# CINQUIEME CONFERENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES

# FIFTH INTERNATIONAL CONFERENCE ON PLANT DISEASES

**TOME I**

**3-4-5 DECEMBRE 1997**

**TOURS**

**Centre International de Congrès - VINCI**

**ANPP - 6, Boulevard de la Bastille - 75012 PARIS - Tél. 01 43 44 89 64 - Fax 01 43 44 29 19**

Rapilly F., Auriau P., Laborie Y., Depatureaux C., 1984. Recherches sur la résistance partielle du blé à *Septoria nodorum*. *Agronomie*, 4, 639-651.

Robinson R.A., 1976. *Plant pathosystems*. Ed. Springer Verlag, New-York, 148 p.

Skaner G., Stromberg E.L., Lacy G., Barker K.R., Pirone T.P., 1992. Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. *Annu.Rev.Phytopathol.*, 30, 47-66.

Simmonds N.W., 1992. Genetics of horizontal resistance to diseases of crops. Biol.Rev., 66, 189-241

Stackmann E.C., Levine M.U., 1922. The determination of biologic forms of *Puccinia graminis* on *Triticum* sp. *Minn.agric.Exp.Stn.,Tech.Bull.*, 8

Van der Plank J.E., 1968. *Disease resistance in plants*. Acad Press, New-York, 216 p.

de Vilmorin H.L.L., 1925. Notes sur quelques variétés de pommes de terre résistantes à la galle verruqueuse. *J.Agric.prat.*, 44, 453-454 et 475-478.

Viranyi F., Gulya J., 1995. Inter isolate for virulence in *Plasmopora halstedii* (sunflower downy mildew) from Hungary. *Plant Pathol.*, 44, 619-624.

de Witt P.J.G.M., 1992. Molecular characterization of gene for gene systems in plant fungus interactions and the application of a virulence genes in control of plant pathogens. *Annu.Rev.Phytopathol.*, 30, 391-418

Wolfe M.S., 1978. Some practical implications of the use of cereal variety mixtures. *In Plant Diseases Epidemiology*, Eds Scott P.R. et Bainbridge A., Blackwell Scientific Publications, p.201-207.

Wolfe M.S., 1985. The current status and prospects of multiline cultivars and variety mixtures for disease resistance. *Annu Rev.Phytopathol.*, 23, 251-273.

Wolfe M.S., 1988. The use of variety mixtures to control diseases and stabilize yield. *In : Breeding strategies for resistance to the rusts of wheat*. Ed. CIMMYT, p.91-100

Wolfe M.S., Dermott J.M., 1994. Populations genetics of plant pathogen interactions: the exemple of the *Erysiphe graminis - Hordeum vulgare* pathosystem. *Annu.Rev.Phytopathol.*, 32, 89-113.



**ANPP - 5° CONFERENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES**
**TOURS - 3-4-5 DECEMBRE 1997**

# PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES GENES DE RESISTANCE AUX MALADIES CHEZ LES PLANTES ET POTENTIALITES D'UTILISATION EN SELECTION

V. GEFFROY (1.2) et M. DRON (1.3)

1. LPPM, IBP, U P. Sud, 91405 ORSAY/ 2. Station INRA - Amélioration des plantes 80 Estrées - MONS / 3. CIRAD, 42, rue Scheffer 75116 PARIS

RESUME :
La majorité des gènes de résistance clonés appartiennent à une grande famille de gènes codant pour des protéines présentant des motifs répétés riches en leucine. Les mêmes familles de gènes ont été identifiées chez des angiospermes très éloignées phylogenètiquement. Elles déterminent des spécificités de résistance contre des virus, des bactéries, des champignons voire des nématodes. Des mécanismes de duplication, mutation et recombinaison génétique semblent être les éléments majeurs de l'évolution du répertoire des gènes de résistance. Des expériences réalisées *in vitro* ont permis de démontrer que le produit d'un gène de résistance pouvait interagir directement avec le produit du gène d'avirulence de l'agent pathogène et que cette interaction constituait le facteur déclenchant de l'expression des gènes de défense de la plante conduisant à la résistance. De nombreuses applications à la sélection variétale apparaissent d'ores et déjà.

