6.6. Signalisation par le calcium. Les chaînes à calcium, les *sensors* et les gènes impliqués ainsi que les protéines sont présentés dans le schéma. PTI : PAMP triggered immunity, flg22 : un éliciteur (PAMP) bactérien composé de 22 acides aminés et situé dans la flagelle, FB1 : fumonisins B1, FLS2 : Flagellin-sensitive 2, CNGCs : Cyclic nucleotide gated channel, BAK1 : Brassinosteroid insensitive 1-associated receptor kinase 1, SERK4 : Somatic embryogenesis receptor kinase 4, BIK1 : Botrytis-induced kinase 1, BIR1 : BIK1-interacting receptor-like kinase1, SOBIR1 : Suppressor of BIR1-1, Peps : Plant elicitor peptide, PERRs : Extracellular Pep receptors, CaM : Calmodulin, CML : CaM-like protein, CDPK(CPK) : Ca^{2+} -dependent protein kinase, CBL : Calcineurin B-like protein, CIPK : CBL-interacting protein kinase, cAMP : 3'-5'-cyclic adenosine monophosphate, cGMP : Cyclique guanosine monophosphate, AC : Adenylate cyclase, PDE : phosphodiesterase, PHS : Phytosphingosine, MC4 : Metacaspase 4, 14-3-3 : 14-3-3 proteins, SERCA : Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase, ACA : Autoinhibited Ca^{2+} -ATPase, RPM1 : Resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *Maculicola* 1, AvrRpm1 : *Pseudomonas syringae* type III effector, MAPK : Mitogen activated protein kinase

(Ren et al., 2021^{*}).

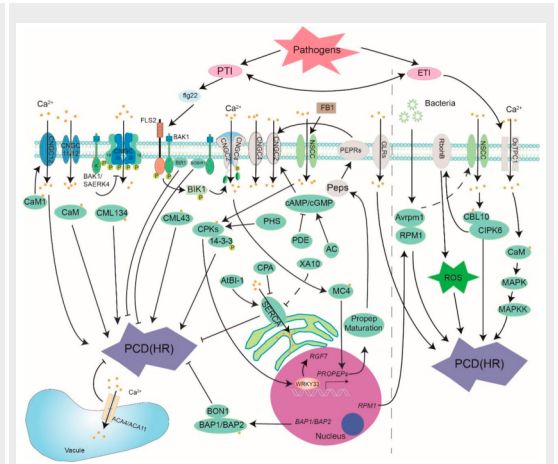
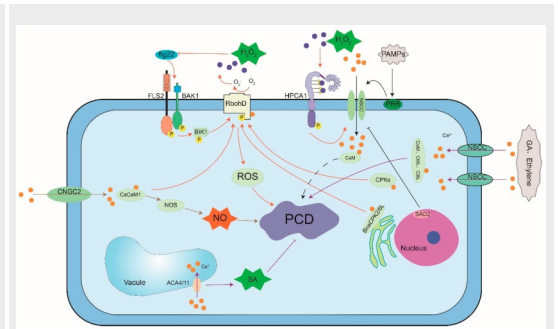


Figure 6.7. Interactions du calcium avec les autres messagers. Plusieurs molécules de signal peuvent induire la mort cellulaire programmée, y inclus le calcium, les ROSs, NO et les hormones. HPCA1 : Hydrogen peroxide sensor, PAMPs : Pathogen-associated molecular pattern, PRR : pattern-recognition receptor, RBOHD : Respiratory burst oxidase homolog protein, SA : salicylic acid, GA : gibberellin (Ren et al., 2021^{*}).



💡 Fondamental

Malgré que le calcium est un messager secondaire, il est indispensable dans l'induction de la réaction d'hypersensibilité (HR).

🔗 Exemple

Chez *Arabidopsis*, 4 kinases dépendantes du calcium dans leur activité (*Calcium-dependent protein kinases* : CPK4, CPK5, CPK6 et CPK11) sont impliquées dans la stimulation de la synthèse des ROSs et la reprogrammation de la transcription génétique, suite à la détection de l'éliciteur flg22.

CPK5 et CPK6 sont aussi impliquées dans la régulation positive de l'ETI. La perte de ces deux kinases conduit à une résistance compromise même si elle est signalée par les protéines de résistance RPS2 et RPM1. Les CPK4, CPK5 et CPK11 peuvent phosphoryler plusieurs facteurs de transcription WRKY. Cette phosphorylation améliore leur fixation sur l'ADN.

CPK1 et CPK2 stimulent la production des ROSs, suite à l'activation du système immunitaire par les protéines de résistance RPS2 et RPM1.

⊕ Complément

Plusieurs facteurs de transcription liés à la calmoduline (*calmodulin (CaM)-binding transcription factors*), par exemple : CAMTA3, CBP60 et CPB60a ont été identifiés comme des régulateurs clés de défense chez *Arabidopsis*. La perte de CAMTA3 cause l'autoimmunité (phénomène partiellement à la résistance induite par les protéines de résistance DSC1 et DSC2). La perte de CPB60a résulte en une amélioration de l'expression des gènes impliqués dans la résistance basale. Par contre, la perte de CPB60g cause une réduction de l'accumulation de l'acide salicylique induite par l'éliciteur flg22, et par la suite une augmentation de la sensibilité à la bactérie *Pseudomonas syringae*.

🔔 Rappel : La Calmoduline (CaM : Calcium-Modulated protein)

Protéine modulée du Calcium : Il s'agit d'un récepteur protéique intracellulaire ubiquiste pour les ions Ca^{2+} . Cette protéine joue le rôle d'un messager multifonctionnel intermédiaire.

⊕ Complément

Après la perception de différents stimuli biotiques et abiotiques, des changements spatiaux et temporels dans les concentrations de Ca^{2+} cytosolique libre ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$) sont fréquemment observés comme une réponse immédiate (à la perception).

💡 Fondamental

Le calcium est impliqué dans la signalisation de plusieurs stimuli et pas uniquement les stress.

6. Les Molécules Actives d'Oxygène

La production des ROSs est induite rapidement après la perception des éliciteurs et aussi des effecteurs. La majorité des ROSs apoplastiques sont produites par la RbohD (*Respiratory burst oxidase homolog D*) suite à sa phosphorylation par la BIK1 après la détection de l'éliciteur flg22.

Les ROSs produites par la RbohD contribuent à la résistance contre les pathogènes. Elles sont aussi impliquées dans la stimulation de la mort cellulaire induite par la protéine de résistance RPM1.

Figure 6.8. La région C-terminal de la RbohD est phosphorylée, et s'attache à elle des molécules d'ubiquitine par la PBL13 et PIRE respectivement, dans un état de repos, qui va diminuer la stabilité de la RbohD par la dégradation dans le tonoplaste. Suite à la détection de l'éliciteur flg22, la RbohD est activée par la phosphorylation de la région N-terminal, causant ainsi l'accumulation des ROSs dans l'oplasme et stimule l'immunité induite par les ROSs. La PIRE est phosphorylée de manière dynamique durant l'activation de système immunitaire (Lee et al., 2020*).

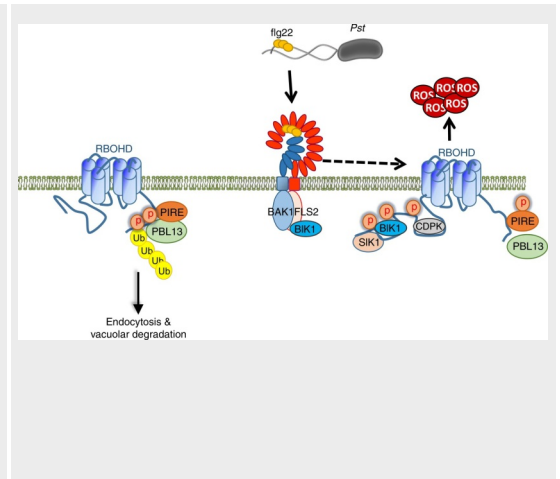
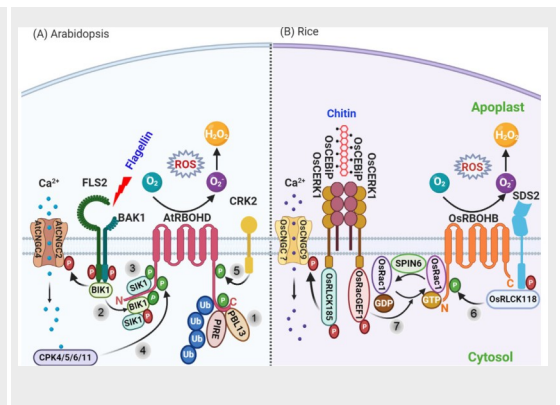


Figure 6.9. Régulation de la production des ROSs. (Wang et al., 2020*).



7. Les Protéines de Résistance Helpers (Assistantes)

Plusieurs protéines de résistance de type *sensors* (DéTECTEURS) utilisent les protéines R *helpers* dans la signalisation et l'induction des réactions de défense.

Jusqu'à maintenant, toutes les protéines de résistance *helpers* (découvertes) font partie de la famille NLRs.

Figure 6.10. Le réseau de signalisation des protéines de résistance *sensors* et *helpers*. Les liaisons de dépendance dans la signalisation (des protéines de résistance), démontrées expérimentalement, sont en flèches colorées ; gras = signalisation dépendante de l'ADR1, italique = signalisation dépendante du

NRG1, gras italique = signalisation dépendante de ADR1 et NRG1, souligné = signalisation dépendante du NRC, normal = inconnu/non analysé. On ne sait pas si les NRCs des solanacées nécessitent les *helpers* pour la signalisation de la mort cellulaire et la résistance, mais c'est très probable, comme par exemple la résistance induite par la Rx2 dans le cas de *N. benthamiana* nécessite l'implication des *helpers*. Son paralog Rx nécessite l'implication de 3 NRCs (NRC2, 3, 4) pour induire la mort cellulaire (Jubic et al., 2019*).

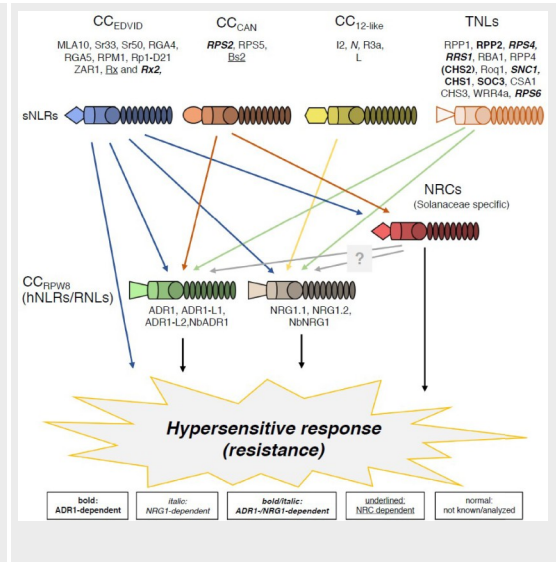


Figure 6.11. La transduction du signal après détection du pathogène par les protéines de résistance intracellulaires. Les protéines de résistance (NLRs) détectent les effecteurs du pathogène de manière spécifique. Dans le cas d'absence d'effecteurs correspondants aux protéines R disponibles chez la plante, les protéines de résistance sont dans un état de repos. Après reconnaissance du pathogène (via ses effecteurs), les NLRs forment des homo- ou des hétéro-dimères pour activer la signalisation du système immunitaire. Pour les TNLs, l'auto-association (homodimérisation) est nécessaire pour l'activité de la NADase de leurs domaines Toll/Interleukin-1, qui va briser le NAD⁺ en v-cADPR, ADPR, et NAM. L'un de ces produits issus de l'action de la NADase (NAD⁺ en v-cADPR, ADPR, et NAM) peut signaler à EDS1 d'induire la mort cellulaire. Pour les protéines R de type CNL, la reconnaissance des effecteurs va induire l'oligomérisation des CNLs pour former un résistosome. Ce dernier est nécessaire pour induire la résistance. Pour activer une résistance complète, les NLRs d'*Arabidopsis* ont besoin des NLRs helpers de type NRG1 et ADR1. Toutes les morts cellulaires induites par les protéines R de type TNL sont dépendantes des *helpers* de la famille NRG1 activant en aval du complexe EDS1-SAG101. Certaines réactions de résistance induites par les TNLs dépendent de l'ADR1 agissant en amont du complexe EDS1-PAD4. Les réponses immunitaires induites par les protéines de résistance de type CNL ont besoin essentiellement de l'ADR1 et de résistance associée à la membrane plasmique et en forme de pore (Wang et al., 2020*).

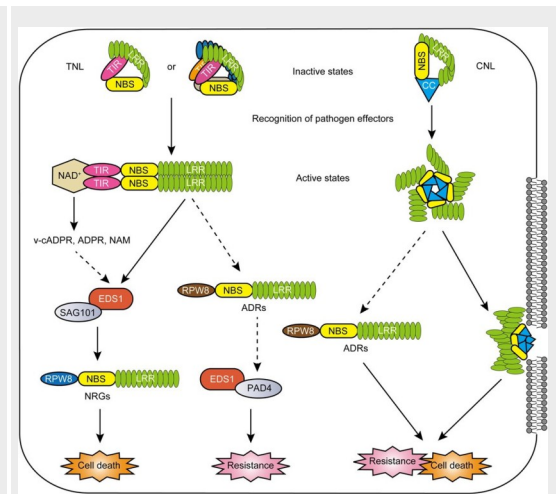
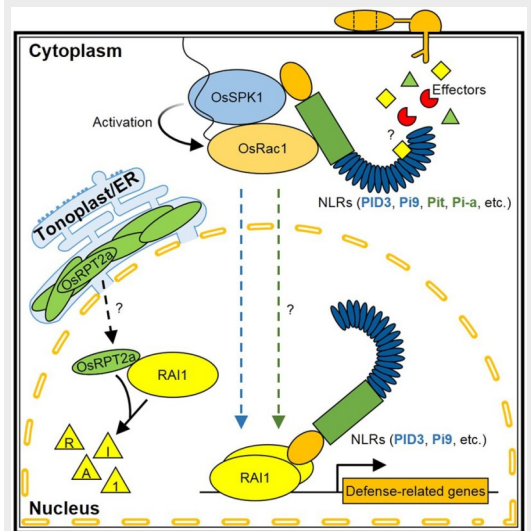


Figure 6.12. La transduction de signal après la reconnaissance du pathogène par les protéines R chez le riz. Après l'identification des

effecteurs de *Magnaporthe oryzae* les protéines de résistance du riz (y incluses : PID3, Pi9, Pit, et Pi-a) transmettent leurs signaux vers les composants en aval OsSPK1, un GEF, en se liant directement avec lui. L'OsSPK1 aide à la conversion de la GTPase OsRac1 au niveau de la membrane plasmique d'un état inactif lié au GDP à un état actif lié au GTP. L'OsRac1 activé induit l'activation de facteur de transcription RAI1 au niveau du noyau, causant une reprogrammation de la transcription des gènes impliqués dans la défense du riz. On ne sait pas encore si RAI1 est impliqué dans le déclenchement de la résistance induite par Pit ou Pi-a (marqué par un point interrogatif). PID3 et Pi9 montrent, tous les deux, une affinité avec RAI1 dans le noyau, on assume que c'est pour la protection du RAI1 de la dégradation par le protéasome 26S. L'OsRPT2a localisé dans le tonoplaste/RE offre une solution pour affiner l'accumulation du RAI1 *in-vivo*. Il se déplace vers le noyau (moyen inconnu) où il s'associe avec RAI1, conduisant à une réduction de l'accumulation du RAI1 dans une manière dépendante du protéasome (Yu et al., 2021^{*}).



7.1. Famille des ADR1

ADR1= Activated Disease Resistance 1

7.2. Famille des NRG1

NRG1= N Required Gene 1

7.3. Famille des NRC

NRC= NB-LRR protein required for HR-associated cell death

VII Le Système Immunitaire Végétal

La plante utilise deux systèmes de "surveillance" des pathogènes. Le premier est basé sur les récepteurs membranaires cellulaires, appelé *Pattern Recognition Receptors (PRR)* (Récepteurs de reconnaissance des motifs) . Son rôle est de détecter la présence des pathogènes le plutôt possible. Cette détection est basée sur une liaison physique de type Recepteur-Ligand. Il reconnaît des molécules généralement non-spécifiques d'origine microbienne (*Microbe-Associated Molecular Patterns (MAMPs)*), ou liée aux différents pathogènes (*Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs)*), ou bien elles résultent de l'interaction plante-pathogène (*Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs)*), par exemple, des molécules de sucres, acides gras,... issues de la digestion de la paroi sous l'effet des CWDEs.

Le deuxième système, est plus spécifique, il est basé sur la reconnaissance du pathogène par la détection de molécules hautement spécifique et liées au pathogène en question. On parle des effecteurs. Les effecteurs sont détectés et reconnus par les protéines de résistance.

Physiquement et temporairement, la résistance non-hôte est assurée par une **mal-adaptation** du pathogène par rapport à la plante avec laquelle il a entré en contact. Par exemple, la plante ne produit pas de molécules qui permettent aux pathogènes de la reconnaître afin de démarrer le processus infectieux (Pour plus de détail, voir le cours **Mécanismes de pathogénités des champignons phytopathogènes**).

Dans le cas d'une plante hôte, les 2 deux systèmes de surveillance (susmentionnés) entre en action. Le pathogène **adapté** arrive à initié le processus infectieux, ou au moins, il est capable de reconnaître que la plante avec laquelle il a entré en contact, est une plante hôte. Dans ce cas, nous avons deux cas de figure, les PRR détecte le pathogène et déclenchent les réponses défensives de la plante, le deuxième cas, est que le pathogène arrive à échapper à la détection par les PRRs (Pour plus de détail, voir le chapitre **Effecteurs**, cours **Mécanismes de pathogénités des champignons phytopathogènes**). Dans cette situation la plante utilise le deuxième système de détection/reconnaissance, en l'occurrence, les protéines de résistance.

1. Les Différents Modèles du Système Immunitaire Végétal

⚠ Attention

A noter que la PTI n'arrive pas à dépasser le niveau d'une réponse immunitaire induisant la HR. Uniquement la ETI induit la HR.

1.1. Théorie Gène-pour-Gène

Le premier modèle (théorie) expliquant les interactions plante-pathogène est la théorie gène-pour-gène. a été développé par Flor (1971) en étudiant la résistance du lin contre la rouille. Cette théorie stipule que pour chaque gène de résistance de la plante il y a un gène d'avirulence du pathogène. Pour que la plante soit résistante à un pathogène donné, elle doit avoir un gène de résistance dont le produit (protéine de résistance codée par ce gène) reconnaît le produit du gène d'avirulence (protéine d'avirulence). S'il n'y a pas reconnaissance, la plante est sensible et il y aura maladie.

