

BIOLOGIE VÉGÉTALE

Francis-André WOLLMAN
Président

Steven Ball
Hélène Barbier-Brygoo
Stéphane Blanc
Élisabeth Blee
Alain Borgel
Catherine Boyen
Jean-François Briat
Évelyne Coppin
Dominique de Vienne
Serge Delrot
Christian Dumas
Véronique Gomord
Anne-Marie Justin
Thierry Langin
Yves Meyer
Jacques Millet
Jean-Philippe Reichheld
Dominique Roby
Nicole Schwebel
Marylin Vantard

L'objectif de cette contribution est de présenter, aussi brièvement que possible, les principales facettes des recherches conduites dans le domaine de la biologie végétale, en situant ses principaux enjeux pour le CNRS et la communauté scientifique française dans son ensemble. Une présentation plus détaillée des travaux poursuivis dans ce domaine en France est disponible sur demande. On se reportera également aux excellents documents produits récemment sur le sujet : « Images de la Recherche Française en biologie végétale », 1996, Éditions du CNRS ; « Le monde végétal : du génome à la plante entière », 2000, Publication de l'Académie des Sciences, Éditions TEC&DOC.

- Nous souhaitons insister ici sur certaines spécificités des recherches dévolues aux organismes végétaux, qui ont la vertu de fournir un complément de connaissances d'intérêt général pour les Sciences du Vivant.

Organismes fixés, donc dépourvus de capacités de mobilité à même de les protéger d'agressions extérieures, les végétaux :

1. ont mis en place une grande diversité de stratégies métaboliques et développementales en réponse aux stress abiotiques : l'intégration du métabolisme et du développement est donc d'un intérêt majeur dans le champ des recherches en biologie végétale ;

2. ont intégré l'environnement microbien :

– (i) dans des relations de défense mobilisant des transductions de signaux particulièrement sophistiquées,

– (ii) dans des symbioses uniques en leur genre (par exemple pour permettre la fixation de l'azote).

Organismes photosynthétiques, les végétaux sont un modèle de choix dans les domaines de :

1. la bioénergétique puisqu'ils permettent d'étudier l'intégration métabolique de la respiration et de la photosynthèse ;

2. la photobiologie, tout particulièrement pour une compréhension du rôle de la lumière dans le développement du vivant, qu'il s'agisse par exemple de photosynthèse ou de photomorphogénèse.

Organismes dotés de propriétés génétiques remarquables, les plantes sont une source privilégiée dans l'étude :

1. de la totipotence cellulaire (la capacité d'une cellule différenciée de se dédifférencier et de régénérer un organisme entier) ;

2. des phénomènes d'extinction génique qui se sont manifestés de façon spectaculaire à l'occasion des approches de transgénèse végétale. Ces processus se sont révélés fondamentaux dans la régulation de l'expression génétique chez les eucaryotes et sont à l'origine du mécanisme d'interférence ARN ;

3. de l'intégration de l'expression génétique cellulaire, puisqu'une cellule végétale comporte trois génomes distincts : nucléaire, chloroplastique et mitochondrial. On peut ainsi étudier l'intervention du noyau dans l'expression génétique des organites comme les rétroactions des organites sur l'expression génétique nucléaire ;

4. de la reconnaissance du soi et du non soi, à travers la capacité de certaines espèces de distinguer autopolinisation et allopollinisation. Ajoutons que le déterminisme du sexe chez les végétaux et les phases précoces de la reproduction constituent un champ d'étude original,

complémentaire et irréductible aux modèles animaux et microbiens ;

5. des cycles de vie complexes qui comprennent plusieurs phénomènes originaux comme l'alternance entre phase sporophytique et gamétophytique, des variations de ploïdie et des effets d'imprinting.

Organismes qui représentent une très grande diversité phylogénétique, les eucaryotes photosynthétiques représentent divers groupes, chacun très anciens, d'un point de vue évolutif. Il y a, par exemple, trois groupes parmi les organismes photosynthétiques qui ont évolué vers une organisation multicellulaire de façon indépendante : les streptophytes comprenant les plantes terrestres, les rhodophytes correspondant aux algues rouges et la lignée des hétérokontes correspondant aux algues brunes.

• On trouvera ci-dessous une présentation des problématiques développées dans six aspects de notre discipline qui nous paraissent devoir retenir l'attention en termes stratégiques pour le bon développement de la recherche végétale au CNRS. Deux des thèmes sont absolument transversaux en biologie. Le premier concerne les systèmes modèles et leurs usages, question particulièrement prégnante à l'heure des choix opérés dans les grands programmes de séquençage et du traitement à haut débit des données qu'ils génèrent. Le second s'intéresse à une question renouvelée par les limites des approches de génétique inverse, à savoir la part des déterminismes génétique et épigénétique dans la construction d'un phénotype. Les quatre autres thèmes sur lesquels nous souhaitons insister recoupent les spécificités végétales d'intérêt général dans les sciences du vivant : Métabolisme, Transport et signalisation, Interactions Plantes-Microorganismes, Reproduction et Développement.

1 – LES SYSTÈMES MODÈLES ET LEURS USAGES

- L'utilisation de systèmes biologiques modèles est incontournable pour faire progresser la connaissance, en particulier pour accéder à la biologie d'un organisme dans son ensemble. La place de plus en plus grande faite à la génétique a conduit à un recentrage progressif sur des organismes présentant un cycle de reproduction court, facile à gérer en laboratoire et accessible à toutes les méthodologies de génétique classique et moléculaire. La rapidité avec laquelle les méthodologies ont été et sont développées est généralement fonction de la taille de la communauté scientifique travaillant sur l'organisme, car une certaine masse critique est nécessaire pour développer un système modèle et en assurer la pérennité.