Mots clés : résistance, LRR, gènes, sélection, recombinaison.

SUMMARY : **PRINCIPAL CHARACTERISTICS OF PLANT DISEASE RESISTANCE GENES AND POTENTIAL USES IN PLANT BREEDING.**
Most of the recently cloned resistance genes belong to a large gene family encoding protein with Leucin rich repeats (LRR). Members of this gene family have been demonstrated to occur in a wide variety of angiosperms. They determine differential specificities towards virus, bacteria, fungi as well as nematodes. Duplication, spontaneous mutations and mechanisms of recombination appear to be the most important basis for resistance gene evolution and the development of a resistance "repertoire" in plants. *In vitro* experiments have allowed to demonstrate that direct interaction between avirulence and resistance gene products is real and might be the causal switch of the plant resistance reaction. A number of applications of these data to plant breeding for disease resistance are already being developed.

Key Words : resistance, LRR, genes, breeding, recombination.

**Clonage des gènes de résistance spécifique.**

L'isolement des gènes de résistance n'a été rendu possible que récemment grâce à l'utilisation de techniques de génétique moléculaire permettant l'identification de gènes dont la fonction et la structure ne sont pas connues. Les stratégies de clonage positionnel (par marche chromosomique) ou d'étiquetage avec un élément transposable se sont avérées fructueuses (Tableau I).

**1. Différentes classes de gènes de résistance.**

Le premier gène de résistance cloné, suivant le modèle de Flor, est le gène *Pto* de la tomate (résistance à P. *syringae pv. tomato* ayant le gène d'avirulence *avrPto* (MARTIN et coll. 1993). La protéine déduite de *Pto* présente des similarités avec des protéines ayant une activité sérine-thréonine protéine kinase (MARTIN et coll. 1993).

Depuis 1993, la liste des gènes de résistance clonés augmente (Tableau I), et le résultat le plus spectaculaire issu de ces travaux est la similitude de leur structure, en dépit de leur diversité d'origine (tomate, lin, riz, tabac, arabidopsis, betterave sucrière) et de la grande différence entre les agents pathogènes vis-à-vis desquels ils confèrent la résistance (champignon, virus, bactéries et nématodes). Ainsi, les gènes *Cf-9, Cf-2* et *I2C* de la tomate, *RP52* et *RPM1* de la plante modèle *Arabidopsis thaliana,* N du tabac, *M* et L6 du lin, *Xa21* du riz, *Hs1P°-1* de la betterave sucrière codent tous pour des produits qui contiennent des répétitions riches en leucine (LRR pour Leucine Reach Repeat) (Figure I.1). Cette similitude suggère une très grande conservation, au niveau du règne végétal, des mécanismes générant la résistance spécifique.

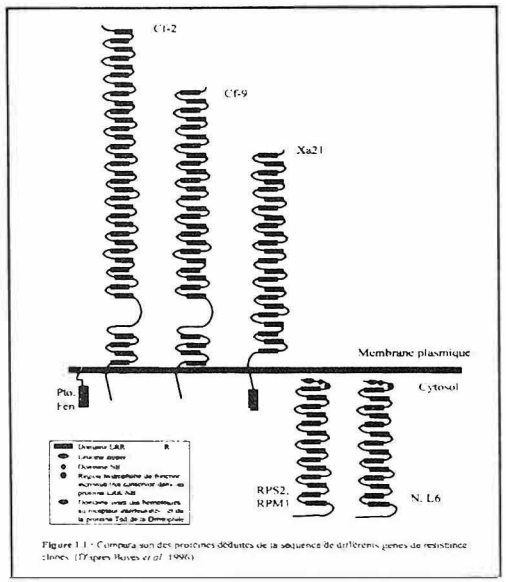


Figure I.1 : Comparaison des protéines déduites de la séquence de différents gènes de résistance clonés. (D'après Boyes *et al.* 1996).