Après reconnaissance de l'agent pathogène (indifféremment de type de reconnaissance : par les PRR ou bien par les protéines R), la plante déclenche les réponses immunitaires pour se défendre. Ces réponses peuvent varier en intensité selon le pathogène, mais aussi selon le génotype de la plante hôte.

Tableau 7.1. Théorie gène-pour-gène

Pathogène/Plante	<i>Plante R</i>	<i>Plante r</i>
Avirulence	Résistance	Sensibilité
avirulence	Sensibilité	Sensibilité

La plante est résistante lorsque la plante ayant un gène de résistance dominant interagit avec un pathogène ayant un gène d'avirulence dominant. Dans les autres situations, la plante n'est pas résistante. Légende : R : gène de résistance, r : gène de sensibilité, avr : gène de virulence, Avr : gène d'avirulence

Tableau 7.2. L'interaction (selon la théorie gène-pour-gène entre une plante ayant 2 gènes de résistance et un pathogène avec 2 gènes d'avirulence.

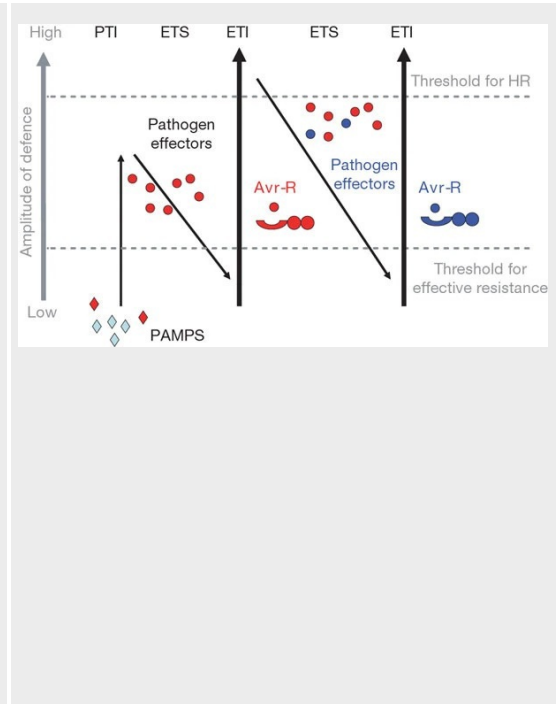
Pathogène/Plante	R_1R_2	R_1r_2	r_1R_2	r_1r_2
Avr_1Avr_2	Résistance	Résistance	Résistance	Sensibilité
Avr_1avr_2	Résistance	Résistance	Sensibilité	Sensibilité
avr_1Avr_2	Résistance	Sensibilité	Résistance	Sensibilité
avr_1avr_2	Sensibilité	Sensibilité	Sensibilité	Sensibilité

Légende : R : gène de résistance, r : gène de sensibilité, avr : gène de virulence, Avr : gène d'avirulence

1.2. Le Modèle Zig-Zag

La théorie gène-pour-gène suppose qu'il y a une interaction entre la protéine R et les protéines d'avirulence (reconnaissance directe). Maintenant on sait que ce modèle de reconnaissance directe ne représente pas la majorité des interactions. D'autres modèles ont été développés pour expliquer l'interaction plante-pathogène. Le plus couramment utilisé et le plus accepté est le modèle zig-zag, développé par Jones & Dangl en 2006 (voir figure ci-dessous). Ce modèle intègre les notions d'un système immunitaire végétal à deux niveaux : PTI et ETI.

Figure 7.1. Le modèle zigzag de l'interaction plante-pathogène (Jones & Dangl, 2006^{*}). Les éliciteurs (PAMPs, DAMPs) sont détectés par le PRR induisant une réponse immunitaire chez la plante hôte de type PTI. Le pathogène adapté utilise des effecteurs qui vont interférer avec la PTI. Il faut noter que la PTI n'arrive jamais à un niveau permettant le déclenchement de la HR. Le pathogène utilise les effecteurs pour bloquer la PTI. La plante utilise les protéines de résistance pour surveiller l'action des effecteurs. Les protéines de résistance arrivent à détecter et à reconnaître l'agent pathogène et déclenchent la ETI. A son tour, le pathogène utilise un certain nombre d'effecteurs pour bloquer la ETI induisant la ETS (*Effector Triggered Susceptibility* (Sensibilité induite par les effecteurs)). La plante continue à surveiller les effecteurs/molécules cibles arrive encore une fois à détecter et à reconnaître l'agent pathogène et va induire encore une fois la ETI.



Les études les plus récentes prouvent que les deux branches du système immunitaire des plantes (PTI et ETI) ne sont pas séparées l'un de l'autre. En réalité, il y a un renforcement mutuel entre la PTI et la ETI. Les travaux de Ngou et al. (2021)^{*} et Yuan et al. (2021)^{*} montrent que la ETI est dépendante des composantes de la PTI et qu'elle fonctionne en améliorant la PTI.

Figure 7.2. Renforcement mutuel de la PTI et la ETI. (a) : L'infection bactérienne déclenche les réponses défensives de la plante, comme par exemple l'activation de l'activité oxydase de NADPH (RBOHD) pour combattre l'infection par le pathogène (PTI, en rouge). Cependant les pathogènes adaptés utilisent des effecteurs (en noir) pour supprimer la PTI, et ainsi conduisant à une défense inefficace de la part de la plante hôte (traits en noir). (b) : Avec la présence des protéines de résistance, les effecteurs sont reconnus, et la ETI est activée (en bleu). L'activation des protéines de résistance conduit à une stimulation des composantes de la PTI, comme par exemple la RBOHD, contournant ainsi l'effet suppresseur des effecteurs bactériens (traits en gris). Par conséquent, l'action concertée de l'ETI et du PTI arrêtera efficacement l'infection (en noir). (Pruitt et al., 2021^{*}).

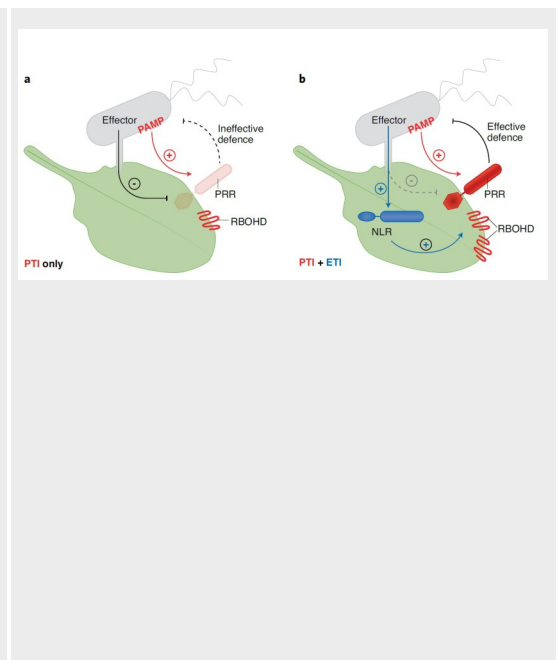
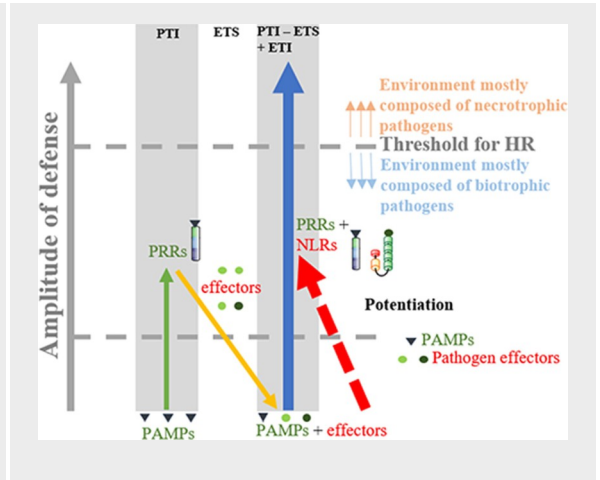


Figure 7.3. Le modèle zig-zag modifié par Ngou et al. (2020)



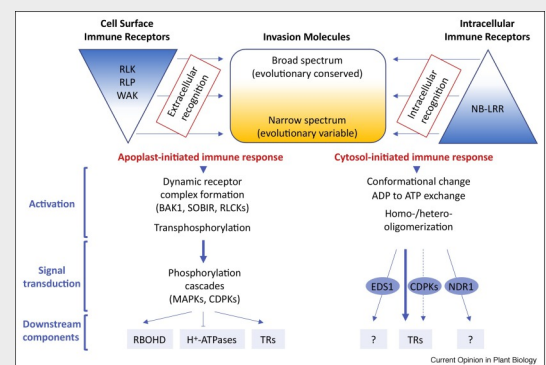
1.3. Le Modèle Invasion

Dans ce modèle le pathogène va utiliser des molécules d'invasion (à spectre large ou étroit (spécifiques)) pour l'invasion de la plante et contourner ses défenses. Les récepteurs de la plantes (PRR et protéines R) vont interagir avec les molécules d'invasion du pathogène et vont induire deux type d'immunité :

- Immunité cytoplasmique : c'est l'immunité qui se déclenche suite à la détection du pathogène dans le cytoplasmes
- Immunité induite dans l'apoplaste : c'est l'immunité qui se déclenche suite à la détection du pathogène par les récepteurs membranaires (protéines R membranaires et PRR)

Selon le mode d'activation du système immunitaire (cytoplasmique ou membranaire (apoplastique)) il va s'en suivre la transduction du signal et le déclenchement des réponses immunitaires.

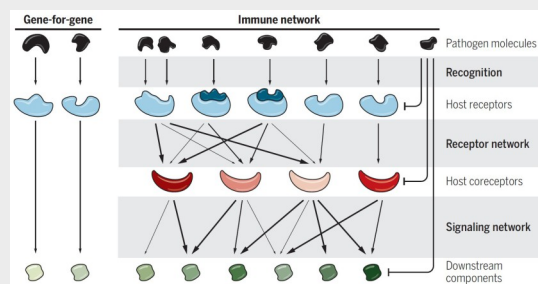
Figure 7.4. Le modèle Invasion (Kanyuka & Rudd, 2019^{*}).



1.4. Le Réseau Immunitaire

Le modèle "network" met l'accent sur la redondance du signal de transduction. Suite à la détection de l'agent pathogène la plante va utiliser des signaux multiples et redondants pour transmettre le message de la détection et reconnaissance d'un agent pathogène. Le même message est transmis par plusieurs voies et va arriver aux noyaux par différentes voies et méthodes. Le pathogène utilise les effecteurs pour essayer d'empêcher le signal de sa présence d'arriver au noyau. Aussi la plante va déclencher plusieurs réponses immunitaires soit en même temps ou bien de manière consécutive très rapprochées dans le temps. Aussi le pathogène utilise des effecteurs pour essayer de bloquer/inhiber ces réponses immunitaires.

Figure 7.5. Le système immunitaire en réseau (Wu et al., 2018^{*})



2. L'Immunité Induite par les Eliciteurs

Les réponses immunitaires induites par les éliciteurs sont déclenchées suite à la détection de la présence du pathogène à partir des éliciteurs (PAMPs et/ou DAMPs). En littérature scientifique en anglais on parle de PTI (*PAMPs Triggered Immunity*) qui veut dire une immunité induite par les éliciteurs. Après détection, une cascade de signalisation est déclenchée afin d'induire la défense de la plante.

Figure 7.6. La plante reconnaît le pathogène s'il y a compatibilité entre l'éliciteur et l'un des récepteurs PRR. Cette reconnaissance conduit au déclenchement des réponses immunitaire. Dans le cas où il n'y a pas compatibilité entre l'éliciteur et les récepteurs PRR de la plante, le pathogène passe inaperçu par la plante, et il y aura maladie, la plante est alors sensible. Vert : Récepteur, violet : éliciteur (Zhang et al., 2013^{*}).

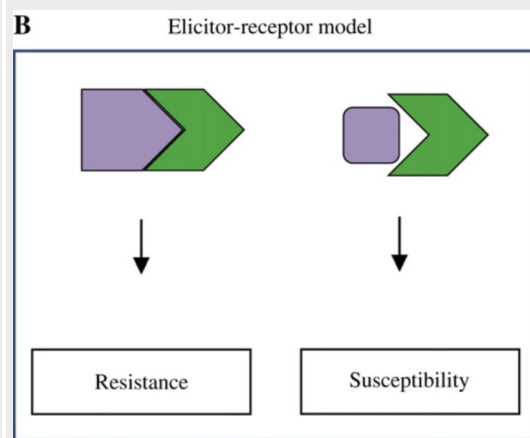


Figure 7.8. Après reconnaissance du pathogène, le message est transmis jusqu'au noyau pour le déclenchement de la transcription des gènes impliqués dans la défense, par exemple : les protéines PR, les métabolites secondaires,... (Mengiste, 2012^{*}).

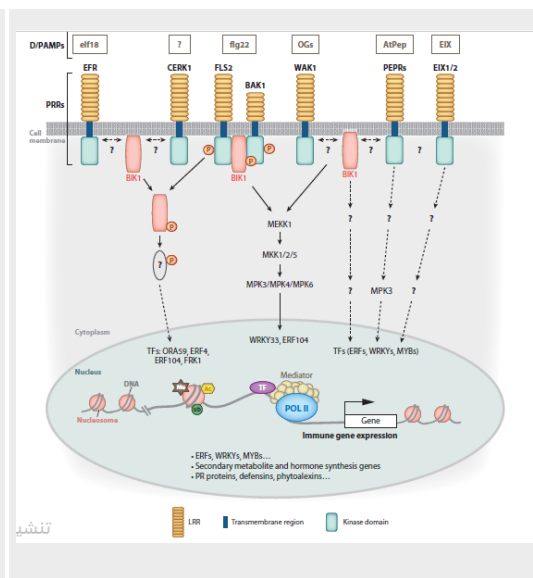
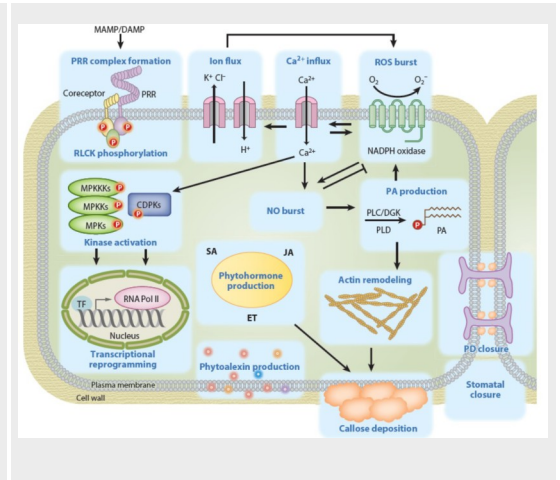


Figure 7.9. Après la détection et la reconnaissance de l'agent pathogène, plusieurs mécanismes de défense sont mis en route (Zhang et al., 2017*).



3. L'Immunité Induite par les Effecteurs

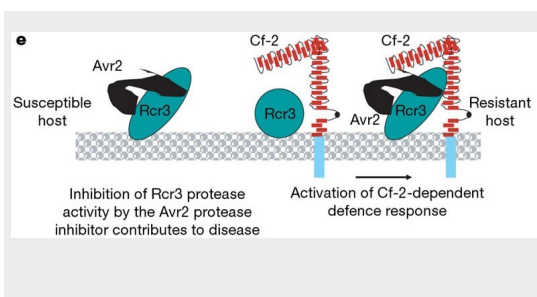
💡 Fondamental : PTI et ETI

En réalité la différenciation entre PTI et ETI est uniquement théorique. En pratique, jusqu'à maintenant on arrive pas à les distinguer l'une de l'autre. En plus, les mécanismes de défense induits sont presque les mêmes indifféremment de leurs modes d'induction !

💡 Fondamental

Les différences majeurs entre PTI et ETI est que la première est basée sur la reconnaissance des PAMPs et les deuxième est basée sur la reconnaissance des effecteurs, et aussi que la dernière peut induire la HR.

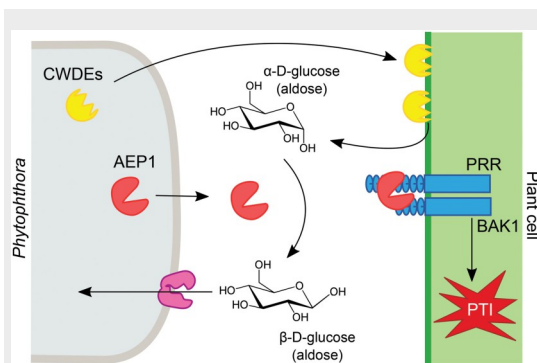
Figure 7.10. La protéine de résistance Cf-2 ne reconnaît pas l'effecteur Avr2. Elle reconnaît le complexe Avr2-Rcr3 (la Rcr3 est protéase qui fait partie des protéine liée à la pathogénèse). Le pathogène cible la Rcr3 pour inhiber son action. La reconnaissance du complexe Avr2-Rcr3 par la protéine de résistance Cf-2 va activer les réponses immunitaires de la plante (ETI).



⊕ Complément : Cas de l'effecteur AEP1

AEP1 (Aldose-1 Epimerase enzyme) est un effecteur dont le rôle est de modifier les sucres comme le glucose de sa forme α - à la forme β -, pour faciliter leur absorption par le pathogène (*Phytophthora sojae*).

Figure 7.15. l'effecteur AEP1 induit la PTI après sa détection par les PRRs. A l'infection, le pathogène *P. sojae* sécrète des CWDEs pour dégrader les parois cellulaires de sa plante hôte (soja). Les CWDEs libèrent dans l'appoplasme différents monomères issus de la dégradation des parois cellulaires (sucres, acides gras,...). Les pathogènes généralement utilisent ces produits de la dégradation comme des sources de carbone (voir cours **Mécanismes de pathogénicité des champignons phytopathogènes**). Dans le cas de *P. sojae*, et sa plante hôte, le soja, les CWDEs libèrent dans l'appoplasme des aldoses (α -glucose), le problème est que ce pathogène n'arrive pas à absorber cette forme, le pathogène sécrète aussi avec les CWDEs un effecteur appelé AEP1 dont le rôle est de convertir le α -glucose en β -glucose, facilement absorbé. La plante (soja) arrive à reconnaître le pathogène à travers la détection du AEP1 via les PRRs et induit la résistance. La plante ici



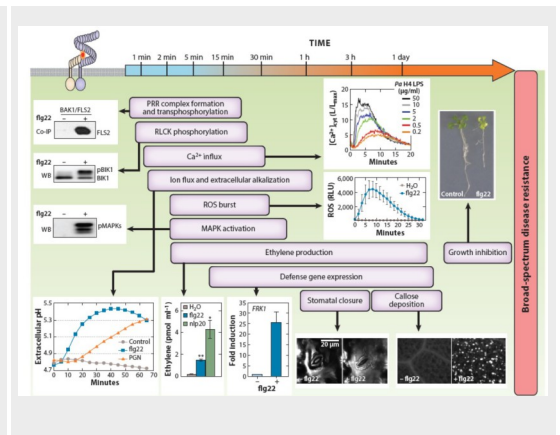
ne reconnaît pas l'AEP1 comme étant un effecteur (effet de l'effecteur sur la protéine/molécule cible) mais elle reconnaît sa forme secondaire ou primaire (tant que PAMPs) (Copeland, 2021^{*}).