Étant donné l'énorme investissement et la masse d'informations acquises sur les modèles traditionnels comme la drosophile, *Arabidopsis thaliana* ou la levure *Saccharomyces cerevisiae*, étudiés depuis des décennies par une large communauté scientifique, il est impensable de ne pas maintenir une recherche sur ces modèles. Par contre, limiter les recherches à quelques systèmes modèles ne paraît pas un choix judicieux. Une telle restriction ne prendrait en compte ni la diversité biologique et son intégration dans une vision évolutive, ni l'existence de problèmes biologiques particuliers dont l'étude s'avère plus aisée, voire plus finalisée, chez des organismes modèles moins classiques. Sans rivaliser avec les modèles traditionnels, ils peuvent les seconder et dynamiser la recherche dans certains champs thématiques, comme l'illustre la variété des modèles biologiques végétaux travaillés dans les laboratoires de la section 27.

- La brassicacée *Arabidopsis thaliana* a été initialement choisie pour la petitesse de son génome, le premier de plante entièrement séquencé (fin 2001), et le développement explosif des connaissances qui s'en est suivi irrigue actuellement toute la biologie végétale.

On peut prévoir qu'*Arabidopsis* restera sans aucun doute l'organisme végétal le plus étudié pendant les prochaines années, et la communauté scientifique française occupe une place de choix dans les secteurs de la génomique et de la génétique fonctionnelle de cet organisme. Cependant, même si l'intérêt de ce modèle reste entier, il ne peut pas couvrir la totalité des questionnements importants, tant sur les plans fondamentaux qu'économiques. Deux exemples parmi beaucoup d'autres sont fournis par l'étude de la photosynthèse et de la fixation symbiotique de l'azote.

Chez les plantes et les microorganismes photosynthétiques, il existe une homologie structurale et fonctionnelle au niveau des complexes membranaires qui constituent les photosystèmes responsables de la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique. La recherche s'est, à juste titre focalisée sur les cyanobactéries (surtout *Synechocystis* sp. PCC6803 et dans une moindre mesure *Anabaena*), les bactéries pourpres (*Rhodobacter* et le modèle émergent *Rubrivivax gelatinosus*), les diatomées comme *Phaeodactylum tricornerutum* ainsi que sur l'algue verte unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*. C'est dans le domaine de la régulation de l'expression des gènes plastidiaux et de l'assemblage des composantes photosynthétiques que *Chlamydomonas* montre une réelle supériorité sur les autres modèles végétaux. La recherche française dans le domaine de la biogénèse des chloroplastes et de la synthèse des polysaccharides chez *Chlamydomonas* se développe bien. Dans cette perspective, il nous paraît important de rappeler que la séquence complète du génome de *Chlamydomonas reinhardtii* est maintenant disponible.

La fixation symbiotique de l'azote est propre aux légumineuses. Consciente des limites imposées par *Arabidopsis* en la matière, la communauté scientifique travaillant sur les interactions *Rhizobium*-plante s'est attachée à promouvoir le modèle *Medicago truncatula*, une fabacée qui présente, comme *Arabidopsis*, une grande facilité de culture et un petit génome. Le faible niveau de microsyténie observé entre les légumineuses et *Arabidopsis* a motivé le développement de projets de

séquençage du génome de *M. truncatula*. La France est aussi particulièrement bien placée pour la mise en place de la génomique de cette légumineuse.

À côté des plantes supérieures et des micro-algues, les champignons filamenteux non pathogènes et les bryophytes représentent des modèles pour des créneaux thématiques originaux qui génèrent des connaissances de portée générale concernant l'inactivation de transgènes, la recombinaison méiotique, la régulation de l'expression génique, le développement sexué ou l'hérédité non conventionnelle. Plusieurs espèces de champignons filamenteux non pathogènes du groupe des Euscomycètes sont utilisés comme systèmes modèles. *Neurospora crassa*, modèle non travaillé en France, reste la référence dans le domaine, à côté d'*Aspergillus nidulans*, mais il existe également des modèles de « tradition française » issus de la grande école de génétique, en particulier *Podospira anserina*. Les laboratoires français ont un grand potentiel dans ce domaine qu'il s'agit de maintenir. La recombinaison homologue à haute fréquence dont fait preuve la bryophyte *Physcomitrella patens*, à l'inverse d'*Arabidopsis*, en fait un nouveau modèle végétal multicellulaire de choix. En effet, la recombinaison homologue permet l'interruption ciblée de n'importe quelle séquence, de même que sa substitution par n'importe quelle autre séquence homologue mutée. Très (trop) peu d'équipes françaises travaillent actuellement le modèle *Physcomitrella*. Des algues multicellulaires appartenant à des lignées évolutives distinctes des Streptophytes, les algues brunes et rouges fournissent aujourd'hui des modèles émergents. Notamment la petite algue brune filamenteuse *Ectocarpus siliculosus* qui s'avère un modèle de génétique dans la lignée des hétérokontes, à même de contribuer à la compréhension du contrôle du développement de l'organisme entier.

Enfin, les plantes cultivées sont des objets d'étude incontournables, mais ne représentent pas des modèles de culture aisée sans infrastructure lourde. Ces systèmes ont pourtant à de nombreuses reprises servi de modèle pour le développement de nos connaissances non seulement en biologie végétale mais aussi en

génétique au même titre que la drosophile ou la souris. Le degré de sophistication atteint par la génétique du maïs n'a rien à envier à celle d'*Arabidopsis* ou de la drosophile. Le riz dont le génome est à peine 3 à 4 fois plus gros que celui d'*Arabidopsis* constitue la première monocotylédone et la deuxième plante dont la séquence du génome vient d'être achevée, et sur laquelle la génomique fonctionnelle se met désormais en place. À nouveau, la France semble bien positionnée dans ce secteur.