Les gènes de résistance peuvent être classés en différentes catégories suivant la présence ou non de certains domaines conservés (BOYES et coll. 1996).

**1.1. Les sérines thréonines protéines kinases.**

Pto est actuellement le seul membre publié de cette catégorie. L'activité sérine thréonine protéine kinase de Pto a été confirmée *in vitro* (LOH, 1995). Les protéines kinases catalysent des réactions de phosphorylation et sont connues pour intervenir dans des cascades de signalisation cellulaire, permettant aux organismes de s'adapter rapidement à diverses contraintes dont celles imposées par le milieu extérieur (lumière, eau, température).

**1.2. Les protéines contenant un motif LRR.**

Les LRR sont des répétitions d'un motif de base constitué de 24 acides aminés (en moyenne), comprenant des leucines (ou d'autres résidus hydrophobes) distribuées de façon régulière. Les domaines LRR sont connus pour intervenir dans les interactions protéine/protéine (KOBE et Deisenhafer, 1994) et, en particulier, dans les liaisons ligand-récepteur chez les mammifères et la levure (telle que la liaison d'une hormone à un récepteur transmembranaire). Le parallèle avec le modèle éliciteur/récepteur (GABRIEL et ROLFE, 1990) est immédiat. La majorité des gènes de résistance clonés à ce jour appartiennent à cette famille. Celle-ci peut être subdivisée en sous-groupes lorsque l'ensemble des motifs conservés est pris en compte.

**1.2.1. Nucléotide Binding Site (NBS).**

En plus du domaine conservé LRR, les gènes de résistance N du tabac (WHITHAM et coll. 1994), L6 [LAWRENCE, 1995] *M* du lin, et *I2C* de la tomate [ORI, 1997] possèdent un site de fixation pour les nucléotides triphosphates ATP et GTP (site NBS, pour Nucléotide Binding Site). Ces NBS interviennent dans des réactions énergétiques cellulaires.

Tableau *1*. Gènes de résistance clonés.

| Gene de resistance | Plante | Agent pathogène | Gène d' avirulence | Structure1 | Localisation3 | Références |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Hnl* | Mais | *Cochliabolus carbonum* race 1 | aucun | Toxine réductase | | [Johal, 1992] |
| *Pto* | Tomate | *Pseudomonas syringae pv. tomato* | avrPto | Protéine kinase | intracellulaire | [Martin, 1993] |
| *Xa21* | Riz | *Xanthomonas campestri pv. oryzae* | inconnu | LRR, protéine kinase | | [Song, 1995] |
| *RPS2* | Arabidopsis | *P. syringae pv. tomato* | avrRpt2 | LRR, NBS, LZ | intracellulaire | [Bent, 1994] [Mindrinos,199] |
| *RPM1* | Arabidopsis | *P. syringae pv. maculicola* | avrRpml, avrB | LRR, NBS, LZ | intracellulaire | [Boyes, 1996] |
| *Prf* | Tomate | *P. syringae* pv. *tomato* | avrPto | LRR, NBS, LZ | intracellulaire | [Salmeron, 1996] |
| N | Tabac | Tobaccomosaic virus | TMV *replicase?* | LRR,NBS,TIR | intracellulaire | [Whitham, 1994] |
| L6 | Lin | *Melampsora lini* | AL6 | LRR, NBS, TIR | intracellulaire | [Lawrence, 1995] |
| *M* | Lin | *Melampsora lini* | AM | LRR, NBS, TIR | intracellulaire | [Anderson, 1997] |
| *RPP5* | Arabidopsis | *Peronospora parasitica* | avrPp5 | LRR,NBS,TIR | intracellulaire | Parker et al. (1996) |
| I2 | Tomate | *Fusarium oxysportum* | inconnu | LRR, NBS | intracellulaire | [Ori, 1997] |
| *Cf-9* | Tomate | *Cladosporium fulvum* | Avr9 | LRR | extracellulaire | [Jones, 1994] |
| *Cf-2* | Tomate | *C. fulvum* | Avr2 | LRR | extracellulaire | [Dixon, 1996] |
| *Hs1Pro-1* | Betterave | *Heteroderachachtii* | inconnu | LRR | extracellulaire | [Cai, 1997] |
| *Mlo* | Blé | *Erysiphe graminisf sp. hordei* | inconnu? | pas d'homologie | | [Buschges, 1997] |