D'autres effecteurs sont aussi reconnus par les PRRs, par exemple le nlp20, qui est un fragment de l'effecteur NEP1 (*Necrosis and lthylene-inducing Peptide 1*) par le récepteur RLP23. Les NLPs (NEP-Like proteins) sont sécrétées par les bactéries, oomycètes, et les champignons phytopathogènes.

4. Les Réponses Immunitaires

Après détection du pathogène par les PRRs ou bien par les protéines R, le signal (de présence de pathogène) est transmis jusqu'au noyau, où il y aura déclenchement de différentes réponse de défense.

Figure 7.10. La dynamique temporelle de la réponse immunitaire (Zhang et al., 2017^{*}).



Après que le signal, indiquant la présence d'un pathogène (PTI) ou dans le cas où la plante arrive à reconnaître quel pathogène (ETI), arrive au noyau la plante déclenche une panoplie de réponses afin de d'éliminer le pathogène :

- Le renforcement de la paroi
- Les métabolites secondaires
- Les protéines liées à la pathogénèse
- La réaction d'hypersensibilité

VIII Les Barrières Physiques de la défense

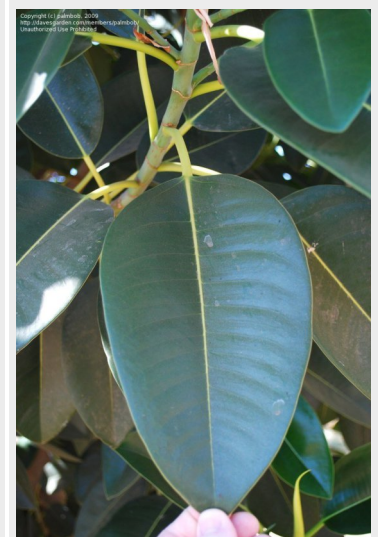
Les barrières physiques ou mécaniques sont les premières ligne de défense d'une plante contre les agresseurs (ravageurs et/ou pathogène).

1. Les Barrières Constitutives

🔗 Exemple

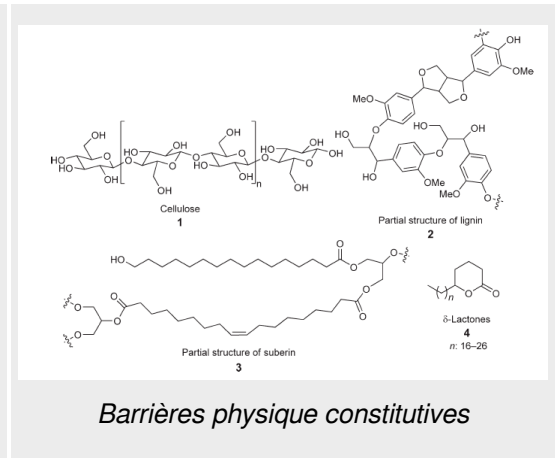
Les feuilles de certaines plantes, comme le Ficus sont couvertes par de la cire. Cette cire rend les feuilles très hydrophobes et vont empêcher les gouttelette d'eau de rester sur les feuilles. Ces gouttelette d'eau sont nécessaire pour la réussite de l'infection.

Figure 8.1. Feuille de *Ficus macrophylla*. Cette feuille est couverte d'une couche de cire importante hydrophobe empêchant ainsi la stagnation des gouttelettes d'eau nécessaire à l'infection.



Les barrières constitutives sont les structures existantes avant la détection de la présence de l'agent pathogène. Elles font partie de la constitution normale de la plante. La présence de ces barrières va empêcher la majorité des pathogènes d'infecter la plante.

Figure 8.2. Les barrières physiques constitutives. Les parois des tissus en contact avec l'extérieur sont naturellement renforcées avec d'autres molécules pour protéger la plante : En plus de la cellulose, et les autres molécules constituant de la paroi, on peut trouver de la cire, de la lignine, du xylane,....(Spiteller, 2008*).



1.1. La Cire

La cire est généralement déposée sur la partie extérieure des feuilles les rendant ainsi très hydrophobes, et par conséquent elles vont être sèches. Pour qu'elles germent les spores des champignons ont besoin d'au moins une gouttelette d'eau (voir cours mécanisme de pathogénicité des champignons phytopathogènes).

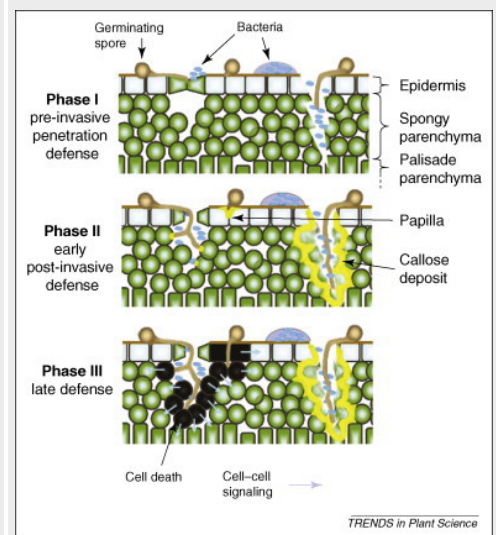
Figure 8. 3. Les feuilles des plantes sont généralement couvertes d'une couche de cire. L'épaisseur de cette couche varie selon les espèces (voir figure 8.1). La cire grâce à ses caractéristiques hydrophobes va empêcher l'eau de stagner sur la feuille. Sur les feuilles, l'eau est généralement sous forme de gouttelettes (non étalée) ayant un équilibre fragile. Il suffit une petite brise pour faire tomber ces gouttelettes. Si ces gouttelettes restent suffisamment longtemps (quelques heures (2-4h) les spores des agents pathogènes germent et pénètrent.



2. Les Barrières Induites

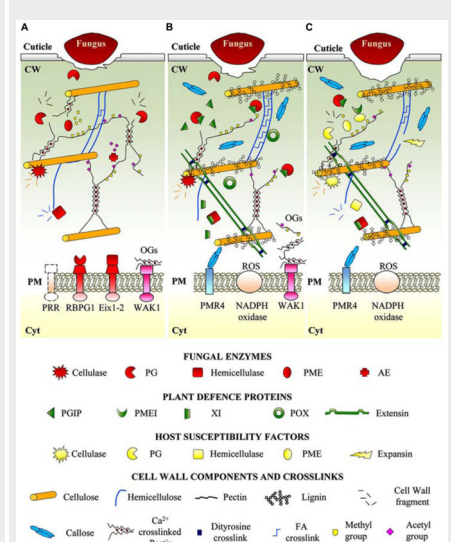
Ce sont les barrières qui sont produites après détection du pathogène. La plante renforce le/les points de pénétration des agents pathogènes, afin de l'empêcher. La formation de papilles est l'une des premières réponses de défense des plantes observées.

Figure 8.4. Le dépôt de callose et la formation de papille sont les premières étapes de la défense des plantes suite à l'infection par un agent pathogène (Ton et al., 2009*).



Les mécanismes d'infection diffèrent d'un pathogène biotrophe à un nécrotrophes, aussi les réponses de la plantes :

Figure 8.5. Les modifications que subisse la paroi cellulaire végétale suite à l'infection par les nécrotrophes. (A) Les champignons nécrotrophes sécrètent un large arsenal d'enzymes dégradant la paroi cellulaire (CWDE) comme les PG, les hémicellulases et les cellulases, assistés par les PME et les AE dans l'espace apoplastique pour dégrader les polymères de la paroi cellulaire et faciliter la disponibilité des nutriments. Il a été proposé que les PG et les EIX fonctionnent comme des PAMP reconnus par les récepteurs membranaires RBPG1 et Eix1 ou 2, respectivement. (B) Comme première ligne de défense, les plantes produisent une variété d'inhibiteurs de CWDE pour empêcher la dégradation par les CWDE microbiens. Par exemple, l'inhibition de l'activité de dégradation des PG par les PGIP induit l'accumulation de fragments de pectine éliciteur-actif (OG) perçus par les récepteurs WAK1. Il ne peut être exclu la présence d'autres récepteurs non encore identifiés détectant les dommages d'autres composants de la paroi cellulaire. La perception des dommages à la paroi cellulaire déclenche des voies de signalisation spécifiques activant des réponses de défense visant à renforcer la structure de la paroi cellulaire. Les stratégies de défense les plus évidentes sont le dépôt de callose et de lignine, l'induction de peroxydases / ROS médiées par des réticulations entre les protéines structurelles de la paroi cellulaire et les polysaccharides. (C) Les nécrotrophes forcent les plantes à "coopérer" dans la maladie en exploitant les cellulases végétales, les expansines, les PG et les PME comme facteurs de susceptibilité. Légendes : PM, plasma membrane; CW, cell wall; Cyt, cytoplasm; OGs, oligogalacturonides; WAK1, wall associated kinase 1; AEs, acetyl esterases; PGs, polygalacturonases; EIXs, ethylen induced xylanases; PME, pectin methylesterases; PME1, pectin methylesterase inhibitor; FA, ferulic acid; Eix1-2, receptors of ethylen induced xylanases; RBPG1, Responsiveness to Botrytis PolyGalacturonase 1; Ca²⁺, calcium



ions; XI, xylanase inhibitor; PRR, pattern recognition receptor; POX, peroxidase; ROS, reactive oxygen species (Bellincamp et al., 2014^{*}).

Figure 8.6. Les modifications que subisse la paroi cellulaire végétale suite à l'infection par les biotrophes. (A) Les champignons biotrophes utilisent une pression mécanique appressoriale et sécrètent des enzymes dégradant la paroi cellulaire pour pénétrer la paroi cellulaire de la plante. (B) Les plantes perçoivent la pénétration des biotrophes fongiques avec des récepteurs non encore identifiés (PRR) et répondent par une apposition de «papilles» entre la paroi cellulaire et la membrane plasmique. Les papilles, en plus du nouveau matériau de paroi cellulaire, sont également des sites d'accumulation de ROS éventuellement impliqués dans le renforcement de la paroi cellulaire. (C) Si le renforcement de la paroi (papille) n'est pas efficace pour stopper l'infection, le champignon pénètre puis forme l'organe d'alimentation de l'haustorium invaginé dans les membranes de l'hôte et la paroi cellulaire de la plante. Les biotrophes affectent localement le métabolisme de la paroi cellulaire par induction de facteurs de susceptibilité (callose synthase PMR4, O-acétyltransférase PMR5 et pectate lyase PMR6) pour modifier la matrice extrahaustoriale afin d'améliorer l'accessibilité des nutriments ou d'assurer la stabilité mécanique de l'haustorium. Légendes : PM, plasma membrane; CW, cell wall; Cyt, cytoplasm; PG, polygalacturonase; PME, pectin methylesterase; PRR, pattern recognition receptor; POX, peroxidase; ROS, reactive oxygen species (Bellincamp et al., 2014^{*}).



Même si la composition biochimique spécifique des papilles peut varier entre différentes espèces végétales, certaines classes de composés sont couramment trouvées, notamment les composés phénoliques, les espèces réactives de l'oxygène, les protéines de la paroi cellulaire et les polymères de la paroi cellulaire. Parmi ces polymères, le (1,3)- β -glucane callose est l'un des composants les plus abondants et omniprésents.

2.1. Callose

Le callose est un polysaccharide β -(1,3)-D-glucane avec quelques branches β -1,6 qui existe dans toutes les algues vertes multicellulaires et les plantes supérieures.

La callose se dépose entre la membrane plasmique et la paroi cellulaire au site d'attaque des agents pathogènes, au niveau des plasmodesmes et sur d'autres tissus végétaux pour ralentir l'invasion et la propagation des agents pathogènes.

Figure 8.7. Synthèse, transport, activation et recrutement de la callose synthase d'Arabidopsis PMR4 lors des réponses de défense des plantes. Certains des facteurs importants identifiés comme étant impliqués dans ces processus sont indiqués (Wang et al., 2021^{*}).

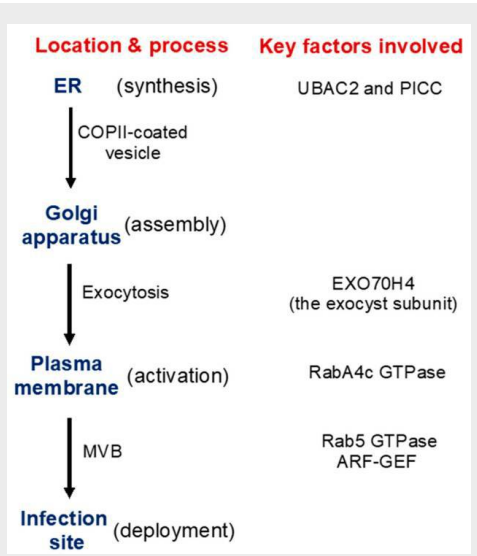
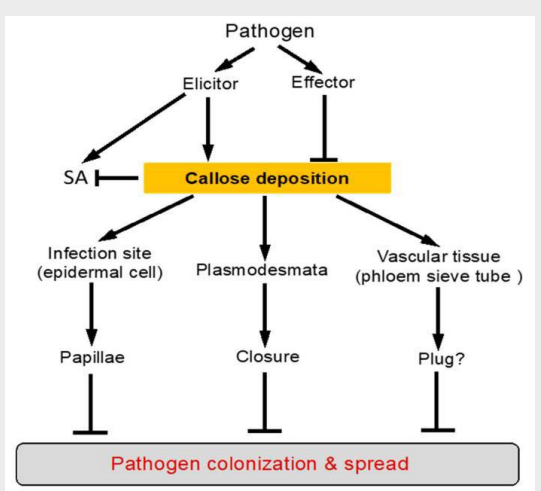


Figure 8.8. Induction et rôles des dépôts de callose liés à la défense chez les plantes. La signalisation activée par l'éliciteur pathogène des réponses immunitaires innées des plantes entraîne une augmentation du dépôt de callose sur les sites d'attaque des agents pathogènes, sur les plasmodesmes et dans les tissus vasculaires. La formation de papilles riches en callose au niveau des sites d'infection aide à limiter la pénétration et la colonisation par des agents pathogènes envahisseurs. L'augmentation du dépôt de callose au niveau des plasmodesmes conduit à la fermeture des plasmodesmes, ce qui aide à limiter la propagation des agents pathogènes. L'augmentation du dépôt de callose dans les tissus vasculaires tels que les tubes tamis du phloème pourrait également fonctionner comme un mécanisme de défense pour réduire la colonisation et le transport des agents pathogènes vasculaires. Chez Arabidopsis, la signalisation SA induite par l'agent pathogène est régulée négativement par le dépôt de callose dépendant de PMR4. Les agents pathogènes contiennent des protéines effectrices qui inhibent ou bloquent le dépôt de callose lié à la défense en tant que mécanismes de contre-défense (Wang et al., 2021^{*}).



2.2. La Formation des Papillae

Figure 8.9. La formation des papillae est un mécanisme de défense physique induite. La papilla (flèche) est formée autour de l'hyphe fongique (Pointe de pénétration) au niveau de site de pénétration essayant d'empêcher le pathogène de pénétrer (Schumann & D'Arcy, 2013*).



Figure 8.10. Renforcement de la structure de la paroi cellulaire au site de pénétration par un pathogène. Structures associées à la paroi cellulaire couramment observées sur les sites d'interaction avec l'oïdium et d'autres pathogènes fongiques. (A) Une tentative de pénétration fongique stoppée par le dépôt d'une apposition de paroi cellulaire (bleu). L'image en médaillon illustre une vue de haut en bas du site de pénétration tel qu'il est généralement visualisé par microscopie optique. (B) Un événement de pénétration réussi dans lequel le champignon a formé une structure d'alimentation haustoriale. Les matériaux d'apposition de la paroi cellulaire forment un tour de cou ou un collier autour du cou de l'haustorium. (C) Un haustorium partiellement entouré d'une enveloppe haustoriale. Les enveloppes contiennent des matériaux similaires à ceux trouvés dans les appositions de parois cellulaires. (D) Un haustorium entièrement encastré. CW, cell wall; PM, plasma membrane; C, conidiospore; PGT, primary germ tube (note that not all powdery mildew species develop PGTs); AGT, appressorial germ tube; PP, penetration peg; H, haustorium; EHM, extra-haustorial membrane; NB, haustorial neck-band; P, papilla (e.g., cell wall apposition); E, haustorial encasement ((Underwood, 2012*).

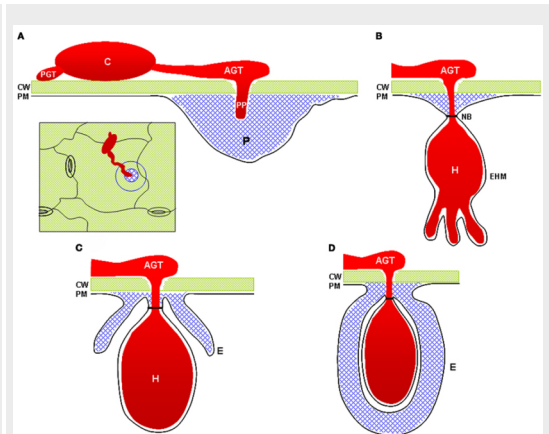
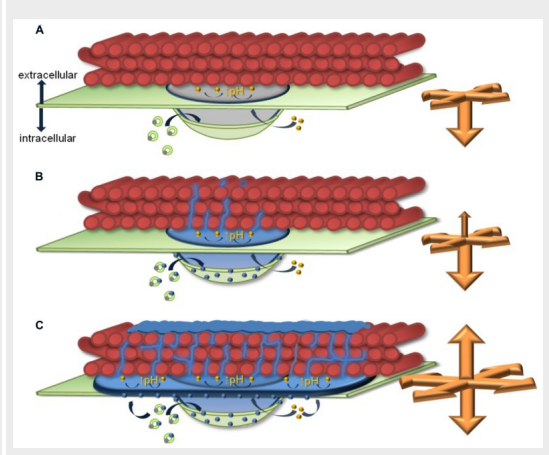


Figure 8.11. Modèle d'expansion des papilles callosiques aux sites d'infection. Le modèle présenté met en évidence les similitudes et les différences de l'expansion de la papille callosique et de la formation du réseau de polymères callose/cellulose dans les cellules épidermiques des feuilles d'*Arabidopsis* sur les sites de tentative d'infection par l'oïdium dans (A) le mutant de perturbation *pmr4* sans dépôt de callose induit par l'agent pathogène dans la papille, (B) de type sauvage et (C) la lignée de surexpression de *PMR4* résistante à la pénétration. Les cercles verts représentent d'éventuels corps multivésiculaires (MVB) impliqués dans l'apport



de matrice de papille non callosique et/ou d'enzymes formant des papilles (points gris) et de la callose synthase PMR4 (points bleus) à la papille en formation. Les points jaunes à l'intérieur de la matrice de la papille indiquent une implication putative des vésicules/corps semblables à des vésicules dans la régulation du pH à l'interphase de la matrice de la papille et de la paroi cellulaire cellulosique pour induire la formation de gel de callose (\uparrow pH). Les flèches orange indiquent la direction et la force de l'expansion des papilles. Vert : membrane plasmique, rouge : fibrilles de cellulose de la paroi cellulaire, bleu : matrice de papilles callosiques et fibrilles calleuses, gris : matrice de papilles non callosiques (Voigt, 2014^{*}).