- Sur le plan fondamental, la recherche chez *Arabidopsis thaliana* et *Medicago truncatula* est bien représentée en France à la fois quantitativement et qualitativement, mais les études portant sur les microalgues et la mousse *Physcomitrella* restent le fait d'un assez petit nombre de groupes. Il semble important, au-delà de la recherche chez les plantes supérieures, de développer au moins un organisme modèle par grand groupe d'organismes photosynthétiques appartenant à des lignées distinctes, notamment des modèles d'organismes unicellulaires comme la cyanobactérie *Synechocystis*, l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*, la diatomée *Phaeodactylum tricorutum* car l'importance écologique des diatomées est considérable (de l'ordre de 25 % de la fixation du carbone à la surface du globe) et des modèles multicellulaires comme la mousse *Physcomitrella patens* ou des macro-algues rouges et brunes. Les compétences démontrées par les équipes étudiant le picophytoplancton ont conduit à l'isolement d'*Ostreococcus taurii* une nouvelle « levure verte » qui permet d'aborder l'après génome à travers un modèle photosynthétique simplifié dont la complexité génétique est inférieure à celle qui caractérise *Saccharomyces cerevisiae*. La séquence complète de ce génome est actuellement réalisée par un consortium d'équipes françaises et sera rapidement disponible. La génomique comparative des 4 génomes végétaux disponibles (*Ostreococcus*, *Chlamydomonas*, *Arabidopsis* et le riz) devrait s'avérer particulièrement éclairante dans le court et moyen terme.

Quel que soit le modèle considéré, le passage de l'acquisition des données génomiques (achevée ou en cours pour la plupart des modèles cités) à leur exploitation pour générer

des données fonctionnelles reste l'étape limitante. Il est bien sûr nécessaire de maintenir l'effort d'analyse génomique sur fonds publics, mais en même temps crucial de renforcer les capacités d'analyse post-génomique qui déboucheront sur la biologie et la physiologie intégrée des organismes. La génération de ressources (banques de données génomiques et de séquences transcrites, banques de mutants et de lignées recombinantes) et leur mise à disposition auprès de la communauté scientifique sont des étapes clés dans lesquelles le CNRS doit s'investir en concertation étroite avec d'autres organismes de recherche comme l'INRA ou le CIRAD, en particulier pour les modèles d'intérêt agronomique.

2 – GÉNOTYPE ET PHÉNOTYPE

Comment s'élabore un phénotype à partir d'un génotype ? Quelle est la part de variabilité phénotypique d'origine génétique ? Quelle est l'importance, et quelles sont les bases génétiques des interactions génotype-milieu ? Ces questions anciennes, centrales en biologie, et qui sous-tendent les pratiques de l'amélioration des plantes et de l'agronomie, peuvent aujourd'hui bénéficier de la connaissance de la séquence complète du génome de plantes modèles, et des outils associés de génomique fonctionnelle et de génétique quantitative.

Nous avons vu que, à l'exception notable de *Physcomitrella patens*, les génomes nucléaires des végétaux ne se prêtent pas à une inactivation génétique ciblée, faute de méthodes de recombinaison homologue ; celles-ci représentent donc un enjeu de recherche majeur. Toutefois des collections de mutants d'insertion ont été développées ; elles permettent l'isolement de mutants par criblage par amplification PCR. Pour certaines de ces collections, les bordures des éléments insérés ont été systématiquement séquencées, si bien

que la caractérisation d'un mutant peut être obtenue par simple comparaison de séquences. La France occupe une bonne position dans ce secteur, grâce aux efforts conjoints de l'INRA et du CNRS, dans le cadre de GDR successifs, puis de Génoplante. Mais il serait important de penser la suite de ce dispositif, pour que les efforts consentis depuis plus de 10 ans continuent de porter leurs fruits, en particulier face à des initiatives de l'importance du programme Arabidopsis 2010, coordonné par la NSF aux États-Unis.

Ces collections étaient censées permettre d'établir rapidement la fonction de la majorité des gènes d'Arabidopsis. Mais dès les premières études, il est apparu que le principal obstacle à cette démarche était la caractérisation du phénotype. Les analyses de descendance et de complémentation montrent que l'insertion d'un ADN-T dans un gène n'induit une altération détectable que dans environ 5 % des cas, la moitié correspondant à des embryons létaux. Trois hypothèses peuvent rendre compte d'une telle absence apparente de phénotype :

1. le gène intervient dans une fonction non indispensable dans les conditions du laboratoire ;
2. la fonction est essentielle, mais il y a redondance de gènes pour cette fonction (de nombreuses familles multigéniques existent chez les plantes, avec un nombre de membres souvent plus élevé que chez les autres organismes modèles) ;
3. la fonction peut être assurée par des voies alternatives grâce aux nombreuses interconnexions du métabolisme.

À cette difficulté d'associer sommairement une modification phénotypique d'ordre physiologique à une simple modification génétique s'ajoute la contribution de phénomènes dits épigénétiques qui contrôlent l'expression des gènes de façon stable au cours des divisions sans modifier leur séquence nucléotidique. Les études pionnières réalisées chez les plantes et les champignons filamenteux ont largement contribué à illustrer la diversité des mécanismes mis en jeu au niveau transcriptionnel, post-transcriptionnel

et au niveau de la protéine. Il est admis que les phénomènes d'inactivation épigénétiques des gènes, révélés par la transgénése, reposent sur des processus de défense développés par les organismes pour maintenir l'intégrité de leur génome face à la présence de séquences d'ADN mobiles et pour combattre les pathogènes viraux. La compréhension des bases génétiques et moléculaires de l'inactivation des gènes et plus généralement de l'ensemble des mécanismes épigénétiques a un intérêt fondamental évident qui est renforcé par le fait que certains de ces mécanismes, comme l'interférence ARN, se sont révélés être des outils performants pour éteindre des gènes d'intérêt. Des équipes françaises travaillant sur les modèles végétaux ou les champignons sont en bonne place dans la compétition internationale dans ce domaine de recherche.