1 La structure se réfère aux motifs protéiques connus apparaissant dans la séquence d'acides aminés déduite des gènes de resistance. Leucine-rich repeat (LRR), Nucleotide Binding Site (NBS), Leucine Zipper (LZ), Toll-Interleukin-1 receptor (TIR).
2 CP Clonage positionnel. T: Transposon tagging MS: mutants spontanés.

### 1.2.2. Nucléotide Binding Site etLeucine Zipper (LZ).

La présence d'un motif Leucine Zipper (LZ) est observée chez les gènes RPS2 et *RPM1* d'arabidopsis thaliana [BENT et coll.1994 ; MINDRINOS et coll. 1994 ; BOYES et coll. 1996], en plus des motifs LRR et NBS. Ce motif LZ est connu pour avoir un rôle dans l'homo- ou hétérodimérisation des protéines.

### 1.2.3. LRR extra cellulaire.

Les gènes *Cf-9* et *Cf-2* de tomate [JONES et coll.1994 ; DIXON et coll.1996] codent pour des protéines très semblables. Ces produits présentent, d'après les données de séquence, des LRR extracellulaires, un domaine transmembranaire et une courte région cytoplasmique. Un gène de résistance à un nématode *(Heterodera schachtli)* isolé chez la betterave sucrière appartient également à cette catégorie [CAI et coll.1997].



### 1.3. Les récepteurs kinases transmembranaire.

La dernière classe de gènes de résistance identifiée renforce l'idée d'une forte relation entre les gènes de résistance codant pour des protéines LRR et ceux codant pour des protéines kinases. Dans cette troisième classe de gènes les deux domaines LRR et kinases sont codés par la même protéine. Le gène de résistance *Xa21* du riz conférant une résistance contre la race 6 de la bactérie *Xanthomonas oryzae pv oryzue* [SONG et coll. 1995] est le seul membre de cette classe identifié à ce jour. Un domaine LM extra-cellulaire, une région transmembranaire et un domaine kinase cytoplasmique ont été identifiés dans la protéine Xa21. Par conséquent, cette molécule semble posséder une double fonction de reconnaissance (par les LRR extra-cellulaires) et d'activation d'un signal de défense intracellulaire (par le domaine kinase). Le domaine extra-cellulaire de Xa21 présente 54,9% de similarité avec Cf-9, et son domaine kinase 56,5% de similarité avec Pto.

## 2. Homologie des produits des gènes de résistance avec d'autres protéines.

Les domaines kinase de Pto et de Xa21 présentent de fortes homologies avec les S-Recepteur Kinase (SRK; [NASRALLAH et coll. 1994]) des *Brassica*. Les protéines SRK sont impliquées dans les mécanismes d'incompatibilité pollinique chez les *Brassica*. La similarité fonctionnelle entre ces protéines est intéressante dans la mesure ou elles sont toutes impliquées dans des mécanismes de reconnaissance cellulaire spécifique. Ce parallèle entre incompatibilité et interaction plante/pathogène avait été souligné par (PRYOR et ELLIS, 1993) avant même que *Pto* ne soit identifié.

Les LRR issues des gènes *Cf-9* et *Cf-2* présentent de très fortes homologies avec celles des inhibiteurs de pectinases fongiques, les PGIP (inhibiteurs protéiques de polygalacturonase; (DE LORENZO et coll. 1994). Les PGIP sont des protéines qui inhibent les polygalacturonases fongiques.