Figure 8.12. La papillae comme moyen efficace de résistance à l'infection ou non. Le schéma présente un modèle hypothétique illustrant le dépôt des polysaccharides et des phénols dans le cas des papilles efficaces et ineffective durant l'infection de l'orge par *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. Une papille efficace associe des quantités importante de de callose avec l'arabinoxylan,, aussi des les polysaccharides soit liés à l'acide ferulic, et que la point de pénétration est entourée par la papille. Dans une deuxième étape, les quantités des dépôts de callose chute avec un flux important de l'arabinoglucan et qui s'entourent de quantités importantes de cellulose. Légendes : AX, arabinoxylan; FA, ferulic acid (Chowdhury et al., 2014^{*}).

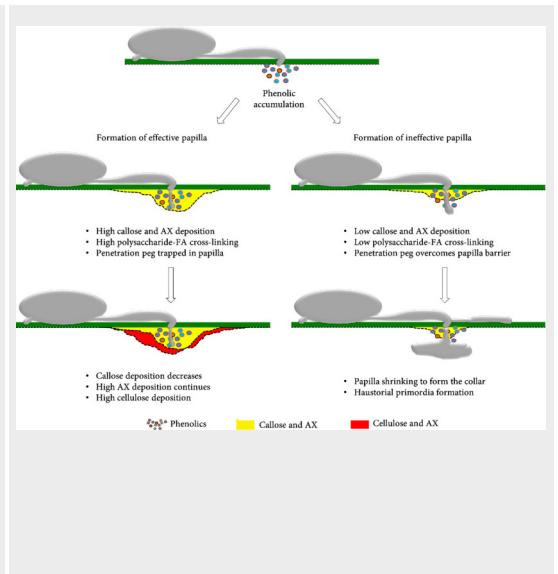
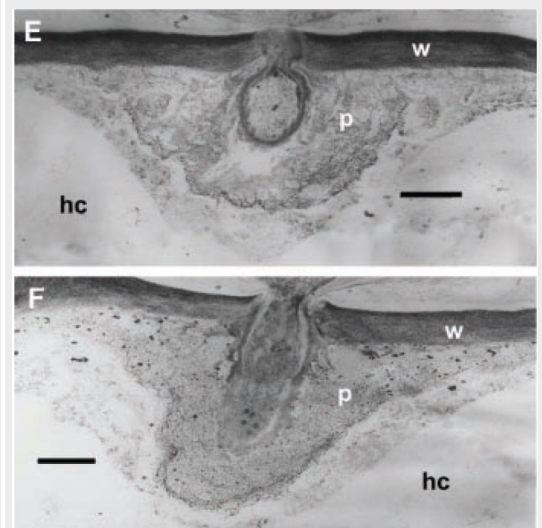


Figure 8.13. micrographies électroniques a transmission de papilles, 1 jour après inoculation avec l'oïdium d'Arabidopsis Col-0 (E) et *pmr4* (F). Légendes : w, paroi cellulaire hôte ; p, papille ; hc, cellule hôte. Barre d'échelle, 0,5 m.



2.3. Tylles

Les thylls sont des excroissances qui se formes dans le xylème surtout. Empêchant ainsi la circulation de la sève et avec elle la propagation des pathogènes. Les thylls sont communs chez la vigne.

Figure 8.14. Les tylls sont aussi des structures de défense induites après la détection de pathogène (Schumann & D'Arcy, 2013^{*}).



IX Les Protéines Associées à la Pathogénèse

L'une des armes les plus efficaces utilisées par les plantes pour répondre à l'infection par un agent pathogène est la production des protéines associées (ou bien liées) à la pathogénèse. En anglais on parle de *Pathogenesis-Related Proteins (PR proteins)*. Il s'agit d'une composante importante du système immunitaire des plantes. Les protéines PR sont surtout associées avec les réponses défensives de la plante hôte, et surtout quand il s'agit d'une interaction incompatible (résistance), entravant ainsi la progression du pathogène.

Les protéines PR peuvent être aussi synthétisées comme réponse aux stress abiotiques, aux ravageurs, aux effets des toxines,...

Figure 9.1. Effet des protéines PR sur la résistance des plantes aux maladies. Le génotype sauvage du tabac est très affecté par le pathogène *Rhizoctonia solani*, alors que le génotype transformé avec les protéines PR : AP24 et β -1,3-glucanase est résistant à ce pathogène. En plus ces plants transgénique sont protégés aussi contre *Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina* et *Phytophthora tabacinae* (Boccardo et al., 2019*).



WT



utrAP24-Gluc 2

1. Les Protéines PR

🔍 Définition

Les protéines PR est un groupe de différentes molécules dont leur synthèse est induite par les agents pathogènes ainsi que les molécules impliquées dans les voies de signalisation du système immunitaire végétal.

⚠ Attention : Les protéines PR et les protéines R

A ne pas confondre les protéines R sont les protéines de résistance dont le rôle est la détection et la reconnaissance des agents pathogènes et les protéines PR dont les rôle est d'éliminer les agents pathogènes à travers leurs activités antifongiques, antibiotiques et antivirales.

1.1. Caractéristiques des Protéines PR

Les protéines PR sont un groupe de protéines très diverses. Elles sont toutes induites par les agents phytopathogènes, ainsi que par les molécules signales (acide salicylique et l'acide jasmonique). Elles ont un poids moléculaire relativement faible, entre 6 et 43 kDa. Elles sont thermostable et résistante à l'activité des protéases. Elles restent solubles même à des pH faibles (<3).

2. Classification des Protéines PR

Les protéines PR sont classées maintenant dans 19 familles biochimiques. Cette classification est basée surtout sur :

- La similitude des séquences protéiques
- L'activité enzymatique,

Il y a aussi d'autres traits sur lesquels est basée la classification des protéines PR.

Les protéines PR sont classées maintenant en 19 familles (tableau ci-dessous).

Tableau 9.1. Classification de protéines PR et leurs propriétés (Kaur et al., 2022*).

Famille	Spécimen	Plante d'origine	Classe/Lieu	Poids (kDa)	Propriétés
PR1	Tobacco PR-1a	<i>Nicotiana tabacum</i>		15-17	Antifongique
PR2	Tobacco PR-2	<i>N. tabacum</i>	Classe III		β -1,3-glucanase
			I, vacuole	33	
			II, III, apoplaste	36	
PR3	Tobacco P, Q		Classe V	25-30	Chitinase type I,II, IV, V,VI, VII
			I	\approx 32	
			II	27-28	
			III	28-30	
			IV	28-30	
			v	41-43	

PR4	Tobacco "R"		Classes II	15-20	Chitinase type I, II
			I		
			II		
PR5	Tobacco S			22-25	Thaumatococin, antifongique, osmotine, zeamatin
PR6	Tomato inhibitor I	<i>Solanum lycopersicum</i>		8	Inhibiteur de protéase
PR7	Tomato P69	<i>S. lycopersicum</i>		75	Endoprotéase
PR8	Cucumber chitinase	<i>Cucumis sativus</i>		28	Chitinase type III
PR9	Tobacco "lignin-forming peroxidase"	<i>S. tuberosum</i>		35	Peroxydase
PR10	Parsley "PR1"	<i>Petroselinum crispum</i>	Classe III	17	Ribonucléase-like protein
			I	11-30	
			II	≈60	
			III	≈60	
PR11	Tobacco "class V" chitinase	<i>N. tabacum</i>		40	Chitinase type I
PR12	Radish Rs-AFP3	<i>Raphanus raphanistrum</i>	Classe IV	3-5	Defensin
PR13	Arabidopsis THI2.1	<i>Arabidopsis thaliana</i>		5	Thionin
PR14	Barley LTP4	<i>Hordeum vulgare</i>		8.7-9	Protéine de transfert des lipides
PR15	Barley OxOa (germin)	<i>H. vulgare</i>		20	Oxydase d'oxalate
PR16	Barley OxOLP	<i>H. vulgare</i>		20	Oxalate oxidase-like
PR17	Tobacco PRp27	<i>N. tabacum</i>		27	

					Antifongique et antivirale
PR18	Carbohydate oxydases	<i>Helianthus annuus</i>		60.9	Charbohydrates oxydases
PR19	antimicrobial protein	<i>Pinus sylvestris</i>			Protéine antimicrobienne

On va parler de quelques exemples des familles des protéines PR :

2.1. La Famille PR1

Les membres de cette famille sont les plus répandues parmi les protéines PR. La majorité des protéines de cette famille sont sécrétées dans l'apoplaste (espace extracellulaire).

2.1.1. Activités des Protéines PR1

Les protéines PR1 ont une activité antimicrobienne. La sur-expression des PR1 dans des plantes transgéniques a augmenté la résistance de ces plantes contre les champignons, les oomycètes, les bactéries, mais pas les virus.

🔗 Exemple

Une concentration de 20-200 µg/ml de protéine PR1 (en fonction de la protéine (tomate, tabac)) est suffisante pour inhiber la germination de 90 % zoospores de *P. infestans*.

🔗 Exemple

Une application exogène de ces protéines inhibe aussi la colonisation des disques foliaires de la tomate par *P. infestans*.

🔗 Exemple

Les protéines P14c de la tomate et PR-1a du tabac ont inhibé la croissance de *Phytophthora brassicae* à des concentrations de 20 µg/ml, mais aucun effet sur la croissance de *Aspergillus niger* ni sur *Botrytis cinerea*.

2.2. La Famille PR2

Les PR2 montrent une activité β -1,3-glucanase. Elles ont une activité hydrolytique de la liaison 1,3 β -D-glucosidique dans les β -1,3 glucanes. Ce sont des protéines abondantes dans les tissus des plantes et elles sont associées avec la formation des calloses, et les trichômes au niveau des feuilles et tiges.

2.3. La Famille PR3

Ce sont des chitinases. Ce sont des enzymes hydrolysant la liaison β , 1-4 entre les résidus N-acétylglucosamine de la chitine. Les chitinases sont des endo β , 1-4 glucosaminidases. Les chitinases végétales sont classées en 4 classes en se basant sur l'homologie des séquences et la présence ou l'absence du domaine de liaison de la chitine. Ces caractéristiques sont communes avec les PR3, PR4, PR8 et PR11.

Les PR3 se caractérisent par un domaine de liaison de la chitine commun, qui est généralement une hélice α et un domaine catalytique contenant 2 glutamates.

2.3.1. Classe I

Ce sont des chitinases basiques isolées du tabac. Elles ont un C-terminal aidant au ciblage des vacuoles. Le domaine N-terminal de liaison à la chitine est riche en proline et glycine. Des chitinases de 32kDa de la classe I ont été identifiées aussi chez le poivron.

2.3.2. Classe II

Ce sont des chitinases acides et dépourvues de domaine de liaison de la chitine. Elles ont également des délétions internes, éliminant ainsi l'une des quatre boucles nécessaires à la N-glycosylation. Elles sont étroitement liées à la classe I.

2.3.3. Classe IV

Elles ont été initialement isolées du haricot et ne sont pas sérologiquement liées à la classe II et I. Elles montrent également très peu d'homologie de séquence avec les classes II et I. Il y a trois

des délétions dans le domaine de liaison à la chitine, ce qui entraîne l'hydrolyse de la liaison glycosidique plus près de la surface pathogène. Ce sont des chitinases acides et ne possèdent pas de région de liaison

2.3.4. Classe V

Cette classe n'a qu'un seul représentant, qui est identifié à partir d'*Utrica doica*. C'est une lectine avec des précurseurs ayant une homologie de chitinase avec le domaine de liaison de la chitine. Les deux résidus catalytiques dans le domaine de liaison de la chitine sont absents, et par conséquent aucune activité catalytique.

2.3.5. Classe VI

Le seul représentant de cette classe a été identifié chez la betterave sucrière. Cette chitinase a 4 délétions des 8 cystéines dans le domaine de liaison à la chitine. Elle a la région *spacer* la plus longue avec 135 acides aminés dont 90 sont des prolines.

2.3.6. Classe VII

L'unique représentant de cette classe est présent dans le riz et il a une ressemblance élevée avec les chitinases de la classe IV. Ce groupe des chitinases n'a pas de domaine de liaison à la chitine mais il a une ressemblance avec le ADN complémentaire de la classe IV des chitinases.

Remarque

Il y a 19 familles de protéines PR. Pour plus de détails, veuillez lire la littérature de spécialités :

Sudisha, J., Sharathchandra, R.G., Amruthesh, K.N., Kumar, A., Shetty, H.S. (2012). Pathogenesis Related Proteins in Plant Defense Response. In: Mérillon, J., Ramawat, K. (eds) Plant Defence: Biological Control. Progress in Biological Control, vol 12. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1933-0_17

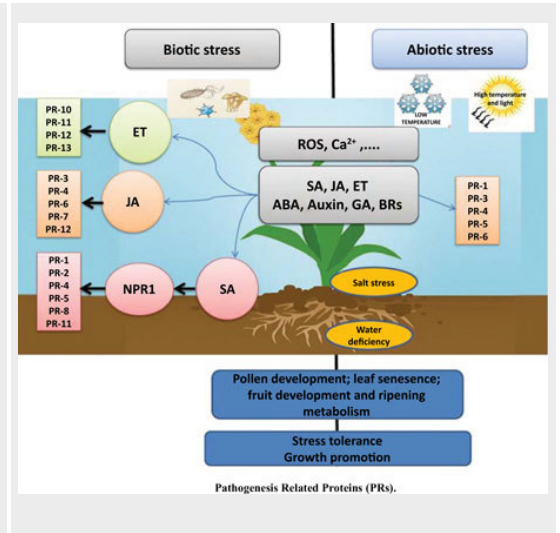
3. Rôle des Protéines PR

Les protéines PR ont différents rôles dans la physiologie de la plante :

- Activité antifongique
- Activité antibactérienne
- Activité antivirale
- Résistance aux stress abiotiques, ...et autres

.....

Figure 9.2. Rôles des protéines PR. En réalité les protéines PR sont impliquées aussi dans la résistance aux stress abiotiques et pleins d'autres processus physiologique (Zribi et al., 2021^{*}).



⚠ Attention

La synthèse des protéines PR est un événement tardive, du point de vue d'une dynamique temporelle de l'infection, leur rôle dans la résistance au début de l'infection est limité. Il s'agit d'une protection à long terme. Elles sont surtout impliquées dans les résistances acquises (locale ou bien systémique).

Les protéines PR vont agir surtout dans les infections suivantes, en réduisant la sévérité des symptômes et par conséquent de la maladie.

💡 Fondamental

Certains endophytes et saprophytes (champignons et bactérie) induisent la l'activité des protéines PR, augmentant ainsi la résistance des plantes (lutte biologique).

4. Le Mode d'Action des Protéines PR

Les différentes protéines PR ont des mode d'action distinct face aux pathogènes, en fonction du type du pathogène et des sa stratégie d'infection. Les protéines PR1 ont généralement un effet inhibiteur de la croissance du pathogène par une séquestration des stérols. Rendant ainsi les stérols indisponibles pour le pathogène. D'autre protéines PR ont des fonctions hydrolytiques : PR-2 (endo-β-1,3-glucanases) et PR-3, -4, -8 and - 11 (endochitinases). Ils fonctionnent comme des protéines antifongiques en catalysant l'hydrolyse des principaux composants de la paroi

cellulaire des champignons et des oomycètes, c'est-à-dire le β -1,3-glucane (par la rupture des liaisons β -1,3-glucosidiques) ou la chitine (par la rupture des liaisons internes liaisons β -1,4-glycoside) respectivement, entraînant la dégradation de la paroi de la cellule fongique.

Les protéines de type thaumatine ou les protéines de type osmotine telles que PR5 inhibent la croissance mycélienne et la germination des spores en produisant des pores transmembranaires causant une perméabilité cellulaire élevée des cellules fongiques et un blocage des fonctions des molécules réceptrices de la membrane plasmique impliquées dans les voies de signalisation AMPc/RAS2.

Les inhibiteurs de protéases (inhibiteur de la trypsine et les inhibiteurs de la sérine) appartenant à la famille PR6 sont impliqués dans les réponses immunitaires à spectre large (contre plusieurs pathogènes), contre les nématodes, les ravageurs, les champignons et bactéries. Ils agissent en réduisant l'activité lytique essentielle pour la pathogénicité des champignons, en inhibant la réplication virale, et en réduisant aussi l'activité des enzymes digestives des nématodes et insectes.

Attention

Les protéines PR montrent un degré de spécificité très élevé.

5. Les Types des Protéines PR

Il y a deux types des protéines PR :

- Protéines PR acides
- Protéines PR basiques

6. La synthèse des Protéines PR

Les protéines PR sont synthétisées à travers tous les organes de la plante. Il faut noter que les feuilles sont l'organe le plus riche en protéines PR. 5-10% des protéines totales des feuilles sont des protéines PR.

6.1. Les Gènes Codant pour les Protéines PR

Plusieurs gènes codant pour les protéines PR ont été identifiés chez différentes plantes. La majorité de ces gènes font partie des familles à plusieurs gènes. Chaque famille est régulée de manière différentes des autres.

Exemple : Le Tabac

Seize gènes codant pour la famille des protéines PR, PR-1 sont présents dans le tabac, de même, 13-14 gènes pour la famille PR-2 et 2-4 gènes codent pour les chitinases acides et basiques. Cinq gènes pour PR-5, 15 pour PR-10 et une petite famille multigénique de trois gènes a été clonée à partir d'orge, d'avoine, de blé, arabidopsis, brassica et tabac

6.2. Expression Génétique

Les gènes codants pour les protéines PR s'expriment en mode constitutive et inductive. Une faible quantité de protéines PR est toujours synthétisée par les plantes. On parle d'un niveau basique de l'expression génétique. Ces gènes sont presque silencieux dans les plantes saines. Toutefois, cette expression augmente de manière significative

suite à la détection et reconnaissance d'un agent pathogène. Elle est aussi stimulée par les molécules signales telles que l'acide salicylique et jasmonique.