On comprend donc que pour l'avenir, il faut dépasser le cadre conceptuel trop simpliste un gène → une fonction/un mutant → un phénotype. Deux grandes orientations non exclusives peuvent être proposées, qui impliquent une modification des contours de la communauté rassemblée dans la section 27. Tout d'abord, l'analyse des phénotypes devrait bénéficier d'une interaction, quasi inexistante actuellement, avec la section 30. Les outils et concepts développés dans certains laboratoires de cette section seraient très utiles pour aider à raisonner le choix de caractères phénotypiques pertinents, en prenant en compte le cas échéant les phénomènes de compétition, et les effets de sélection sur plusieurs générations. D'autre part, les études d'expression massives (transcriptome, protéome, métabolome) vont permettre une description intégrée et précise des réseaux géniques et métaboliques affectés par le polymorphisme d'un gène donné, ou par la variation d'un facteur de milieu donné. La modélisation est ici indispensable pour comprendre la dynamique de ces systèmes, en identifier les propriétés émergentes, et donc appréhender les aspects moléculaires et biochimiques de la construction des phénotypes. Dans le cadre de l'interdisciplinarité, les programmes

rassemblant mathématiciens et informaticiens d'une part, biologistes d'autre part, autour de ce type d'approche, doivent être encouragés.

3 – MÉTABOLISME ET PHYSIOLOGIE DE L'ORGANISME

Les plantes sont constamment soumises à toutes sortes de stress environnementaux d'origine biotique (agressions par des agents pathogènes) ou abiotique (excès ou défaut de lumière, fluctuations brutales de température, hypoxie, stress hydrique, salinité, etc.). Incapables de se mouvoir, elles ont donc développé, au cours de l'évolution, des stratégies variées pour se défendre et s'adapter à leur environnement changeant, en déclenchant des spectres parfois très complexes de réponses moléculaires, métaboliques et morphogénétiques. Sur le plan du métabolisme, cette adaptation propre aux végétaux terrestres mais aussi aux organismes aquatiques fixés, met en jeu la synthèse de métabolites dits secondaires très diversifiés et souvent de structures complexes, qui sont une véritable mine pour la pharmacopée, la parfumerie, les industries des colorants ou celle des biopesticides. Les végétaux marins et en particulier les algues des lignées brunes et rouges sont à ce titre sous-représentées dans la communauté scientifique internationale. La connaissance accrue de l'ensemble des métabolites formés (ou métabolome), des gènes correspondants et des facteurs de transcription contrôlant leur expression devrait permettre d'envisager un contrôle raisonné de l'usine chimique végétale dans une optique utile à l'homme. La séquence complète du génome d'*Arabidopsis*, et récemment celle du riz, les banques d'ESTs chez de nombreuses espèces cultivées, les analyses de transcriptome et de protéomes, les collections d'écotypes, etc., permettent d'approcher actuel-

lement la fonctionnalité du génome. Mais le premier degré d'intégration biochimique est celui des systèmes métaboliques, et bien des caractères macroscopiques sont directement reliés à des flux ou à des pools métaboliques pas toujours aisés à quantifier. De plus, le taux de métabolites présents dans des voies apparemment indépendantes peut être altéré par des effets pléiotropiques. Pour comprendre de tels effets, une étude détaillée de l'identité et de la quantité des métabolites de la plante impliquée est indispensable. On dispose aujourd'hui d'outils techniques performants pour mesurer ou calculer ces quantités *in planta* : la protéomique quantitative donne accès aux concentrations d'enzymes, l'analyse du métabolome par GC/MS ou RMN (technique non destructrice) permet de déterminer les teneurs en métabolites et cofacteurs, enfin les mesures par RMN des enrichissements en ^{13}C des métabolites d'un système permettent de calculer des valeurs de flux. Ainsi s'ouvrent des perspectives d'analyse et de modélisation des systèmes fondées sur des valeurs de paramètres et de variables ayant une pertinence biologique, et donc des possibilités de prédiction précieuses pour l'ingénierie métabolique.

Les compétences et équipements en France sur le métabolisme végétal se situent dans un contexte qui, au cours des dernières décennies, a surtout privilégié la biologie moléculaire *sensu stricto* au détriment de la biologie végétale. Les forces sur l'analyse du métabolisme secondaire sont très insuffisantes et la France souffre d'une carence d'outils technologiques/analytiques appropriés et performants, librement accessibles aux porteurs de projets novateurs. Un soutien cohérent des organismes de recherche publique aux plate-formes actuellement en émergence devrait remédier à cette carence. L'exploitation des données du métabolisme demandant, par exemple, plus de puissance de calcul que dans le cas du transcriptome, l'interprétation et l'analyse des résultats requièrent en fait les compétences de biologistes mais aussi d'informaticiens, de physiciens et de mathématiciens. La synergie naîtra d'expériences communes auxquelles chacun apportera un éclairage personnel. La réussite d'une telle

opération dépendra de notre capacité à établir une vraie interdisciplinarité qui pourrait être initiée au sein de groupements de recherche (GDRs auxquels seraient alloués de réels moyens financiers et personnels) et devrait s'épanouir dans des structures en réseaux plus vastes associant, par exemple, nos collègues européens.

4 – SYSTÈMES DE TRANSPORTS MEMBRANAIRES ET LEURS RÔLES DANS LA SIGNALISATION

Les protéines membranaires jouent un rôle majeur dans le transport et la signalisation cellulaire, et dans le transport à longue distance entre organes. Elles participent donc à plusieurs aspects majeurs de la physiologie de la plante : nutrition, morphogenèse, détoxification, réponses à l'environnement et résistance aux stress. L'importance du domaine au plan international, et les progrès rapides qui y sont accomplis, sont illustrés par le volume spécial que lui a consacré la revue *Biochimica Biophysica Acta* en 2000, ou les nombreux articles de synthèse publiés régulièrement dans *Trends in Plant Sciences*. Le transport et la signalisation mobilisent une partie importante des efforts de recherche dans le domaine végétal en France et constituent l'un de ses points forts.