Les gènes N et *L6* possèdent une homologie partielle avec les récepteurs d'interleukine et le récepteur Toll de la drosophile. Ceci suggèrerait une parenté fonctionnelle entre la voie de transduction de ces résistances chez les plantes et des voies existant chez les animaux [WHITHAM et coll. 1994].

Les résultats des travaux récents apportent une information moléculaire considérable. Néanmoins, le phytopathologiste attend de cette caractérisation la réponse à un certains nombre de questions, notamment:

- qu'en est-il des bases moléculaires de la discrimination entre les races d'un agent pathogène ?

- quels sont les médiateurs de l'activation transcriptionnelle des gènes de défense?

Pour certains gènes, tel *Pto* codant pour une ST kinase, la fonction de transmission d'un signal est évidente, par contre sa fonction de reconnaissance spécifique l'est moins. Pour d'autres, tels les gènes *Cf* de tomate, la fonction de reconnaissance pourrait être définie par les LRR extracellulaires. Toutefois, dans ce cas, la fonction "transmission d'un signal" reste plus énigmatique (Figure I.2). En s'appuyant sur les modèles d'autoincompatibilité pollinique des Brassica [NASRALLAH ET NASRALLAH , 1993], (DIXON *et coll.* 1996) proposent que la protéine Cf-2 pourrait interagir au niveau des LRR avec une protéine de type Xa21 (qui possède un domaine kinase).

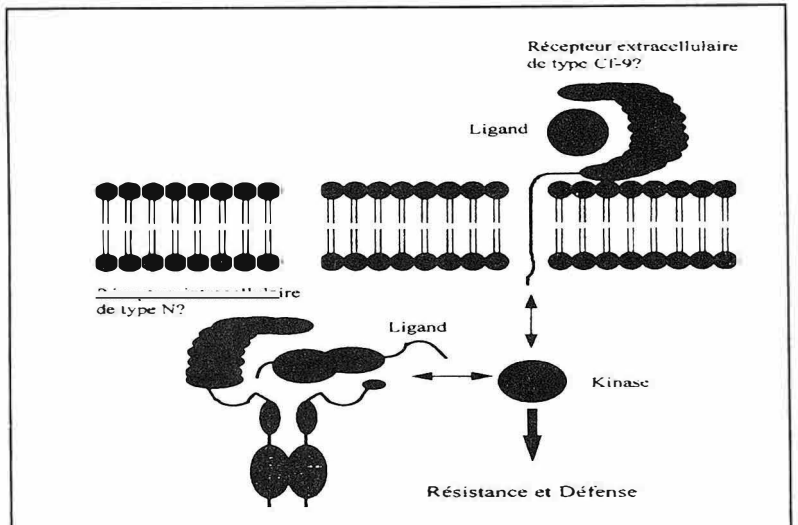


**Figure I.2** : Modèle ligand/récepteur pour la reconnaissance plante/parasite et l'expression d'une résistance. Dans ce modèle hypothétique le gène de résistance code pour un récepteur extra-cellulaire (telle que la protéine produite par le gène *Cf-9* de tomate) ou intra-cellulaire (tel que le produit du gène *N* de tabac). Le ligand peut être le produit direct ou indirect du gène d'avirulence. L'évènement de reconnaissance spécifique active une cascade de signalisation pouvant associer des kinases, aboutissant à l'expression de la résistance.

(D'après Staskawicz *et al.* 1995)



### 3. Et après le clonage des gènes de résistance. . .

Le clonage d'un gène de résistance ne constitue pas une fin en soi. Il n'est qu'une étape préliminaire mais nécessaire à la compréhension du processus aboutissant à l'expression d'une résistance. Différentes questions se posent au niveau mécanistique: le gène de résistance a-t-il une fonction de récepteur?, interagit-il avec un éliciteur émis par le pathogène? Dans quel compartiment cellulaire se situe l'interaction moléculaire?, quels sont les déterminants de la spécificité de reconnaissance du gène de résistance?, Quelle cascade pour l'activation des mécanismes de défense?