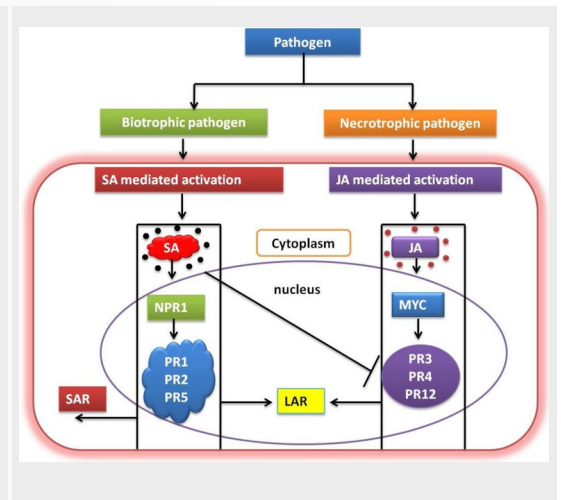
⚠ Attention

Les protéines PR montrent un niveau élevé de spécificité. On a pu regrouper les différentes familles selon le type de pathogène cible :

- Biotrophe : Contre les biotrophes, les plantes plutôt synthétisent les protéines PR des familles PR1, PR2 et PR5. La synthèse des protéines PR dans ce cas est systémique
- Nécrotrophe : Contre ce type d'agents pathogènes, les plantes synthétisent les protéines PR des familles PR3, PR4 et PR12. Ici, la réponse immunitaire par les protéines PR est localisée.

.....

Figure 9.3. Expression locale ou bien systémique des protéines PR selon le type d'agents pathogènes. Contre les biotrophes, les protéines PR sont synthétisées à travers toute la plante de manière systémique. De l'autre côté, contre les nécrotrophes, elles sont synthétisées localement (Ali et al., 2018). Aussi contre les biotrophes, les familles PR1, PR2, et PR5 sont exprimées, alors que contre les nécrotrophes, l'expression d'autres familles des protéines PR est stimulée : PR3, PR4, et PR12.



6.3. La Sécrétion

Les protéines PR ont le rôle de éliminer les agents pathogènes indifféremment de leur localisation. Toutefois dans régions majeurs sont connues pour accumuler les protéines PR :

6.3.1. Espace extracellulaire

Les protéines PR acides sont sécrétées dans l'espace extracellulaire.

6.3.2. La vacuole

Les protéines basiques sont transportées vers la vacuole.

7. Les Protéines PR Majeures

Il y a une multitude de protéines PR. Une plante peut synthétiser plusieurs enzymes ayant une activité contre les agents pathogènes. Ici on va parler de quelques uns uniquement :

7.1. Les Chitinases

Les chitinases ont comme rôle de dégrader la chitine qui est un constituant majeur de la paroi fongique. Elles peuvent aussi dégrader les chitosanes. Elles jouent un rôle important dans la défense des plante et leur résistance à l'infection par différent agents pathogènes.

Exemple : *Morus nobilis*

On a pu détecté 66 gènes de chitinases chez cette plante. L'expression de l'un de ces gènes MnChi18 augmente la résistance de cette plante au *B. cinerea*.

Exemple : *Capsicum annuum*

Les gènes codants pour la chitinases régulent positivement les réponses immunitaire, la HR incluse, du *C. annuum* contre *Colletotrichum acutatum*.

Attention

Certaines chitinases ont montrées, en plus de leurs actions antifongiques, des activités antivirale et antibactériennes.

7.2. Les Glucanases

Les glucanases (surtouts les β -1,3) jouent un rôle majeur dans les réponses immunitaires des plantes aux champignons et aux oomycètes. Les parois cellulaires sont dégradées sous l'action des β -1,3-glucanases. Cette dégradation va générer des oligomères de β -1,3/1,6-D-glucanes, et qui sont à leurs tours des éliciteurs (DAMPs), qui vont intensifier la réponse immunitaires des plantes.

Tableau 9.2. Exemple de quelque gènes codants pour des protéines PR ayant une activité glucanase et qui ont été utilisés pour générer des plantes résistante contre certaines pathogènes (Kaur et al., 2022^{*}).

Enzyme	Gènes	Plante d'origine	Pathogène cible
Glucanase	β -1,3-glucanase	<i>Linum usitatissimum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>
	<i>HbGLU</i>	<i>Hevea brasiliensis</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
	β -1,3-glucanase II cDNA	<i>Hordeum vulgare</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
	<i>chi-2, ltp</i>	<i>Hordeum vulgare</i> , <i>Triticum aestivum</i>	<i>Alternaria radicola</i> <i>Botrytis cinerea</i>
	<i>McCHIT1</i>	<i>Momordica charantia</i>	<i>Magnaporthe grisea</i> <i>Rhizoctonia solani</i>
	<i>OsPR4a-e</i>	<i>Oryza sativa</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>
	<i>RC7</i>	<i>Oryza sativa</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>

	<i>BjCHI1</i>	<i>Brassica juncea</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
	<i>chit cDNA</i>	<i>Hordeum vulgare</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
	<i>Chitinase-I</i>	<i>Oryza sativa</i>	<i>Verticillium dahliae</i> <i>Fusarium oxysporum</i>
	<i>RC24</i>	<i>Oryza sativa</i>	<i>Puccinia striiformis</i> f.sp. <i>tritici</i>
	<i>rcc2 and rcg3</i>	<i>Oryza sativa</i>	<i>Puccinia striiformis</i> f.sp. <i>tritici</i>
	<i>LcCHI2</i>	<i>Leymus chinensis</i>	<i>Pseudomonas tabaci</i> , <i>A. alternata</i> , <i>Exserohilum turcicum</i> , <i>Curvularia lunata</i>

Remarque

Les chitinases et les glucanases des plantes, peuvent agir en synergie, stimulant ainsi une forte dégradation des parois cellulaires des pathogènes et renforçant les réponses immunitaires de la plante.

Attention

Ensemble, les chitinases, glucanases, et les peroxidases agissent au début de l'infection de la plante.

7.3. Les Thaumatin-Like Proteins

Ces protéines font partie de la famille PR5. Isolées pour la première fois de la plante *Thaumatococcus danielli*. Elles sont résistants aux pH extrême, à la température et à la dégradation par les protéases. Elles jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux stress biotiques et abiotiques. La stimulation de leur synthèse augmente la résistance des plantes contre les différents agents pathogènes fongiques. On pense qu'elles agissent par la perméabilisation des membranes cellulaires des pathogènes ainsi que la dégradation des parois cellulaires.

Tableau 9.3. Exemple de quelque gènes codants pour des protéines PR de type thaumatine et qui ont été utilisés pour générer des plantes résistante contre certaines pathogènes (Kaur et al., 2022^{*}).

Enzyme	Gènes	Plante d'origine	Pathogène cible
Thaumatine	<i>ThaumatlikeTaLr19TLP1</i>	<i>Triticum aestivum</i>	<i>Puccinia triticina</i>
	<i>Tlp</i>	<i>T. aestivum</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
	<i>Tlp</i>	<i>Oryza sativa</i>	<i>A. solani</i>
	<i>Tlp</i>	<i>O. sativa</i>	<i>R. solani</i>

	<i>tlp-1</i>	<i>Hordeum vulgare</i>	<i>F. graminearum</i>
	<i>CsTLP</i>	<i>Camellia sinensis</i>	<i>P. infestans</i> <i>Macrophomina phaseolina</i>
	<i>AdTLP</i>	<i>Arachis diogeni</i>	<i>R. solani</i>

7.4. Les Defensines

les defensines sont des peptides de 41-54 acides aminés. Ils ont une activité antimicrobienne.

Ils sont constitutivement présents dans les feuilles, les tubercules, les fleurs,

gousses et graines à de très faible concentrations.. Ils sont également situés dans les couches cellulaires périphériques et dans le xylème dans plus de 20 espèces végétales différentes.

Ces protéines sont à peine détectés dans les tissus sains (non infectés) mais s'accumulent systématiquement à niveaux élevés après une infection fongique ou bactérienne localisée.

Tableau 9.4. Exemple de quelques gènes codants pour des protéines PR de type defensines et qui ont été utilisés pour générer des plantes résistantes contre certaines pathogènes (Kaur et al., 2022^{*}).

Enzyme	Gènes	Plante d'origine	Pathogène cible
Defensines	<i>Wasabi</i>	<i>Wasabia japonica</i> L.	<i>M. grisea</i>
	<i>Wasabi</i>	<i>W. japonica</i> L.	<i>B. cinerea</i>
	<i>MsDef1</i>	<i>Medicago sativa</i>	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>
	<i>MtDef4.2</i>	<i>M. truncatula</i>	<i>Puccinia triticina</i>
	<i>RsAFP2</i>	<i>Raphanus sativus</i>	<i>R. solani</i> <i>M. grisea</i>
	<i>RsAFP2</i>	<i>R. sativus</i>	<i>Rhizoctonia cerealis</i> , <i>F. graminearum</i>
	<i>Wasabi</i>	<i>W. japonica</i> L.	<i>A. solani</i> <i>F. oxysporum</i>
	<i>BoDFN</i>	<i>Brassica oleracea</i>	Downy Mildew
	<i>VrPDF1</i>	<i>Vigna radiata</i>	Weevils
	<i>TAD1</i>	<i>Triticum aestivum</i>	<i>Typhula ishikariensis</i> , <i>F. graminearum</i>

7.5. Les Thionines

Ce sont des petites protéines riche en cystéine. Ils produits de manière constitutive à de faible quantité. L'infection stimule leur synthèse. Ils se trouvent au niveau des parois, vacuoles et corps protéiques.

Tableau 9.5. Exemples de quelque gènes codants pour des protéines PR thionines et qui ont été utilisés pour générer des plantes résistante contre certaines pathogènes (Kaur et al., 2022*).

Enzyme	Gènes	Plante d'origine	Pathogène cible
Thionines	<i>AT1G12660</i>	<i>A. thaliana</i>	<i>R. solani</i>
	<i>AT1G12663</i>		<i>F. oxysporum</i>
	<i>Thionin</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i> , <i>Nasturtium officinale</i> <i>Barbarea vulgaris</i>	<i>B. cinerea</i>
	<i>α-hordothionin (aHT)</i>	<i>H. vulgare</i>	<i>Ceratocystis fimbriata</i>
	<i>Thi2.1</i>	<i>A. thaliana</i>	<i>F. oxysporum</i>

X Les Métabolites Secondaires

En plus du renforcement des parois et les protéines PR, les plantes utilisent d'autres stratégies pour se défendre contre les différents agents pathogènes. Les plantes synthétisent des petites molécules qui sont toxiques contre les agents phytopathogènes et ravageurs aussi. Ces molécules sont appelées communément Métabolites secondaires.

Figure 10.1. Les différents facteurs de stress biotiques et abiotique stimulent la production de métabolites secondaires (Anjali et al., 2023^{*}).

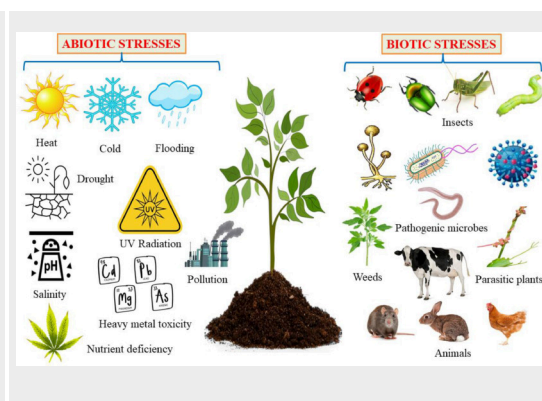
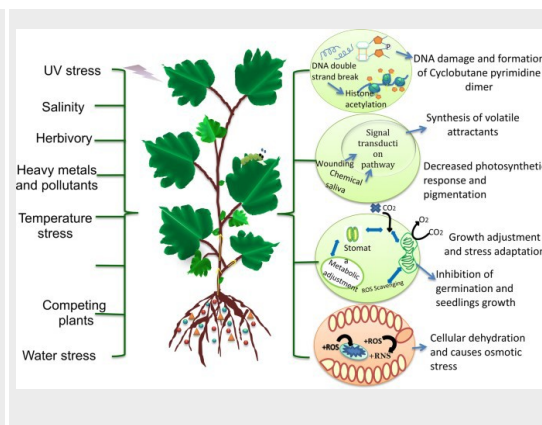


Figure 10.2. Les modifications physiologiques que les plantes subissent sous l'influence des différents stress (Khare et al., 2020^{*}).



1. Les Métabolites Secondaires

Définition : Métabolites secondaires

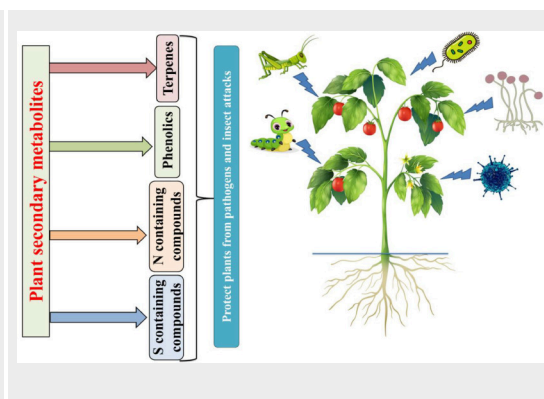
Les métabolites secondaires (MS) des plantes sont des sous-produits naturels des processus métaboliques primaires. Ce sont des molécules organique ayant un faible poids moléculaires. Il s'agit d'un groupe très large de

composés ayant des structures très diversifiées et qui sont produites *in-planta* à partir de diverses métabolites primaires ou à partir des molécules intermédiaires des métabolites primaires. Elles sont synthétisées soit de manière constitutive ou bien comme réponses aux différents stimuli de l'environnement.

2. Rôles des Métabolites Secondaires

Les plantes synthétisent une multitude des molécules considérées comme métabolites secondaires.

Figure 10.3. Rôles des métabolites secondaires(Anjali et al., 2023^{*}).



💡 Fondamental

La fonction principale des métabolites secondaires est de améliorer la croissance et la survie des plantes dans des conditions défavorables.

Elles n'ont pas de rôle direct dans la croissance, le métabolisme et le développement des plantes, mais jouent un rôle important dans le mécanisme de défense des plantes, et donc étiqueté comme "composés secondaires"

Par contre leurs effets sur la croissance soit du pathogène ou bien la résistance de la plante qui les synthétise ont été prouvés (voir tableau ci-dessous).

Tableau 10.1. Rôles de certaines métabolites secondaires d'origine végétale dans le contrôle de certains agents pathogènes (Anjali et al., 2023^{*}).

Plante Source	Métabolite Secondaire	Pathogène Cible
<i>Citrus reticulata</i>	Réticine A	<i>Tobacco mosaic virus</i>
<i>Ageratum conyzoides</i>	Chromenes, terpenoids, flavonoids, coumarins	<i>Alternaria, Candida, Fusarium, Pythium, Phytophthora</i>
<i>Solanum nigrum</i>	Glycoalkalids, solamargine, solasonine	<i>B. cereus, B. thuringiensis, Pseudomonas orientalis, Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Pistacia atlantica</i>	Alkaloids	<i>F. oxysporum f.sp. lycopersici</i>
<i>Allium sativum</i>	Terpenoids, flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, glycosides	<i>Alternaria solani</i>

<i>Lawsonia inermis</i>	Alkaloids, flavonoids, saponins, steroids, tannins	<i>F. oxysporum</i> <i>Bipolaris oryzae</i>
<i>Teucrium spp.</i>	Monoterpenes, sesquiterpenes	<i>Bacillus sp.</i> , <i>Candida sp.</i>
<i>Carica papaya</i>	Alkaloids, flavonoids, terpenes	<i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Fusarium spp.</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
<i>Ziziphus jujuba</i>	Protocatechuic, catechin, p-coumaric acid, coumarin	<i>Botrytis fabae</i>
<i>Pachyrhizus erosus</i>	Rotenone, erosone, paquirrizine, dalineone, dehydroneotenone	<i>R. stolonifer</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>C. gloeosporioides</i>
<i>Cassia alata</i>	Methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate, aloe-emodin, kaempferol, kaempferol-3-O-glycoside	<i>Magnaporthe oryzae</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Puccinia recondita</i>
<i>Allium nigrum</i>	Cysteine sulfoxides, total polyphenols, saponins	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i> , <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i> , <i>C. gloeosporioides</i>
<i>Carthamus tinctorius</i>	Terpenoids, flavonoids, alkaloids	<i>Aspergillus spp.</i>
<i>Myristica fragrans</i>	Erythro-austrobaillignan-6, meso-dihydroguaiaretic acid, nectandrin-B	<i>A. alternata</i> , <i>M. grisea</i> , <i>C. gloeosporioides</i>
<i>Azadirachta indica</i>	Flavonoids, terpenoids, saponins, steroids, coumarins, cardiac glycosides	<i>A. solani</i>
<i>Aloe succotrina</i>	Flavonoids, saponins, and tannins	<i>A. alternata</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Cochliobolus specife</i>
<i>Camellia sinensis</i>	α -phenylcinnamic acid	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
<i>Zingiber officinale</i>	Geranial, 1,8-cineole, neral, camphene, α -zingiberene, α -farnesene	<i>Burkholderia glumae</i>
<i>Datura metel</i>	Eugenol, pentadecanoic acid, heptacosane, dodecanoic acid, tetradecanoic acid	<i>Rhizoctonia solani</i>

3. Les Types de Métabolites Secondaires

En général, il y a deux types de métabolites secondaires, en fonction du moment de leur synthèse :

- Les anticipines
- Les phytoalexines

3.1. Les Anticipines

Définition

Ce sont les molécules ayant une activité antimicrobienne et qui sont présentes au moment de l'infection (préformées) ou bien libérées de leurs organes de stockage suite à une tentative d'infection par un agent pathogène. Ce sont des molécules de défense constitutives.

Généralement, toutes les espèces végétales peuvent synthétiser des molécules phytochimique de manière constitutive avec une potentielle fonction défensive.

3.1.1. Les Saponines

Les unités glycosides des aglycones de type isoprénoïde sont communément appelées saponines qui appartiennent aux stéroïdes ou aux triterpénoïdes et se trouvent en abondance dans les cultures en fleurs.