En particulier, la caractérisation fonctionnelle de transporteurs et de canaux est bien développée, par des complémentarités d'approches d'expression dans des systèmes hétérologues, d'électrophysiologie, de génétique réverse, et de localisation des territoires d'expression *in planta*. Ce champ constitue l'activité principale de plusieurs équipes de recherche françaises dont la notoriété internationale est solidement établie. Un problème essentiel non résolu de ce champ concerne

la compréhension du rôle physiologique de chacune des protéines étudiées, en termes de transport et de signalisation à courte (cellule) et à longue (organes) distance, en réponse à des signaux de développement ou des contraintes biotiques ou abiotiques. Cette compréhension se heurte au caractère multi-génique des familles de protéines impliquées, et aux approches essentiellement cellulaires développées jusqu'alors. Le séquençage et l'analyse du génome d'*Arabidopsis* doivent impérativement s'accompagner de la caractérisation fonctionnelle des transporteurs, dont nombre sont encore orphelins. Les transporteurs les mieux connus sont les transporteurs d'influx de la membrane plasmique, pour lesquels des tests fonctionnels existent. Les transporteurs des endomembranes et les transporteurs d'efflux ne bénéficient pas encore de ces approches. De ce point de vue, la réalisation de protéomes hydrophobes sub-cellulaires constituera un élément de développement important. La localisation subcellulaire de ces protéines membranaires par diverses approches de biologie cellulaire (étiquetage de protéines, immunolocalisation, etc.) constitue aussi un enjeu fondamental insuffisamment développé pour l'instant. D'autre part, l'originalité de certains de ces systèmes mériterait qu'ils soient utilisés dans des études de structure/fonction impliquant *de facto* des biologistes structuraux.

Dans le domaine des aspects membranaires de la signalisation, des équipes françaises sont reconnues au niveau international pour la caractérisation de récepteurs, impliqués en particulier dans les réponses aux pathogènes et les réactions de compatibilité/incompatibilité pollen/stigmate. La caractérisation de ligands et l'élucidation du mode d'activation de ces récepteurs constituent des enjeux importants pour le futur. Toutefois, au-delà de ces aspects classiques de l'étude du rôle de certaines protéines membranaires dans la perception de signaux, il conviendrait d'aborder les rôles biologiques que certains canaux et transporteurs pourraient jouer dans des processus signalétiques de réponses aux stress biotiques et abiotiques d'une part, et des programmes de développement d'autre part. Cela nécessiterait l'intégration des études

fonctionnelles actuelles chez des modèles biologiques appropriés, et le développement d'approches génétiques focalisées pour replacer ces activités de transport dans le contexte de la signalisation. La structuration dans un cadre plus formel (GDR) de la communauté nationale impliquée dans ces recherches favoriserait cette démarche. Ces futures orientations permettraient, en particulier, une meilleure intégration des études entre transport et signalisation « longue distance », couplage à la base de nombreuses réponses adaptatives et de développement chez les plantes.

5 - INTERACTIONS ENTRE PLANTES ET MICROORGANISMES PATHOGÈNES OU SYMBIOTES : DÉCODAGE D'UN DIALOGUE MOLÉCULAIRE COMPLEXE

Dans la nature, les plantes établissent des interactions plus ou moins étroites, pathogènes ou symbiotiques, avec une large variété de microorganismes procaryotes et eucaryotes. Tenter de comprendre les mécanismes complexes qui sous-tendent l'établissement de ces interactions nécessite d'identifier les échanges moléculaires entre les deux partenaires. Parmi ceux-ci, ceux qui déterminent l'issue de l'interaction (déterminants du pouvoir pathogène, récepteurs de l'hôte, éléments des voies de transduction) ont un intérêt primordial. Au cours des dernières années, des percées significatives ont été réalisées sur ces questions.

En ce qui concerne le partenaire microbien pathogène, les nombreux outils issus de la génétique moléculaire et la mise au point de pathosystèmes modèles, ont permis de faire progresser les connaissances des mécanismes

de pathogénèse. Le pouvoir pathogène des bactéries dépend notamment de leur capacité à injecter des protéines effectrices dans la cellule végétale. Ces protéines interfèrent avec les processus métaboliques de l'hôte et en particulier avec ses systèmes de défense. Le séquençage du génome complet de *Ralstonia solanacearum* réalisé en France ainsi que le séquençage en cours d'autres espèces phytopathogènes a révélé un nombre important (50-100) de ces effecteurs pour chaque souche. Les recherches à venir s'orientent donc très fortement vers la recherche des cibles moléculaires végétales des effecteurs clefs et sur le décryptage de leur mode d'action. De par leur diversité (mode de vie, stratégies d'infection) et leur complexité, les recherches sur les champignons pathogènes ont progressé moins rapidement ; cependant les approches de mutagenèse insertionnelle développées récemment sur quelques modèles, commencent à apporter des données sur le pouvoir pathogène de ces organismes. Aucune séquence complète d'un génome de champignon pathogène n'est à l'heure actuelle disponible, seules des données partielles (ESTs, extrémités de BACs) sont accessibles. Le séquençage probable du génome de *Botrytis cinerea* en France, et des initiatives équivalentes en cours à l'étranger sur d'autres génomes favoriseront le développement d'approches globales de type transcriptome, et donc la connaissance des fonctions de pathogénie.