#### 3.1. Lieu de reconnaissance et spécificité de reconnaissance.

Le modèle "eliciteur-récepteur" prédit que le gène de résistance devrait interagir avec le produit du gène d'avirulence. Le gène *Pto* code pour une protéine cytoplasmique, et par conséquent les mécanismes conduisant à la reconnaissance entre Pto et avrPto apparaissaient difficile à interpréter par le biais d'une reconnaissance au niveau membranaire. Connaissant la localisation cellulaire de Pto et afin de respecter un modèle éliciteur/récepteur, il est nécessaire que le produit du gène d'avirulence soit diffusé à l'intérieur du cytoplasme de la cellule végétale. Des résultats récents ont effectivement démontré que cette situation existait pour les produits des gènes *AvrBs3 (Xanthomonas campestris pv. vesicatoria)* et avrB *(Pseudomonas syringae pv. glycinea)* [VAN DEN ACKERVEKEN et coll. 1996 ; GOPALAN et coll. 1996]. Le produit de ces gènes est sécrété par un système d'injection ou pilus déjà mis en évidence chez des bactéries pathogènes des mammifères, *Salmonella* notamment. Ce système d'injection est constitué de protéines issues dans leur majorité de l'expression de "l'opéron Hrp" (hypersensitive response and pathogenicity) codant pour des composants du système de sécrétion de type III de certaines bactéries, telles que *Salmonella, Shigella, Yersinia.* Un tel système de sécrétion permet aux produits des gènes d'avirulence d'être sécrétés dans la cellule végétale et d'interagir avec des protéines végétales cytoplasmiques [SCOFIELD et coll. 1996]. Par des expériences de double hybride chez la levure, il a été montré que le produit du gène *Pto* interagit directement avec le produit du gène *avrPto* dans la cellule végétale [SCOFIELD et coll. 1996].

Un gène de résistance reconnaît spécifiquement certaines races d'un agent pathogène. Le clonage de gènes de résistance permet donc d'aborder les bases moléculaires de cette spécificité de reconnaissance. Les domaines LRR sont connus pour intervenir dans les interactions protéine-protéine. Aussi, ces domaines LRR pourraient être des récepteurs du produit des gènes d'avirulence (STASKAWICZ et coll.1995 ; JONES ET JONES 1997). Une variation dans le domaine LRR serait à la base de changement spécificité de reconnaissance. Des résultats allant dans ce sens ont été obtenus chez le lin et la tomate. Une variation du nombre de LRR a été observée entre les allèles L6 et *L10* du lin conférant des spécificités de reconnaissance différentes [ANDERSON et coll. 1995]. De même, les gènes *Cf-9* et *Cf-2* de résistance à C. *fulvum* se différencient principalement

par le fait que *Cf-9* possède 27 LRR alors que *Cf-2* en possèdent 38 [JONES et coll. 1994; DIXON et coll. 1996]. Les domaines LRR pourraient donc être déterminants dans la définition de spécificité de reconnaissance du gène de résistance.