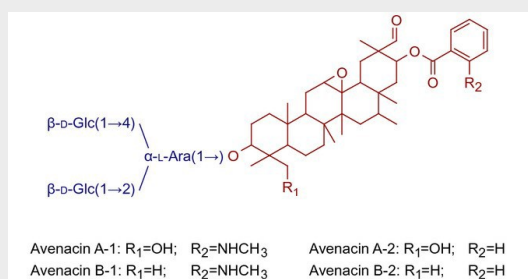
Exemple : L'Avenacine

L'une des molécules de ce type les plus étudiées. Elle est produite par l'avoine (*Avena* spp.). Il y a 4 types d'avenacines :

- Avenacine A1,
- Avenacine A2,
- Avenacine B1,
- Avenacine B2.

Ces molécules s'accumulent dans les racines d'avoine.

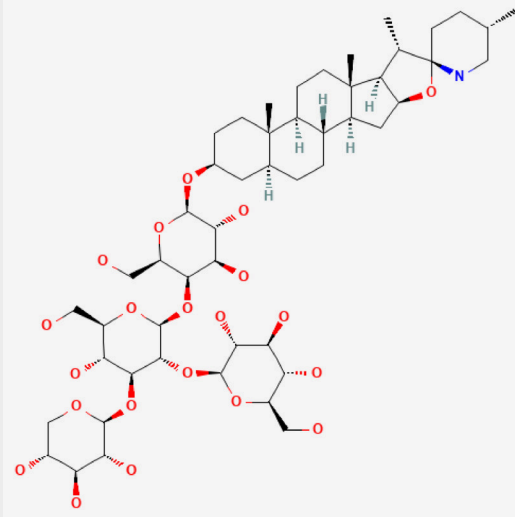
Figure 10.4. L'avenacine (Piasecka et al., 2015*).



Exemple : La Tomatine

La tomate produit la α -tomatine.

Figure 10.5. α -tomatine



Les saponines jouent un rôle important dans le système immunitaire végétale. Il a été démontré que l' α -tomatine et les avénacines entravent le développement d'une diversité de champignons pathogènes et non pathogènes et d'oomycètes.

Les plants de *A. strigosa* déficient en saponine sont très sensibles à l'infection par *Gaeumannomyces graminis* var. *avenae*, *Fusarium culmorum*, et aussi à l'infection par *F. avenaceum*. Ces plants sont aussi sensibles à des pathogènes non adaptés : *G. graminis* var. *tritici*, qui en mode normale ne les infecte pas.

3.1.2. Les Glucosinolates

Ce sont des β -D-thioglycoside-N-hydroxysulfates dérivés d'acides aminés et connus sous le nom de glucosinolates. Ils sont produits essentiellement par les plantes appartenant à l'ordre des Brassicales. Ils peuvent être des dérivés de plusieurs acides aminés entre autres: alanine, valine/leucine, isoleucine, méthionine, phénylalanine/tyrosine, tryptophane, et aussi de l'acide glutamique. Ce qui donne naissance à un groupe très diversifié (du point de vue structurel).

Cependant, seul un sous-ensemble des structures possibles est présent dans des espèces végétales particulières. Par exemple, la plante modèle *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) accumule deux grands groupes de ces composés - les glucosinolates aliphatiques dérivés de la méthionine (AG) et les glucosinolates indoliques dérivés du tryptophane (IG) - ainsi que de petites quantités de glucosinolates de benzyle dérivés de la phénylalanine.

💡 *Fondamental*

Semblables à d'autres métabolites secondaires glycosylés, les glucosinolates sont chimiquement stables et biologiquement inactifs. Cependant, la perte d'intégrité cellulaire ou d'autres stimuli environnementaux peuvent déclencher une hydrolyse rapide des glucosinolates par les β -thioglycoside glucohydrolases (TGG), également appelées myrosinases. Ce processus entraîne la libération d'aglycones qui sont chimiquement instables et peuvent se décomposer en divers types de molécules, y compris les isothiocyanates (ITC). Ces derniers sont caractérisés par leur réactivité chimique élevée et leurs activités biologiques. Ce sont des métabolites toxiques, surtout contre les ravageurs.

Les ITCs jouent un rôle important dans la résistance. Les souches *Pseudomonas syringae* pathogènes sur *A. thaliana* ont un opéron (*Survival in Arabidopsis extracts (Sax)*) qui code pour des protéines impliquées dans la détoxification de ces molécules. Les souches dépourvues de *Sax* ne se pas pathogènes.

En plus, ces souches de *P. syringae* dépourvues de gènes *Sax* étaient moins virulentes sur les jeunes feuilles d'*Arabidopsis* de type sauvage par rapport à la lignée à *double knock-out myb28 myb29* déficiente en AG. Cette lignée est appauvrie en deux facteurs de transcription de la myéloblastose (MYB) contrôlant la biosynthèse des AG, et par conséquent n'accumule aucun représentant de cette classe de glucosinolates.

Les plantes *myb28 myb29* se sont également révélées plus sensibles au pathogène *Sclerotinia sclerotiorum*, ce qui suggère que la fonction AG dans l'immunité des plantes ne se limite pas aux bactéries.

3.1.3. Les Glycosides Cyanogéniques

Ce sont des β -d-glucosides d' α -hydroxynitriles qui peuvent être dérivés de la tyrosine, de la phénylalanine, de la valine, de l'isoleucine et de la leucine. De manière similaire aux glucosinolates, les Glycosides cyanogéniques sont stockés de manière constitutive et ne sont pas intrinsèquement biologiquement actifs. Pour qu'ils soient biologiquement actifs, ils doivent être hydrolysés par leurs β -glucosidases cyanogéniques respectives.

Ces molécules sont connues surtout pour leurs activités contre les ravageurs.

3.1.4. Les Glycosides Benzoxazinone

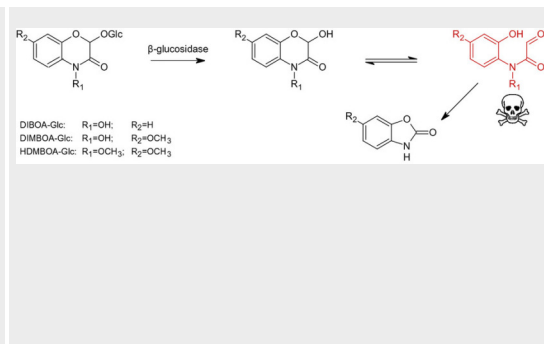
Ce groupe des anticipines est surtout présent chez les poacées : blé, orge, maïs, et autres. Chez le blé et maïs le composé majeur de ce groupe est un glucoside de 2,4-dihydroxy-7-méthoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA-Glc). Par contre l'orge sauvage et seigle synthétisent surtout le glucoside de 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIBOA-Glc).

En plus des membres des poacées, les glucoside de benzoxazinone sont présents chez les Ranunculales et Lamiales.

Les aglycone des glucoside benzoxazinone ont une activité antifongique, au moins in-vitro contre un certain nombre de pathogènes : *G. graminis*, *Fusarium moniliforme*, *F. culmorum* et *Setosphaeria turcica*. Le DIMBOA s'accumule dans l'apoplaste des feuilles du maïs suite à l'inoculation par *S. turcica*. Les plants de maïs incapable de synthétiser le DIMBOA (les mutant *bx1*) sont extrêmement sensible à ce pathogène.

A souligner que l'infection n'est pas censée uniquement déclencher l'hydrolyse des glucosides de benzoxazinone en leurs aglycones respectifs. Chez le maïs, challenge avec plusieurs champignons parasites adaptés et non adaptés, dont *S. turcica*, *Fusarium graminearum*, *Bipolaris maydis*, *Curvularia lunata* et *Alternaria alternata*, induit l'accumulation d'un glucoside de 2-hydroxy-4,7-diméthoxy-1,4-benzoxazine -3-un (HDMBOA-Glc).

Figure 10.6. Structures de la benzoxazinone et leur métabolisme par la β -glucosidase. La forme tautomère à cycle ouvert de l'aglycone de benzoxazinone, hautement réactive et potentiellement toxique pour les agents pathogènes, est surlignée en rouge. DIBOA, 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazine-3-one; DIMBOA, 2,4-dihydroxy-7-méthoxy-1,4-benzoxazine-3-one; HDMBOA, 2-hydroxy-4,7-diméthoxy-1,4-benzoxazine-3-one (Piasecka et al., 2015^{*}).



3.2. Les Phytoalexines

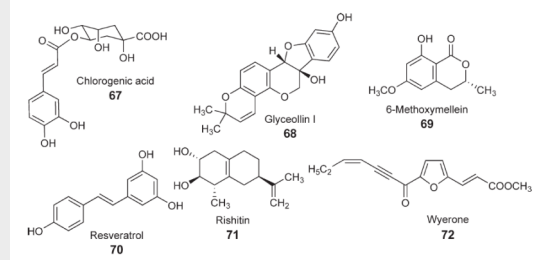
A l'origine, le terme « phytoalexine » pour décrire une substance défensive hypothétique qui s'est accumulée dans les tissus des tubercules de pomme de terre lors de l'inoculation avec une souche incompatible du pathogène oomycète responsable du mildiou *Phytophthora infestans*.

🔍 Définition

les phytoalexines sont définies comme des métabolites antimicrobiens de faible poids qui sont synthétisés et s'accumulent dans les plantes après l'infection par un pathogène.

Il y a des centaines de phytoalexines qui ont été isolées et caractérisées à partir de différentes espèces de plantes.

Figure. 10. 7. Exemples de phytoalexines (Spiteller. 2008*).

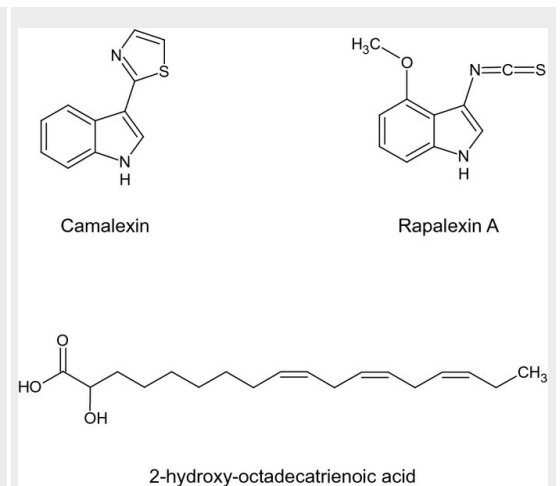


Les Phytoalexines

3.2.1. Les Camalexines

Les camalexines sont les phytoalexines modèles des *Brassicaceae*. Ce sont des dérivés alcaloïdes du tryptophane contenant du soufre et qui s'accumulent en réponse à l'infection par un agent pathogène.

Figure 10.8. Structures chimiques de quelques camalexines identifiées chez *Arabidopsis*: camalexine, rapalexine et l'acide 2-hydroxy-octadécatriénoïque (Piasecka et al., 2015*).



la camalexine contribue à la résistance post-invasive en limitant le développement ultérieur d'agents pathogènes ainsi que sa propagation aux cellules voisines.

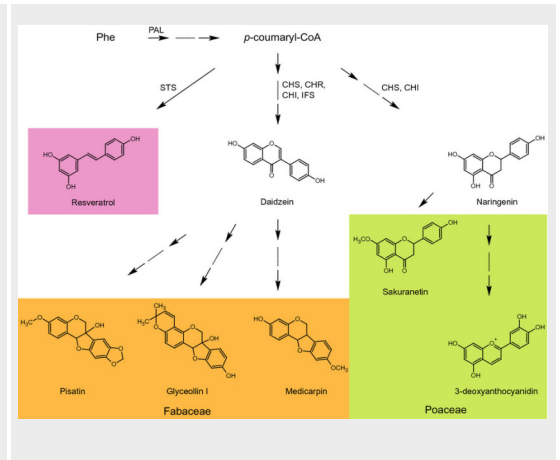
Les plants d'*Arabidopsis* mutants qui n'accumulent pas la camalexine sont sensibles aux pathogènes nécrotrophes, entre autres : *Alternaria brassicola*, et certains isolats de *B. cinerea*.

3.2.2. Les Dérivés de la Phénylalanine

Il s'agit des phénylpropanoïdes dérivés de la phénylalanine. L'un des composé représentatif de cette catégorie des phytoalexines est le resvératrol. Ce dernier est synthétisé suite à l'infection chez plusieurs espèces végétales dont la vigne et l'arachide.

Figure 10.9. Biosynthèse de phytoalexines dérivées de la phénylalanine chez différentes espèces végétales. La présence de resvératrol a été signalée chez plusieurs espèces phylogénétiquement non apparentées.

Légende : PAL, phénylalanine ammonia-lyase; STS, stilbène synthase; CHS, chalcone synthase; CHR, chalcone réductase; CHI, chalcone isomérase; IFS, isoflavone synthétase (Piasecka et al., 2015*).



Chez les fabaceae, on trouve d'autres molécules appartenant à un autre groupe des dérivés de la phénylalanine, entre autres :

- Glycéollines : soja
- Pisatine : pois chiche
- Médicarpine : luzerne

Ces molécules ont des effets antimicrobiens testés *in-vitro* et aussi prouvés *in-vivo*.

Les Poaceae aussi synthétisent des phytoalexines de ce type :

- Sakuranétine : riz
- Apigéninidin : sorgho
- Luteolinidin : sorgho

....

3.2.3. Les Terpénoïdes

Le riz synthétise aussi des momilactones A et momilactones B suite à l'infection, et qui sont des diterpénoïdes. En réalité, le riz synthétise 2 types des phytoalexines du type diterpénoïdes :

- Oryzalexines
- Phytocassanes

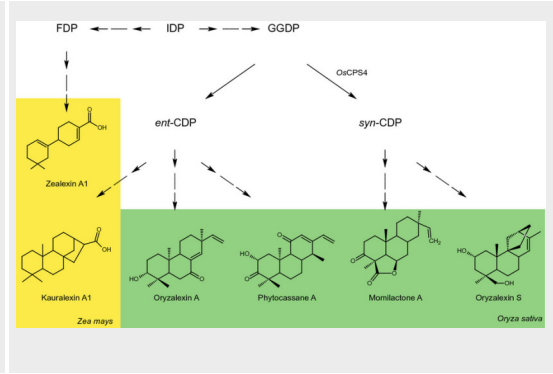
Le maïs produit aussi un nombre important des phytoalexines de ce groupe, entre autres les :

Kauralexines : qui sont des diterpénoïdes

Zéalexines : sont des sesquiterpénoïdes

Figure 10.10. Schéma simplifié de la biosynthèse et les structures représentatives des phytoalexines isoprénoïdes du riz et du maïs. Légendes :

IDP, diphosphate d'isopentényle; FDP, farnésyl diphosphate GGDP, géranylgeranyl diphosphate; CDP, diphosphate de copalyle; CPS4, copalyl diphosphate synthétase 4 (Piasecka et al., 2015^{*}).



4. Modes d'Action des Métabolites Secondaires

Malgré qu'elles ont un but commun de limiter le développement de la maladie, Les molécules nommées métabolites secondaires forment un groupe très hétérogènes. En conséquent, leurs modes d'action diffèrent.

Figure 10.11. Les différents fonctions hypothétiques des isothiocyanates (ITC) et des glucosinolates d'indole (IG) dans l'immunité d'Arabidopsis. (a) Les ITC agissent directement comme des antibiotiques et réduisent le taux de glutathion réduit (GSH). L'appauvrissement en GSH affecte la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui, à leur tour, peuvent avoir un impact sur la mort cellulaire programmée et la fermeture des stomates. GSSG, glutathion oxydé ; GS-ITC, conjugué glutathion-ITC. (b) Les produits du métabolisme de l'IG contrôlent l'entrée des pathogènes fongiques et oomycètes dans les cellules épidermiques. De plus, ils peuvent affecter le dépôt de callose et la mort cellulaire programmée. (Piasecka et al., 2015^{*}).

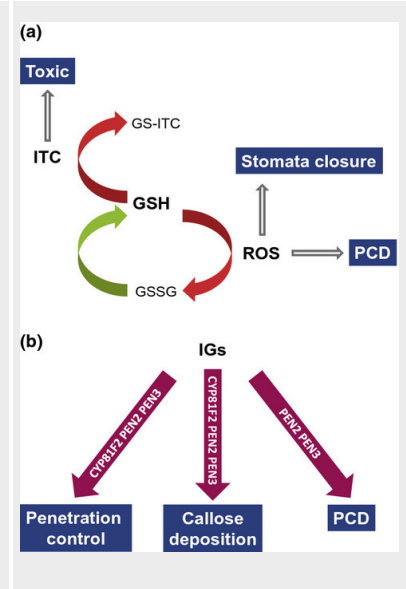
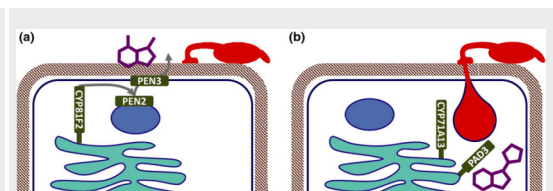


Figure 10.12. Mode d'action des métabolites secondaires. Fonction séquentielle des phytoantycipines et des phytoalexines dans la résistance pré- et post-invasive illustrée par les glucosinolates d'indole (IG) et la camalexine. (a) CYP81F2, Penetration2 (PEN2) et Penetration3 (PEN3) fonctionnent de manière coordonnée dans la résistance pré-invasive pour générer et livrer aux produits d'interface hôte-pathogène du métabolisme de l'IG. (b) Lors d'une invasion réussie d'agents pathogènes, les monooxygénases CYP71A13 et Phytoalexin-deficient3 (PAD3) P450 produisent de la camalexine qui peut limiter la croissance d'agents pathogènes post-invasifs. Les monooxygénases P450 sont ancrées dans la membrane du RE, PEN2 est associé aux peroxysomes, PEN3 se localise sur la membrane plasmique (Piasecka et al., 2015^{*}).



Exemple : Le Zest des Citrus

La réticine A isolée de l'extrait d'écorce de fruit (zest) de *Citrus reticulata* a induit une réaction d'hypersensibilité locale (HR), une accumulation systémique de H₂O₂ et une induction systémique de l'acide salicylique (SA) et une induction de la synthèse des protéines PR, pour terminer par une induction de la SAR, chez le tabac contre le virus de la mosaïque du tabac (TMV).

Exemple

Plusieurs phytoalexines phénylpropanoïdes, telles que la phaséoline, le glycinol et les 3-désoxyanthocyanidines, se sont révélées être impliquées dans la perturbation du fonctionnement des membranes (des agents pathogènes) de manière directe ou bien affectent de manière indirecte, en perturbant les processus cruciaux dans le fonctionnement des membranes.

5. La Synthèse des Métabolites Secondaires

Les plantes synthétisent un nombre très importants de molécules qualifiées de métabolites de secondaires (qui ne sont pas des molécules du métabolisme primaire). Une certaine catégorie des plantes est très reconnue par cette qualité, et on les appellent communément les plantes aromatiques.

Comme ces molécules ne sont pas des peptides ou protéines, les gènes impliqués dans leur synthèse codent alors pour des enzymes intervenant dans leur synthèse. Ce qui supposerait un nombre très important des gènes est concerné dans ce processus.