Les dernières années ont été très fécondes dans l'identification des acteurs clés de la réponse de la plante aux agressions pathogènes, tant en ce qui concerne la perception de l'agent pathogène (clonage de nombreux gènes de résistance), la transduction des signaux issus de cette étape de reconnaissance, que les réponses de défense de la plante. Au-delà de l'identification de gènes de résistance spécifiques et dominants appartenant à un nombre de famille de protéines restreint, des gènes de résistance récessifs codant des protéines de structure originale ont récemment été caractérisés. L'effort a également porté sur le décryptage des voies de signalisation, aboutissant par des approches génétiques à

l'identification de composants clés définissant différentes voies fonctionnant en parallèle, en synergie ou en opposition. La mise à disposition de la communauté scientifique, de la séquence du génome d'*Arabidopsis thaliana* (et bientôt de celle du riz), permet dès à présent de développer des approches globales d'analyse des changements transcriptionnels au cours de l'interaction, donnant non seulement accès à de nouveaux gènes, mais également un moyen supplémentaire d'analyse des voies complexes de signalisation. En ce qui concerne les mécanismes de défense de la plante, la Réponse d'Hypersensibilité (HR), l'une des manifestations les plus spectaculaires de la résistance, fait l'objet de travaux de plus en plus nombreux, cette réponse étant un exemple de mort cellulaire programmée, processus encore largement inconnu chez les végétaux. Enfin, l'étude des mécanismes de sensibilité chez la plante visant à l'identification de cibles végétales de facteurs de virulence de l'agent microbien, est en cours d'émergence, en particulier dans le contexte d'interaction avec des nématodes. Il est clair que ce domaine de recherche sur la réponse des plantes aux bioagresseurs, extrêmement compétitif au plan international, bénéficie de moyens humains réduits en France, les recherches s'étant traditionnellement concentrées sur le partenaire microbien jusqu'à ces dernières années.

Dans le cas particulier des virus phytopathogènes, l'étude de fonctions tout à fait spécifiques telles, la réplication, les transports intra-cellulaires, le mouvement de cellule-à-cellule au travers des plasmodesmes, le mouvement systémique *via* le système vasculaire ou la transmission inter-hôtes par vecteur, sont des domaines très actifs, et ce malgré des effectifs réduits en France et en particulier au CNRS. Cependant, si les déterminants viraux impliqués dans ces fonctions sont bien étudiés, les partenaires cellulaires restent peu connus et représentent l'un des aspects porteurs de cette discipline. Quelques jeunes équipes du CNRS se sont engagées avec dynamisme dans cette voie et il conviendrait de leur apporter rapidement un soutien spécifique. Un domaine en émergence et très compétitif est représenté par l'étude des phénomènes de

Post-Transcriptional Gene Silencing (PTGS) qui gouverne la destruction totale d'ARNm ciblés. Le PTGS agit comme un système antiviral chez les plantes et est similaire sinon identique à l'«*interférence ARN*» décrit chez les animaux. Quelques aspects spécifiques du PTGS chez les plantes, comme par exemple sa signalisation systémique sous forme de petites molécules d'ARN, en font un domaine hautement innovant et extrêmement compétitif dans lequel le CNRS doit se positionner très rapidement. L'évolution des virus, champ de recherche plus intégratif et émergent, est un aspect beaucoup trop faiblement représenté dans le secteur végétal en France.

Enfin, l'association symbiotique Rhizobium/légumineuse, en plus d'être un modèle d'étude de l'organogenèse végétale (le nodule fixateur d'azote) fournit un exemple unique d'un dialogue moléculaire spécifique et réciproque aboutissant à la reconnaissance des deux partenaires et à l'infection contrôlée des tissus végétaux. Après l'identification des signaux (facteurs Nod) provenant de Rhizobium, les efforts se sont concentrés sur leur perception et l'étude des voies de transduction de ces signaux. Plusieurs mutants végétaux impliqués dans la signalisation Nod ont été caractérisés, et le clonage des gènes correspondants est en cours. *Medicago truncatula*, nouveau modèle végétal développé grâce à la combinaison des efforts européens et américains, permet déjà le développement d'outils génomiques, essentiels à la compréhension de ces interactions. Côté microbe, le génome de *Rhizobium meliloti*, partenaire de *M. truncatula* a été entièrement séquencé. Par ailleurs, la symbiose mycorhizienne, qui représente l'association plante-champignon la plus répandue et la plus ancienne du monde végétal, bénéficie depuis peu d'un intérêt croissant, des outils moléculaires et génomiques étant en cours de développement. Les algues marines fournissent également des exemples d'interactions qui apportent un éclairage évolutif sur les mécanismes d'immunité innée des eucaryotes. Au-delà des aspects métaboliques, les bases génétiques de ces interactions doivent être mieux comprises et leur élucidation pourra

s'appuyer sur les développements récents de la génomique sur ces modèles.

6 – REPRODUCTION ET DÉVELOPPEMENT

- La reproduction sexuée des plantes à fleurs qui permet la transformation de l'ovule en graine et de l'ovaire en fruit et la reproduction asexuée par multiplication végétative ou clonage revêtent une importance économique considérable et mettent en jeu des mécanismes originaux. Par exemple, dans le cas des plantes présentant une auto-incompatibilité pollinique, la pollinisation fonctionne en sens inverse du système immunitaire des animaux. En effet, elle permet une reconnaissance et un rejet du soi (l'autopollen), en privilégiant l'acceptation du non soi (l'allopollen). La famille multigénique S a joué un rôle clef dans l'évolution des plantes à fleurs, comme le complexe majeur d'histocompatibilité a pu le faire chez les mammifères. Par ailleurs, la reproduction sexuée implique chez les plantes une double fécondation, dont l'analyse cellulaire et moléculaire a bénéficié de la mise au point de modèles *in vitro* capables de mimer la fécondation *in planta*. Enfin, la totipotence des cellules végétales, qui permet le bouturage, illustre une autre différence fondamentale par rapport aux animaux.