Les gènes *M* et *L6* du lin sont très similaires entre eux, mais interagissent avec 2 produits de gènes d'avirulence différents A-M et A-L6. Leur différence de séquence est donc responsable du changement de spécificité. Deux régions divergentes entre ces 2 gènes ont été identifiées [ANDERSON et coll. 1997]. Cependant, ces auteurs considèrent que des comparaisons de séquences ne sont pas suffisantes pour identifier les domaines responsables de la spécificité, car de nombreux changements ponctuels sont observés. Seules des expériences d'échanges de domaines protéiques générant des gènes chimériques peuvent permettre d'identifier avec certitude les régions responsables de la spécificité de reconnaissance. Ce type d'expérience a permis de montrer que les déterminants des spécificités L2 et *L10* sont situés en position 3' de ces gènes, dans la région codant pour les LRR [ELLIS et coll. 1997]. Un résultat surprenant a également été obtenu: des gènes combinants une partie de *L2 ou LH* en 5' et de L6 pour le reste du gène, notamment pour la région codant pour les LRR, ont été obtenus. On pourrait s'attendre à ce que ces recombinants aient une spécificité de reconnaissance L6 (car ils possèdent des LRR de type L6) mais il n'en est rien. Ces recombinants possèdent en fait une spécificité de reconnaissance de type *L7!* Les auteurs concluent que *L7* dérive de L6 par recombinaison [ELLIS et coll. 1997]. La confirmation de l'importance fonctionnelle du domaine LRR dans la spécificité de résistance est étayée par des allèles mutants de *RPS2* et *RPM1:* le changement d'un seul acide aminé dans la région codant pour la LRR rend ces allèles non fonctionnels [BENT et coll. 1994; MINDRINOS et coll. 1994 ; BOYES et coll. 1995]. Cependant, l'étude de mutants n'est pas appropriée car il est impossible de savoir s'ils sont affectés dans la fonction de reconnaissance ou dans la fonction de transduction du signal.

Le domaine LRR aurait donc un rôle dans la spécificité de reconnaissance, cependant, chez le lin, certains résultats semblent indiquer que les LRR ne définissent pas à elles seules cette spécificité.

### 3.2. Le modèle de Flor est-il dépassé?

Le modèle gène à gène défini par Flor a guidé les phytopathologistes depuis près de 50 ans. Cependant, des résultats obtenus ces dernières années suggèrent que le processus de résistance spécifique ne serait pas aussi simple que le prédisait le modèle de Flor. En effet, le gène de résistance spécifique *d'Arabidopsis thaliana RPM1* possède une double spécificité de reconnaissance. Une mutation dans *RPM1* entraîne une perte de reconnaissance des gènes d'avirulence *avrB* et *avrRpml* de la bactérie P. *syringae* [BISGROVE et coll. 1994]. Faut-il alors parler d'une relation "gène à gènes"? Par ailleurs des analyses génétiques ont permis d'identifier des gènes RDR (requis pour



l'expression des gènes de résistance). Plusieurs gènes chez la plante sont donc nécessaires à l'expression d'une résistance. Est-ce alors d'une relation "gènes à gènes" dont il faut parler ?

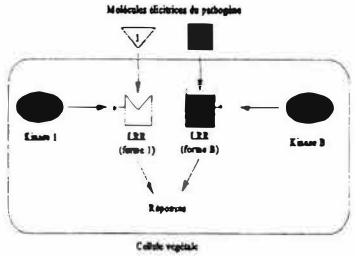


Figure I.3. Modèle hypothétique permettant à un gène de résistance de modifier deux spécificités différentes par interaction avec des kinases. L'interaction LRR/kinase 1 permet la reconnaissance de l'élicteur 1. L'interaction LRR/kinase B permet la reconnaissance de l'élicteur B. D'après Innes (1995).

INNES (1995) propose un modèle, intégrant les résultats récents dérivés du clonage de gènes de résistance spécifiques, pour expliquer ces données (Figure I.3): RPM1 (protéine de type LRR) serait un récepteur dont la spécificité de reconnaissance serait définie suite à l'interaction avec une protéine kinase: l'interaction RPM1/kinase 1 définirait la spécificité de reconnaissance du gène *avrRPMl,* tandis que l'interaction *RPMl/kinase* B définirait la spécificité de reconnaissance du gène avrB. Les kinases 1 et B seraient donc des *RDR.* Ce modèle hypothétique permet à partir d'un petit nombre de gènes de définir un grand nombre de spécificités. Ainsi, par exemple avec 100 récepteurs LRR et 10 kinases, 1000 spécificités peuvent être obtenues à partir de seulement 110 gènes. Si ce modèle est valide, on peut se demander pourquoi des résistances conférées par des gènes complémentaires n'ont pas été observées plus fréquemment.