Figure 10.13. Les inducteurs de la synthèse des métabolites secondaires chez les plantes

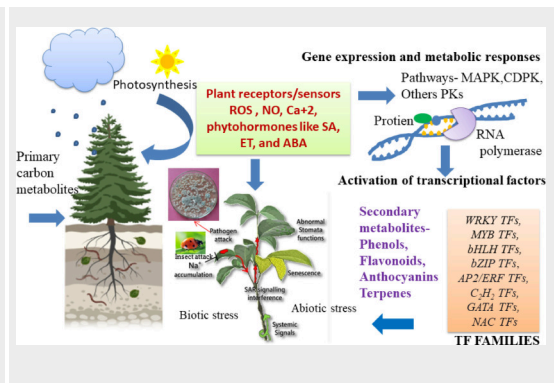
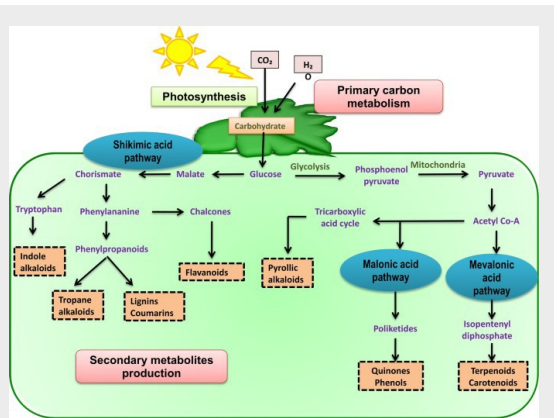


Figure 10.14. Les voies de synthèse des métabolites secondaires



5.1. Contrôle Génétique et Régulation de la Synthèse des Métabolites Secondaires

Dans la synthèse des métabolites secondaires il y a une multitude de gènes qui sont impliqués. Ce sont ces gènes codant pour des enzymes qui interviennent dans ce processus. En réalité, plusieurs gènes sont impliqués dans la synthèse d'une seule molécule.

En plus de ces gènes, il y a aussi les facteurs de transcription, qui vont contrôler le taux de synthèse d'une molécule de manière positive ou négative, à travers la stimulation/inhibition de l'expression des gènes impliqués (Tableau 10.2).

Tableau 10. 2. Les facteurs de transcription impliqués dans les réponses immunitaires à travers la régulation de la synthèse des métabolites secondaires

Famille de F. transcription	F. Transcription	Métabolite Secondaire	Culture	Maladie	Agent Pathogène
WRKY	StWRKY1	Hydroxycinnamic acid amide	Pomme de terre	Mildiou	<i>P. infestans</i>
	StWRKY8	Benzylisoquinoline alkaloids	Pomme de terre	Mildiou	
	ZmWRKY79	Terpenoid phytoalexins	Maïs		<i>Rhizoctonia solani</i>
	VviWRKY24/03 VvWRKY8	Resveratrol	Vigne		<i>Botrytis cinerea</i>
	HvWRKY23	Hydroxycinnamic acid amide	Orge	Fusariose de l'épi	<i>Fusarium graminearum</i>
	GhMKK2 GhNTF6	Flavonoid Terpenoid	Maïs		<i>F. graminearum</i>
	TaWRKY70	Hydroxycinnamic acid amide	Blé	Fusariose de l'épi	<i>F. graminearum</i>
MYB	AtMYB34/51 /112	Indolic glucosinolate	Arabidopsis		<i>Plectosphaella cucumerina</i>
	VvMYB14 VviMYB14	Resveratrol	Vigne		<i>B. cinerea</i>
	CsMYB1	Flavonoids Hydroxycinnamic acid amide	Citrus		<i>Elsinoe fawcettii</i>
	CsMYB2/26	Flavonoids	Thé		<i>Exobasidium vexans</i>
	CsMYB96		Citrus	Pourriture bleue	

		Lignin, Coumarins, caffeic acid, salicin			<i>Penicillium italicum</i>
	GhODO1	Lignin	Coton	Flétrissement verticilien	<i>Verticillium dahliae</i>
bZIP	MdHY5	Anthocyanin	Pomme		<i>Venturia inaequalis</i>
	CAbZIP1	Flavonoïdes	Poivron		<i>X. campestris pv. vesicatoria</i>
AP2/ERF	GbERF1	Lignin	Coton	Flétrissement verticilien	<i>V. dahliae</i>
	VqERF114	Resveratrol	Vigne		<i>B. cinerea</i>
	PnERF1	Saponins	Ginseng chinois	Pourriture racinaire	<i>F. monilliforme var. intermedium</i>
	TaAP2-15	Terpenoïdes	Blé	Rouille jaune	<i>Puccinia striiformis f. sp. tritici</i>
	ORA59	Hydroxycinnamic acid amide	Arabidopsis	Pourriture	<i>B. cinerea</i>
NAC	ANAC042	Camalexin	Arabidopsis	Taches noires	<i>Alternaria brassicicola</i>
	TaNAC032	Lignin	Blé	Fusariose de l'épi	<i>F. graminearum</i>
	MdNAC52	Anthocyanin proanthocyanidin	Pomme	Taches foliaires	<i>X. campestris pv. vesicatoria</i>
	SINAP1	Terpenoïdes	Tomate	Flétrissement	<i>Ralstonia solanacearum</i>

Les facteurs de transcription sont des protéines qui se lient à l'ADN dans la région où se trouve le promoteur du gène cible, modulant ainsi la probabilité de transcription de ce dernier. Pour réguler l'expression des gènes impliqués dans la défense, les facteurs de transcription peuvent avoir de signaux internes ou externe, régulant ainsi le taux de synthèse des métabolites secondaires.

5.2. Biosynthèse des Métabolites Secondaires

La synthèse des métabolites secondaires se fait selon le type de ces molécules :

5.2.1. Biosynthèse des Anticipines

Les anticipines sont synthétisées avant l'arrivée du pathogène. Les gènes contrôlant leur synthèse sont exprimés de manière constitutive. Elles sont libérées suite à la détection de l'agent pathogène.

5.2.2. Biosynthèse des Phytoalexines

La synthèse des phytoalexines débute au moment de la détection et reconnaissance de l'agent pathogène (PAMPs, DAMPS, ou effecteurs). Aussi leur synthèse peut être induite par les molécules signales.

Tableau 10.3. Exemple des molécules signales affectant la synthèse de certaines des métabolites secondaires chez les céréales (Meyer et al., 2015^{*}).

Plante	Métabolite Secondaire	Molécule Signale
Avena sativa	Avenanthramides	SA+
	Avenacines	BTH+
Zea mays	Kauralexine	(JA+Et)+
	Zealexine	(JA+Et)+
	DIMBOA	ABA+ ; (JA+Et)+
Triticum aestivum	DIMBOA	JA+
Oryza sativa	Sakuranetine	JA+
	Phytocassanes	
	Oryzalexines	
	Momilactones	
Sorghum bicolor	3-deoxyanthocyanidines	SA+ ; (SA+JA)+-

Légende : JA : acide jasmonique, SA : acide salicylique, ET : étylène, BTH : Dérivés de benzothiadiazole, + : régulé positivement, - : régulé négativement.

5.3. Stockages des Métabolites Secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être toxiques pour la plante aussi. Ces molécules sont isolées et stockées à part afin d'éviter les phénomènes d'autotoxicité. La plante doit les isoler des compartiments et organites sensibles à leurs actions (les membranes, protéines, enzymes...).

Pour les anticipines, la plante stocke ces molécules sous forme de précurseurs et séparément de l'enzyme qui les active. Les glucosides benzoxazinones sont stockés dans la vacuole et les β -glucosidases sont dans les plastides. Chez les Brassicaceae, les glucosinolates et les myrosinases sont stockés dans cellules spécialisées différentes.

Tableau 10.4. Exemples des localisations des phytoanticipines et leurs enzymes activatrices (Chappell, 2023^{*}).

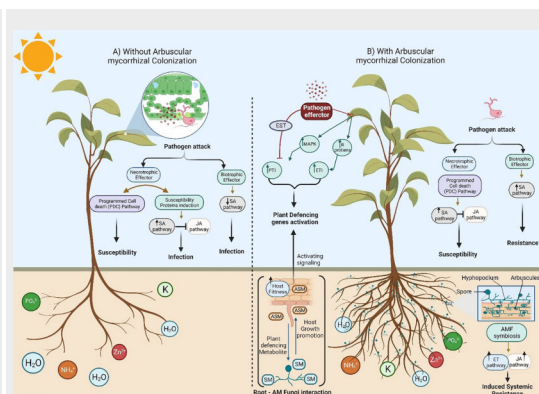
Classe de Phytoanticipine	Localisation de Phytoanticipine	Localisation de la β -Glucosidase
---------------------------	---------------------------------	---

Cyanogenic glucosides (linamarin)	Vacuole	apoplaste
Cyanogenic glucoside (dhurrin)	Cytoplasme, cellules épidermiques	Plastides, cellules du mesophylle
Glucosinolates (glucoraphanin)	Vacuole, Cellules S	Vacuole, Cellules de myrosine
Benzoxazinoids (DIMBOA)	Vacuole	Plastides
Saponin glycosides (avenacosides)	Cytoplasme, Cellules de la pointe racinaire	Inconnue

6. Les Métabolites Secondaires des Champignons Symbiotiques

En plus que la stimulation du système immunitaire végétale par les champignons symbiotiques par leur détections, ces organismes synthétisent d'autres molécules qui stimulent la défense végétale et/ou qui sont toxiques pour les agents pathogènes.

Figure 10.15. Schéma montrant les différentes réponses des plantes aux champignons pathogènes en l'absence et avec une colonisation par les champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF). (A) L'absence de colonisation des racines par l'AMF cause plus de dommages que les plantes mycorhizées en raison du développement de symptômes suite à l'infection par les pathogènes nécrotrophes et biotrophes. De plus, les plantes hôtes avec des systèmes racinaires non développés ont une faible capacité à absorber les nutriments du sol, ce qui entraîne la mort des plantes à la fin. (B) Une relation symbiotique entre les racines des plantes et les champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF) modifie de manière significative les écosystèmes et a un impact sur la production végétale via la promotion de la croissance des plantes en raison de l'amélioration de l'acquisition de nutriments minéraux à travers le vaste réseau d'hyphes fongiques AM (mycorrhizosphère) avec un réseau mycorhizien massif autour le système racine. De plus, les plantes hôtes peuvent prospérer sous divers stress abiotiques / biotiques (y compris la sécheresse, le sel, l'herbivorie, la température, les métaux et les agents pathogènes) en raison de la localisation symbiotique des champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF) via des communications de signaux complexes qui augmentent le taux photosynthétique des plantes. Par conséquent, la libération de strigolactones (SL) dans le cadre des exsudats racinaires induit la ramification des hyphes AMF pour favoriser la mycorhization. Les changements dans les modèles d'exsudat racinaire induisent des changements dans la communauté microbienne du sol, éventuellement en attirant des



antagonistes des agents pathogènes. En outre, il existe différentes manières de tolérance au stress biotique induite par l'AMF chez les plantes via la compétition avec les agents pathogènes du sol et l'absorption des nutriments, les exsudats racinaires modifiés qui soutiennent les microbes bénéfiques et suppriment les phytopathogènes dans la rhizosphère, les racines colonisées par l'AMF ont peu ou pas d'espace pour l'entrée des agents pathogènes. . Fait intéressant, une réduction générale des dommages et de l'incidence des maladies causées par les agents pathogènes du sol a été remarquée en raison du pouvoir de défense de l'amorçage de la plante. Le rôle des phytohormones (par exemple, JA et ET) dans la relation entre la plante hôte et ses champignons symbiotiques est bien connu. Les phytohormones participent en tant que molécules de signalisation et améliorent l'ISR (résistance systémique induite) de la plante hôte. En revanche, le développement d'agents pathogènes nécrotrophes dans les signaux d'interaction plante-agent pathogène fongique est limité en raison des mécanismes de défense des plantes régulés par le jasmonate.

XI La Réaction d'Hypersensibilité

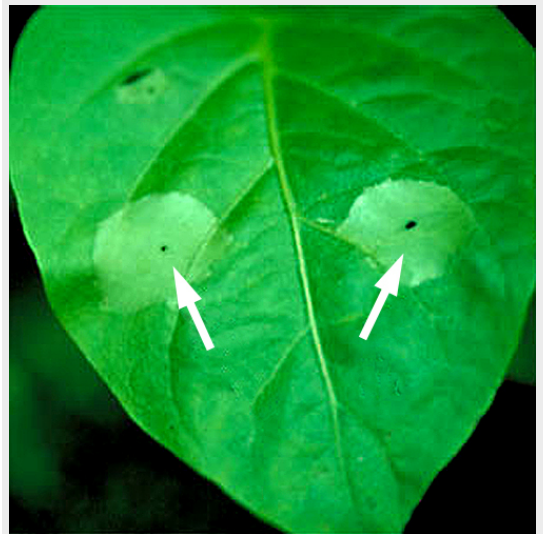
1. Introduction

La réaction d'hypersensibilité (*Hypersensitive Reaction* (HR)) est rencontrée chez toutes les espèces de plantes supérieures. Il s'agit d'un mécanisme de défense extrême des plantes vis-à-vis de leurs agresseurs pathogènes.

Définition : Réaction d'Hypersensibilité

La réaction d'hypersensibilité est la mort rapide des cellules végétales au point de pénétration de l'agent pathogène afin d'éviter sa propagation. Elle est associée avec la résistance.

Figure 11.1. Réaction d'hypersensibilité d'une feuille après inoculation par un agent pathogène (Schumann & D'Arcy, 2013^{*}).



Fondamental

La HR est la marque de la ETI.

La HR est une mort suicide des cellules pour limiter la propagation de la maladie. Le pathogène est tué avec les cellules mortes impliquées dans la HR.

La HR peut être considérée une forme de la mort cellulaire programmée. Cette dernière est une mort d'une cellule, peu importe la manière, dont le contrôle est un programme interne de cette cellule.

2. Niveaux de la HR

La HR peut être observée sur plusieurs niveaux :

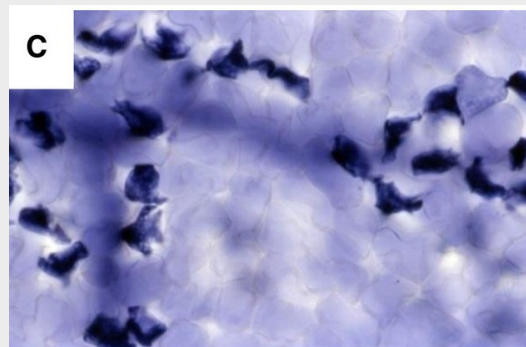
- La HR peut impliquer une seule cellule : uniquement la cellule attaquée mort. Dans cette situation la HR n'est plus observable à l'œil nu (figure 11.2).
- La HR peut être observée chez un groupe de cellule infectées (figure 11.3).
- La HR peut impliquer une partie d'un tissu végétal : la HR peut être observée facilement sur les feuilles (figure 10.1, et 10.4).

Figure 11. 2. La réaction HR au niveau cellulaire. Une cellule du haricot s'est suicidée suite à l'infection par *Colletotrichum limdemuthianum*, agent de l'anthraxose du haricot ((Picture source: G. Johal (Purdue University) in Balint-Kurti, 2019^{*}).



La HR peut être observée chez un groupe de cellule infectées (figure 11.3).

Figure 11.3. La Réaction HR microscopique in Balint-Kurti, 2019^{*}).



La HR peut impliquer une partie d'un tissu végétal : la HR peut être observée facilement sur les feuilles (figure 10.1, et 10.4).

Figure 11. 4. HR observée à l'œil nu. in Balint-Kurti, 2019^{*}).



3. Contrôle de la HR

💡 *Fondamental*

En raison des coûts potentiellement élevés d'une activation inappropriée, les plantes utilisent plusieurs mécanismes pour supprimer l'activation inappropriée des HR et la contraindre après l'activation. Il doit être complètement supprimé dans des conditions non pathologiques, car une activation inappropriée conduira à un phénotype de mort cellulaire spontanée qui peut être très préjudiciable à la croissance des plantes. A l'inverse, il doit être activé rapidement en cas de besoin. Ces contraintes ont conduit à l'évolution de plusieurs niveaux de contrôle.

3.1. Expression des Gènes R

La HR est induite par les protéines R de type TNL (TIR-NBS-LRR) et semble être particulièrement basée sur la transmission du signal de la PTI.

📎 *Remarque*

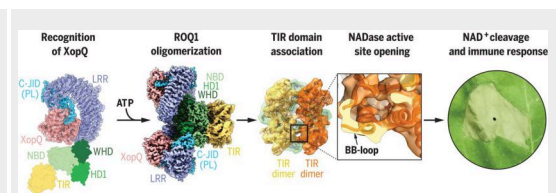
La HR n'est pas induite par la PTI. Elle fait partie de la ETI.

Le contrôle de la HR est exercé au niveau de l'accumulation et la stabilité des protéines. En particulier, le chaperon moléculaire HSP90 et deux co-chaperons en interaction RAR1 et SGT1 forment un complexe qui interagit avec de nombreux NLR, les stabilisant et permettant leur maturation et leur bon fonctionnement. Le silencing ou une mutation de l'un quelconque des RAR1, SGT1 ou HSP90 dans de nombreuses interactions est suffisant pour abolir HR et provoquer la réduction des niveaux de protéines NLR.

En réalité les protéines R s'associent (un oligomère des protéines R (homo ou bien hétéromères) entre elles et forme ce qu'on appelle un Résistosome. C'est ce résistosome qui est responsable de l'induction de la HR.

En plus de la formation des résistosomes par les protéines R sensors, les protéines R helpers sont responsable de la transduction du signal en aval.

Figure 11.5. Mécanisme proposé de l'activation de ROQ1. Les domaines LRR et C-JID de la protéine ROQ1 reconnaissent l'effecteur XopQ du pathogène. Le ROQ1 devient un oligomère (plusieurs molécules de ROQ1 s'associent ensemble) via le domaine NB-ARC (NBD, HD1, WHD) dans un état lié à l'ATP. L'association du domaine TIR induit un réarrangement conformationnel du domaine BB-loop ouvrant ainsi le site active de la NADase. L'activité catalytique du domaine TIR L'activité catalytique des domaines TIR signale en outre la réponse immunitaire, entraînant la mort cellulaire (Martin et al., 2020*).



3.2. Température

Dans la majorité des cas, la résistance ne s'exprime pas dans les températures élevées, HR incluse.

Exemple

Chez *Arabidopsis* la HR est lente, et les réponses immunitaires (contrôlées par les gènes *RPS2*, *RPM1* et *RPS4*) sont compromises pour les plants élevés à 28°C, en comparaison avec ceux élevés à 22°C, quand ils sont infectés par certaines races de *P. syringae* pv *tomato*.