Le développement végétal se fait à partir de cellules à caractère embryonnaire, ou cellules méristématiques, qui constituent un peu l'analogue des cellules-souches des animaux. Reproduction et développement sont contrôlés par des signaux agissant sur les divisions cellulaires, les changements de forme des cellules et leur sénescence. Les analyses génétiques réalisées depuis le début des années 1990 chez diverses espèces, notamment *Arabidopsis*, ont conduit à un modèle multifactoriel impliquant des gènes constitutifs et des gènes inducibles par des facteurs physiques externes, ou des signaux internes comme le saccharose

et certaines phytohormones. Ce domaine de recherches est largement sous-développé en France malgré les enjeux économiques et scientifiques qu'il sous-tend.

- L'étude de mutants affectés dans la fécondation et les tout premiers stades de l'embryogenèse ont permis d'élucider quelques aspects importants, notamment l'acquisition de la polarité de l'embryon principal et des axes apico-basal et dorso-ventral, et la mise en place des méristèmes apical ou racinaire. L'étude fonctionnelle des méristèmes responsables de l'architecture des plantes constitue un autre enjeu important. Les travaux remarquables sur la mise en place des organes latéraux et des feuilles ont conduit à la mise en évidence de nouveaux gènes, certains à homéoboîte, d'autres de type facteurs de transcription. On peut aussi mentionner les travaux portant sur la mise en place des vaisseaux, support physique à la circulation des sèves, et ceux qui ont trait à la dissémination de graines à partir des siliques, des pollens à partir des anthères, etc. Le champ d'investigation est très large et les exemples rapportés ici ne constituent qu'un petit échantillon des travaux réalisés ou en cours. La nécessité de pousser les équipes françaises, trop peu nombreuses dans ce domaine par rapport aux pays comparables, à orienter leurs recherches en biologie et physiologie du développement commence seulement à être prise en compte par les tutelles avec la création d'une Action concertée incitative (ACI).

Des approches spécifiques à la biologie cellulaire et à la physiologie végétale complètent la dimension très intégrative des recherches en cours. Une dimension importante recouvre la perception des signaux externes et les échanges de signaux internes, qui induisent des cascades de signalisation ayant des répercussions profondes sur le développement. La compréhension de la perception des températures basses qui sont souvent nécessaires à la floraison et/ou à la germination n'a pas notablement progressé au cours des dernières années. Au contraire, l'étude de nombreux mutants morphogénétiques a permis de progresser dans la connaissance des mécanismes de perception et de transduction du signal lumineux dont

les plantes perçoivent l'intensité, le spectre, la qualité, la périodicité et l'orientation. Au niveau des signaux internes, l'étude de la perception et la transduction des signaux hormonaux est la plus avancée. De nombreux acteurs des voies de transduction ont été identifiés comme les protéines G trimériques, les variations de concentration cytosolique et nucléaire en calcium et de nombreuses phosphatases et kinases. Cet aspect de la signalisation cellulaire, en pleine expansion, bénéficie aussi des données issues de la génétique, *via* l'obtention de mutants spécifiques et de la génomique. Le défi essentiel, dans ce domaine, au-delà de l'identification des molécules impliquées dans une voie de signalisation, concerne la séquence des événements et leur spécificité, vis-à-vis d'un signal donné et d'une réponse précise. Enfin, l'identification des facteurs de transcription concernés dans l'expression des gènes-cibles est nécessaire pour accéder à l'ensemble des événements induits par une phytohormone. Les mécanismes d'intégration des fonctions nutritives au niveau de la plante entière, et le transport à longue distance (xylème, phloème) ou à courte distance (plasmodesmes) de macromolécules informationnelles sont des domaines encore peu étudiés et compris.

7 – EN CONCLUSION

Dans le rapport de conjoncture précédent, la section 27 avait insisté sur les développements rapides et remarquables de l'approche génétique dans les recherches en biologie végétale. Ces développements ont produit une profonde restructuration de la communauté scientifique concernée au cours des 15 dernières années, générant de nouveaux champs de recherche et suscitant l'utilisation massive de la plante modèle *Arabidopsis*. Dans la période la plus récente, notre communauté a été confrontée, comme toute les autres communautés de recherche en biologie, à la transition Génétique-Génomique. Celle-ci s'est

passée dans de bonnes conditions du fait de la forte implication de quelques équipes françaises dans les programmes internationaux d'investigations du génome d'*Arabidopsis*.

Le décrochement de l'effort européen vis-à-vis de l'effort américain dans ce domaine grèverait à court terme l'investissement consenti par les équipes françaises. Le cœur de cet effort doit donc être maintenu, non seulement chez *Arabidopsis* mais chez le Riz, premier génome de monocotylédone à être séquencé, et chez *Medicago truncatula*, modèle d'étude des interactions symbiotiques.

Mais une exploitation optimale de la connaissance « brute » déposée dans les banques de données et des outils d'analyse systématique (transcriptome, protéome, métabolome) requiert un affinement de nos critères d'analyse des phénotypes à l'échelle de la plante entière. La génomique fonctionnelle

est particulièrement appropriée pour l'étude de la transduction de signaux, mais elle doit rester fortement ancrée dans des approches génétiques pour forger les outils d'une compréhension des interactions entre la plante et son environnement, incluant les réactions aux stress biotiques et abiotiques. À ce titre, le développement naturel des recherches conduites par les équipes dépendant de la section 27 les rapproche de celles ancrées dans l'écologie végétale et la microbiologie, en particulier la microbiologie du sol. S'agissant d'une redéfinition des contours des sections, il serait souhaitable que le développement de la génomique fonctionnelle favorise un regroupement de certaines équipes actuellement dispersées entre les sections 23, 24, 27 et 30 dans une nouvelle section qui incarne les études génétiques et physiologiques intégrées des plantes et microorganismes associés.

ANNEXE

LA BIOLOGIE VÉGÉTALE ENTRE DÉLÉGITIMISATION POLITIQUE ET CARENCE DE FORMATION SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE

La recherche en biologie végétale ne constitue pas une activité scientifique à part, et de ce fait est soumise aux mêmes relations avec la société que toutes les autres sciences. Toutefois certaines spécificités méritent d'être soulignées et devraient être prise en compte dans la gestion de ces relations.

Tout d'abord la taille de la communauté scientifique impliquée dans les recherches de cette discipline est modeste par rapport à ce que l'on observe dans d'autres grands pays industrialisés comme l'Allemagne, le Japon et les États Unis. Une telle taille génère une certaine fragilité. De

plus, cette communauté a la particularité d'être intégrée dans un partenariat fort entre le CNRS, l'INRA, le CIRAD, l'IRD et certains établissements d'enseignement supérieurs. La synergie logiquement attendue de telles associations pourrait être encore plus importante si l'on renforçait la concertation entre les différents partenaires, dont chacun devrait affirmer l'importance de la conduite de recherches génériques en biologie végétale.

À la base de la chaîne alimentaire de l'ensemble du monde animal, les organismes chlorophylliens ont une importance agro-économique considérable. Sur le plan écologique, les multiples relations qu'ils entretiennent avec les autres espèces en font l'élément central de la biodiversité. Les plantes génétiquement modifiées sont un exemple emblématique des enjeux majeurs qui pèsent sur la biologie végétale, et qui soulèvent des interrogations du point de vue culturel, en raison de leur utilisation dans l'alimentation et de leur incidence éventuelle sur l'environnement. Ces questions brouillent la perception sociale de l'activité scientifique proprement dite. L'existence

d'un débat citoyen sur l'utilisation des OGM dans l'agriculture et l'alimentation est légitime mais force est de constater que ce débat a pour conséquence indirecte de créer la confusion entre les sciences végétales, les biotechnologies et les plantes transgéniques à usage agronomique qui n'en sont qu'une application particulière.

Ces particularités nous conduisent à suggérer plusieurs types d'actions pour que l'activité scientifique en général, et les recherches en biologie végétale en particulier, fassent l'objet d'une connaissance, voire d'une re-connaissance, de la part de la société. Le premier niveau est politique. Les parlementaires de notre pays sont coupés de la réalité du monde scientifique et ceci est inquiétant dans une démocratie. Les liens entre les scientifiques et les élus devraient être renforcés, à un niveau moins institutionnel, plus opérationnel, qu'aujourd'hui. Par exemple une réunion entre la Conférence des Présidents du Comité National et les parlementaires de l'Office des Choix Scientifiques et Techniques pourrait déboucher sur la participation de certains parlementaires à des réunions d'information avec les sections du Comité National.

Cette « réconciliation » des élus avec le milieu scientifique ne doit pas occulter la responsabilité des scientifiques dans le rôle qu'ils ont à jouer dans la diffusion de l'information scientifique. Dans le domaine des biotechnologies, toutes les initiatives des chercheurs à travers des supports comme les École de l'ADN ou les ateliers et les conférences-débats des Centres de Culture Scientifique Technique et Industrielle sont à encourager et à soutenir. Sur le long terme cette information ne saurait remplacer une réelle formation, par l'école, à la méthode scientifique, appliquée aux sciences biologiques en particulier. En ce qui concerne la Biologie Végétale, il nous semble important de mettre l'accent sur le problème que pose, à terme, la disparition progressive de l'étude des végétaux dans l'enseignement, du collège jusqu'à l'université. En biologie, l'enseignement est largement dominé par les modèles animaux, ce qui pose un problème important pour la société, en particulier pour l'éducation du citoyen appelé à être acteur dans des décisions portant sur les conséquences des recherches dans le domaine végétal. Dans ce contexte, il serait essentiel de :

– (i) repenser la formation initiale et continue de l'ensemble des enseignants. La plupart des enseignants du primaire n'ont pas reçu, aujourd'hui, la formation minimale concernant le monde végétal et l'enseignement dispensé ne répond pas aux attentes de formation des futurs citoyens. Pour les enseignants du secondaire, beaucoup sont restés avec les connaissances acquises lors de leur recrutement, modulées par quelques ajustements liés à de nouvelles publications de programmes ou à quelques stages, rares, de formation continue. L'enseignement de la Biologie Végétale reste souvent très descriptif, le plus souvent basé sur des manuels anciens et partiellement obsolètes ;

– (ii) repenser la formation initiale des chercheurs. Les étudiants qui arrivent dans nos laboratoires possèdent le plus souvent une formation trop spécialisée. Un déséquilibre excessif existe en faveur de la biologie et de la génétique moléculaire, au détriment de la biochimie, de la biologie cellulaire et de la physiologie (sans parler de la chimie ou de la biophysique), alors que la biologie cellulaire végétale moderne nécessite une vision intégrée des différentes disciplines ;

– (iii) réfléchir à la mise sur pied de modalités plus attractives pour réaliser des thèses ou des séjours post-doctoraux dans ce champ disciplinaire. La réduction progressive de l'intérêt des jeunes, liée à la place faite à la biologie végétale dans les programmes d'une part, à la sur-médiatisation des OGMs et à une présentation très négative des recherches en génomique végétale d'autre part, provoque une réduction des flux d'étudiants dans les laboratoires. Ce phénomène déjà sensible dans les pays de l'Union Européenne se traduit par la difficulté de plus en plus grande à recruter des jeunes de qualité. Il faudrait sans nul doute revaloriser les rémunérations et raccourcir la durée des thèses en s'alignant sur les pays les plus performants de l'Union européenne ;

– (iv) repenser le découpage des sections au CNRS, par exemple en fédérant études des micro-organismes et des plantes et en regroupant les approches moléculaires de la section 27 et celles plus globales des écophysiologistes et des généticiens des populations de la section 30.