3.3. Lumière

La dépendance de la HR à la lumière est généralement observée. On pense que cette dépendance est due à la production des ROS par les chloroplastes. L'autre source majeure des ROS sont les mitochondries.

3.4. Humidité Relative

Une humidité relative élevée annule ou bien retarde la HR dans certaines situations.

4. Les Conséquences de la HR

4.1. La résistance

La HR a été toujours considérée comme un phénomène de résistance. La HR est une réponse des plantes résistantes à l'infection par un pathogène. Au début on considérait que la mort cellulaire durant la HR est due à l'arrêt de la croissance du pathogène. Maintenant, et avec la caractérisation de plusieurs protéines de résistance, on sait que la mort cellulaire peut avoir lieu durant la HR indépendamment de la présence du pathogène.

Remarque

Il y a toujours des discussions sur le rôle de la HR dans la résistance. La HR est-elle une conséquence ou bien un produit secondaire de la résistance ? plutôt que la cause de la résistance.

Attention

Dans certaines situations il y a pas de relations entre la résistance et la HR :

- La protéine de résistance RPS6 (type TIR-NBS-LRR) confère la résistance sans aucune mort cellulaire visible
- Le gène RIN13 améliore la résistance induite par le gène RPM1 mais élimine la HR visible
- Chez Arabidopsis, la protéine RPS4 (NLR) confère la résistance contre *P. syringae* dans les accessions Col-0 et Ler. La HR est observée chez Ler mais pas chez Col-0.

Remarque

Dans les situations où les protéines R confèrent une résistance très rapide et à des niveaux très élevés, la HR peut ne pas avoir lieu.

4.2. La sensibilité

Certains pathogènes nécrotrophes peuvent induire la HR. Dans certains cas, les pathogènes de ce type induisent l'expression de certains gènes de sensibilité codant pour des protéines de résistance ou bien des protéines semblables aux PRRs. Ces protéines induisent la HR, facilitant ainsi la pénétration du nécrotrophe.

Attention

Pour les hémibiotrophes, la HR est un moyen de résistance efficace uniquement durant la phase biotrophique de la vie du pathogène. Si la HR tarde et a lieu durant la phase nécrotrophe, elle devient un facteur de sensibilité.

Remarque

Pour les hémibiotrophes, la phase biotrophique diffère d'un pathogène à l'autre :

- *P. infestans* : 3-4 jours
- *Septoria tritici* : 7 jours,....

4.3. La Résistance Systémique

La HR induit, en général la résistance systémique de la plante. Une résistance à spectre large activé suite à l'infection localisée par un pathogène générant la HR. Elle est dépendante de l'acide salicylique, et associée à l'accumulation des protéines PR, (PR1, PR2, et PR5)

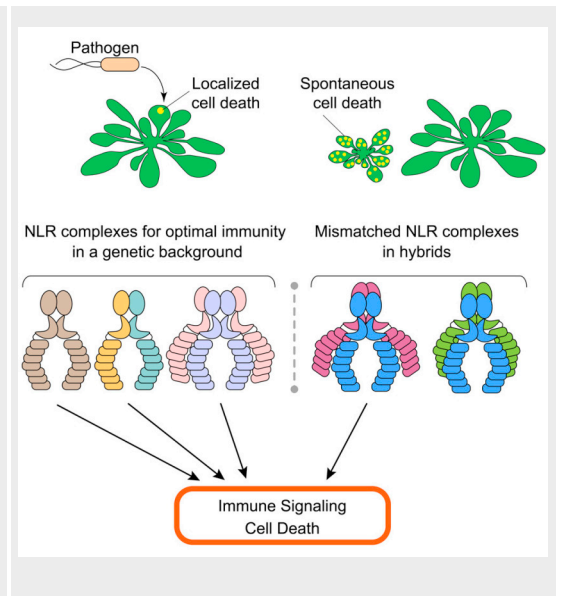
4.4. Phénomènes d'Autoimmunité

Dans certaines situations on observe la mort cellulaire qui associé à un phénomène d'autoimmunité. Ce phénomène peut être associé à la formation du résistosome. Ce phénomène est surtout observé chez les hybrides. Ces hybrides ont une croissance limitée et montrent des taches nécrotiques sur les feuilles. On parle des nécroses des hybrides.

4.4.1. Contrôle

La HR est contrôlée par l'interaction des protéines R (résistosome) soit pour son activation ou inhibition. On pense que lorsqu'il y a interaction entre aux moins deux protéines R don les gènes codant n'ont pas évolué ensemble, et se trouve dans le même pool génétique, ce phénomène s'active, et donne lieu au phénomène d'autoimmunité.

Figure 11.6. Phénomène d'autoimmunité chez les plantes (Trans et al., 2016*).



Références

Boccardo et al., 2019

Boccardo, N.A., Segretin, M.E., Hernandez, I., Mirkin F.G., Chacon O., Lopez Y., Borrás-Hidalgo O., Bravo-Almonacide F.F. 2019. Expression of pathogenesis-related proteins in transplastomic tobacco plants confers resistance to filamentous pathogens under field trials. *Sci Rep* 9, 2791. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39568-6>

Bibliographie

- Albert I., Hua C., Nürnberger T., Pruitt R.N., Zhang L. 2020. Surface sensor systems in plant immunity. *Plant Physiol.* 182 : 1582-1596.
- Ali F., Pan Q., Chen G., Zahid K.R., Yan J. 2013. Evidence of Multiple Disease Resistance (MDR) and Implication of Meta-Analysis in Marker Assisted Selection. *PLoS ONE* 8(7): e68150. doi:10.1371/journal.pone.0068150
- Anjali, Kumar S., Korra T., Thakur R., Arutselvan R., Kashyap A.S., Nehela Y., Chaplygin V., Minkina T., Keswani C. 2023. *Plant Stress* 8 : 100154. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100154>.
- Balint-Kurti P. 2019. The plant hypersensitive response: concepts, control and consequences. *Plant Pathology*, 20: 1163-1178. <https://doi.org/10.1111/mpp.12821>.
- Barragan A.C., Weigel D. 2021. Plant NLR diversity: the known unknowns of pan-NLRomes. *The Plant Cell* 33 (4): 814–831.
- Bellincamp D., Cervone F., Lionetti V. 2014. Plant cell wall dynamics and wall-related susceptibility in plant-pathogen interactions. *Front. Plant Sci.*,5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00228>.
- Bezerra-Neto J.P., Araujo F.C., Ferreira-Neto J.R.C., Silva R.L.O., Borges A.N.C., Matos M.K.S., Silva J.B., (...), Benko-Iseppon A.M. 2020. NBS-LRR genes-Plant health sentinels: Structure, roles, evolution and biotechnological applications. In Poltronieri P. & Hong Y. (Eds). *Applied Plant Biotechnology for Improving Resistance to Biotic Stress*. Academic Press, pp: 63-120.
- Boller T., Felix G. 2009. A renaissance of elicitors : Perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annu. Rev. Plant Biol.* 60:379–406.
- Borrelli G.M., Mazzucotelli E., Marone D., Crosatti C., Michelotti V., Valè G., Mastrangelo A.M. 2018. Regulation and Evolution of NLR Genes: A Close Interconnection for Plant Immunity . *International Journal of Molecular Sciences* 19 (6):1662. <https://doi.org/10.3390/ijms19061662>
- Cesari S. 2018. Multiple strategies for pathogen perception by plant immune receptors. *New Phytologist* 219: 17–24.
- Chappell, J. 2023. Anticipating the unexpected. *New Phytol.* <https://doi.org/10.1111/nph.18899>

Chowdhury J., Henderson M., Schweizer P., Burton R.A., Fincher G.B., Little, A. 2014. Differential accumulation of callose, arabinoxylan and cellulose in nonpenetrated versus penetrated papillae on leaves of barley infected with *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. *New Phytol*, 204: 650-660. <https://doi.org/10.1111/nph.12974>

Copeland C. 2021. Caught with a hand in the cookie jar: Phytophthora AEP1 mediates sugar uptake but triggers plant immunity. *Plant Physiology* 187 (1): 24-26.

Djian-Caporalino, C., Palloix, A., Fazari, A., Marteu, N., Barbary, A., Abad, P., Sage-Palloix, A. M., Mateille, T., Risso, S., Lanza, R., Taussig, C., and Castagnone-Sereno, P. (2014). Pyramiding, alternating or mixing: comparative performances of deployment strategies of nematode resistance genes to promote plant resistance efficiency and durability. *BMC Plant Biol* 14, 53.

Garbone G., Mangialardi L. 2005. Hydrophobic properties of a wavy rough substrate. *The European Physical Journal E* 16 (1):67-76

Garcia-Ruiz H., Szurek B., Van den Ackerveken G. 2021. Stop helping pathogens: engineering plant susceptibility genes for durable resistance. *Curr Opin Biotechnol*. 70:187-195. doi: 10.1016/j.copbio.2021.05.005. Epub 2021 Jun 19. PMID: 34153774; PMCID: PMC8878094.

Héloir M-C., Adrian M., Brulé D., Claverie J., Cordelier S., Daire X., Dorey S., Gauthier A., Lemaître-Guillier C., Negrel J., Trda L., Trouvelot S. Vandelle E., Poinssot B. 2019. Recognition of Elicitors in Grapevine: From MAMP and DAMP Perception to Induced Resistance. *Front. Plant Sci*. 10 : 1117. (doi: 10.3389/fpls.2019.01117).

Hohmann U., Lau K., Hothorn M. 2017. The Structural Basis of Ligand Perception and Signal Activation by Receptor Kinases. *Annual Review of Plant Biology*, 68 : 109-137.

Jones J.D.G., Dangl J.L. 2006. The plant immune system. *Nature* volume 444, pages 323–329

Jubic L.M., Saile S., Furzer O.J., El Kasmi F., Dangl J.L. 2019. Help wanted : helper NLRs and plant immune responses. *Current Opinion in Plant Biology* 50 : 82-94.

Kanyuka K., Rudd J.J. 2019. Cell surface immune receptors: the guardians of the plant's extracellular spaces. *Current Opinion in Plant Biology* 50 : 1-8.

Kaur A., Kaur S., Kaur A., Kaur Sarao N., Sharma D. 2022. Pathogenesis-Related Proteins and Their Transgenic Expression for Developing Disease-Resistant Crops: Strategies Progress and Challenges [Internet]. *Plant Breeding - New Perspectives [Working Title]* Wang H. (ed.). IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.106774>

- Khare S., Singh N.B., Singh A. Hussain I., Niharika K., Yadav V., Bano C., Yadav R., Amist N. 2020. Plant secondary metabolites synthesis and their regulations under biotic and abiotic constraints. *J. Plant Biol.* 63 : 203–216. <https://doi.org/10.1007/s12374-020-09245-7>.
- Kourelis J., van der Hooft R.A.L. 2018. Defended to the nines : 25 years of resistance gene cloning identifies nine mechanisms for R protein function. *The Plant Cell*, Vol. 30: 285–299.
- Lapin D., Van den Ackerveken G. 2013. Susceptibility to plant disease: more than a failure of host immunity. *Trends in Plant Science*, 18 (10) : 546-554.
- Lee D., Lal N.K., Lin Z.-J.D., Ma S., Liu J., Castro B., Toruno T., Dinesh-Kumar S.P., Coaker G. 2020. Regulation of reactive oxygen species during plant immunity through phosphorylation and ubiquitination of RBOHD. *Nat Commun* 11 : 1838. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15601-5>
- Lolle S., Stevens D., Coaker G. 2020. Plant NLR-triggered immunity: from receptor activation to downstream signaling. *Current Opinion in Immunology*, 62: 99–105.
- Martin R., Qi T., Zhang H., Liu F., King M., Toth C., Staskawics B. 2020. Structure of the activated ROQ1 resistosome directly recognizing the pathogen effector XopQ. *Science* 370 (6521) : eabd9993.
- Meng X., Zhang S. 2013. MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51 : 245-66.
- Mengiste T. 2012. Plant Immunity to Necrotrophs. *Annu. Rev. Phytopathol.* 50:267–94
- Meyer . 2015. Signals that stop the rot: Regulation of secondary metabolite defences in cereals. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 94 :156-166.
- Ngou B.P.M., Ahn H.-K., Ding P., Jones J.D.G. 2021. Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors. *Nature* 592 : 110-115.
- Niks R.E., Qi X., Marcel T.C., 2015. Quantitative Resistance to Biotrophic Filamentous Plant Pathogens: Concepts, Misconceptions, and Mechanisms. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2015. 53:445–70
- Okmen B., Doehlemann G. 2014. Inside plant: biotrophic strategies to modulate host immunity and metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 20:19–25.
- Oliva R., Quibodl.L. 2017. Immunity and starvation: new opportunities to elevate disease resistance in crops. *Current Opinion in Plant Biology*, 38:84–91

- Peng Y., van Wersh R., Zhang Y. 2018. Convergent and Divergent Signaling in PAMP-Triggered Immunity and Effector-Triggered Immunity. *MPMI* 31 (4) : 403-409.
- Piasecka A., Jedrzejczak-Rey N., Bednarek P. 2015. Secondary metabolites in plant innate immunity: conserved function of divergent chemicals. *New Phytol*, 206: 948-964. <https://doi.org/10.1111/nph.13325>
- Pruitt R.N., Gust A.A., Nürnberger T. 2021. Plant immunity unified. *Nature Plants* 7 : 382-383.
- Ren, H., Zhao, X., Li, W., Hussain, J., Qi, G., Liu, S. 2021. Calcium Signaling in Plant Programmed Cell Death. *Cells*, 10 : 1089. <https://doi.org/10.3390/cells10051089>.
- Roudaire T., Héloir M.-C., Wendehenne D., Zadoroznyj A., Dubrez L., Poinssot B. 2021. Cross Kingdom Immunity: The Role of Immune Receptors and Downstream Signaling in Animal and Plant Cell Death. *Frontiers in Immunology*, 11 : 612452.
- Saur I.M.L., Panstruga R., Schulze-Lefert P. 2021. NOD-like receptor-mediated plant immunity: from structure to cell death. *Nat Rev Immunol* 21: 305–318 . <https://doi.org/10.1038/s41577-020-00473-z>.
- Schumann G.L., D'Arcy C. J. 2013. *Essential Plant Pathology*. APS PRESS, Minnesota, USA. P : 369.
- Spiteller D. 2008. Plant Defense Strategies. in *Chemical Ecology*. Elsevier B.V. : 2798-2811.
- Tamborski J., Krasileva K. 2020. Evolution of plant NLRs : From natural history to precise modification. *Annu. Rev. Plant Biol.* 71 : 355-378 .
- Ton J., Flors V., Much-Mani B. 2009. The multifaceted role of ABA in disease resistance. *Opinion* 14 (6) : 310-317. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.03.006>.
- Tran D.T.N., Chung E.-H., Habring-Müller A., Demar M., Schwab R., Dangl J.L., Weigel D., Chae E. 2016. Activation of a Plant NLR Complex through Heteromeric Association with an Autoimmune Risk Variant of Another NLR. *Current Biology*, 27 (8): 1148-1160.
- (Underwood W. 2012. The plant cell wall: a dynamic barrier against pathogen invasion. *Front. Plant Sci.* 3 : 85 (DOI=10.3389/fpls.2012.00085).
- Voigt C.A. 2014. Callose-mediated resistance to pathogenic intruders in plant defense-related papillae. *Front Plant Sci.* 5: 168. [10.3389/fpls.2014.00168](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00168)
- Vossen, J.H., van Arkel, G., Bergervoet, M., van Arkel G., Bergergoet M., Jo K.-R., Jacobsen E., Visser R.G.F. 2016. The *Solanum demissum* R8 late blight resistance gene is an Sw-5 homologue that has been deployed worldwide in late blight resistant varieties. *Theor Appl Genet* 129, 1785–1796 . <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2740-0>

- Wang J., Chai J. 2020. Structural insights into the plant immune receptors PRRs and NLRs. *Plant Physiol.* 182 : 1566-1581.
- J. Wang, M. Hu, J. Wang, J. Qi, Z. Han, G. Wang, Y. Qi, H.W. Wang, J.M. Zhou, J. Chai Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science*, 364 : eaav5870.
- Wang, W., Feng, B., Zhou, J.-M. and Tang, D. 2020. Plant immune signaling: Advancing on two frontiers. *J. Integr. Plant Biol*, 62: 2-24. <https://doi.org/10.1111/jipb.12898>
- Wang R., He F., Ning Y., Wang G.-L., 2020. Fine-Tuning of RBOH-Mediated ROS Signaling in Plant Immunity. *Trends in Plant Science* 25 (11) : 1060-1062.
- Wang Y., Li X., Fan B., Zhu C., Chen Z. 2021. Regulation and Function of Defense-Related Callose Deposition in Plants. *Int J Mol Sci.* 22(5): 2393. doi: 10.3390/ijms22052393. PMID: 33673633; PMCID: PMC7957820.
- van Wersch S., Tian L., Hoy R., Li X. 2020. Plant NLRs: The Whistleblowers of Plant Immunity. *Plant Communications*, 1 (4) : 100016.
- Wilkinson S.W., Magerøy M.H., Sánchez A.L., Smith L.M., Furci L., Cotton T.E.A., Krokene P., Ton J. 2019. Surviving in a Hostile World: Plant Strategies to Resist Pests and Diseases. *Annual Review of Phytopathology* 57 : 505-529.
- Wu C.-H., Derevnina L., Kamoun S. 2018. Receptor networks underpin plant immunity. *Science* 360 (6395) : 1300-1301.
- Yuan M., Jiang Z., Bi G., Nomura K., Liu M., Wang Y., Cai B., Zhou J.-M., He S.Y., Xin X.-F. 2021. Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity. *Nature* 592 : 105-109.
- Yu M., Zhou Z., Liu X., Yin D., Li D., Zhao X., Li X., Li S., Chen R., Lu L. Yung D., Tang D., Zhu L. 2021. The OsSPK1–OsRac1–RAI1 defense signaling pathway is shared by two distantly related NLR proteins in rice blast resistance. *Plant Physiology*, kiab445.
- Zhang Y., Lubberstedt T., Xu M. 2013. The genetic and molecular basis of plant resistance to pathogens. *Journal of Genetics and Genomics* 40 : 23-35.
- Zhang X., Dodds P.N., Bernoux M. 2017. What do we know about NOD-like receptors in plant immunity. *Annu. Rev. Phytopathol.* 55:9.1–9.25.
- Zribi I., Ghorbel M., & Brini F. 2021. Pathogenesis Related Proteins (PRs): From Cellular Mechanisms to Plant Defense. *Current protein & peptide science*, 22(5) : 396–412. <https://doi.org/10.2174/1389203721999201231212736>

Webographie