Le niveau de polymorphisme de ces gènes peut être un élément de réponse. Il faut en effet garder à l'esprit que le sélectionneur observe la *variabilité naturelle* (contrairement à l'approche par mutagénèse pour identifier des gènes *RDR).* Ainsi, si l'on croise une plante sensible avec une plante résistante et que l'on obtient en F2 une ségrégation de type 3R: 1 S, ceci implique que les 2 génotypes diffèrent pour un gène, mais *en aucun cas que la résistance nécessite l'expression d'un seul gène.* Les autres gènes nécessaires à l'expression de la résistance, non polymorphes entre les 2 génotypes,

ne ségrègent pas. Pour reprendre l'exemple de la Figure I, on peut imaginer que seul *RPMI* est polymorphe mais que les gènes "kinase 1 et kinase B" sont présents dans tous les génotypes d'*Arabidopsis thaliana*. Par ailleurs, l'exemple *Pto/Prf* permet d'avancer une autre explication: Pto/Prf étant étroitement liés, la F2 d'un croisement PtolPrf x pto/prf ségrègera 3R: 1 S, alors que 2 gènes différentient les 2 parents (encore faut-il que des génotypes pto/prf existent!). Enfin, on trouve dans la littérature des exemples où un croisement entre deux plantes sensibles conduit à l'obtention d'une F1 résistante (KOLMER, 1996). Ainsi, chez le blé, la résistance à certaines races de *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* nécessite la présence des gènes *Lr27* et *Lr31* [KOLMER, 1996]. Ces résultats pourraient donc s'expliquer par la complémentation de 2 gènes pour produire un gène de résistance fonctionnel [INNES, 1995].

Le modèle "gène à gène" peut donc sembler dépassé dans le sens où les interactions plantes/pathogènes impliquent clairement plus d'un gène chez la plante et le pathogène. Cependant, le modèle de Flor ne prédit pas le contraire. II implique seulement que la différence entre une plante sensible et une plante résistante peut s'expliquer par un seul gène, ce qui reste vrai [INNES, 1995].

### 3.3. Répercussion du clonage de gènes de résistance pour la sélection

Les populations naturelles constituent une source potentielle de nouveaux gènes de résistance pour le sélectionneur [LEPPIK 1970]. Depuis des années des gènes de résistance issus de plantes sauvages ont été introgressés (par backcross) dans des variétés cultivées élites. Cependant, ces techniques traditionnelles limitent le réservoir potentiel de gènes de résistance aux espèces sexuellement compatibles et par ailleurs la création d'une nouvelle variété résistante est un processus long pouvant durer près de 10 ans. Enfin ce n'est pas seulement un gène de résistance qui est introgressé mais une région chromosomique pouvant contenir des gènes à effet défavorable [YOUNG ET TANKSLEY 1989].

Le clonage de gènes de résistance ouvre de nouvelles perspectives pour le sélectionneur. La transformation génétique représente un substitut efficace au backcross. Elle présente l'avantage d'introduire seulement le gène d'intérêt et ainsi de s'affranchir du "linkage drag". Par ailleurs, c'est un processus rapide indépendant du nombre de transgènes à introduire. Enfin, elle élargit le réservoir de gènes de résistance d'une espèce végétale à des gènes de résistance provenant d'espèces sexuellement incompatibles. Ce transfert interspécifique de gènes de résistance est particulièrement intéressant dans le cas où l'espèce végétale cible ne présente aucun gène de résistance efficace contre un pathogène. Les gènes conférant une résistance contre des pathogènes ayant un large spectre d'hôte sont également de bons candidats pour ces transferts interspécifiques. Cependant, la condition *sine qua non* de cette approche est la conservation chez l'espèce receveuse de la cascade de transduction nécessaire à l'expression de la résistance.



Des résultats concernant l'efficacité d'un gène de résistance dans un tel système hétérologue ont été obtenus récemment. Le gène *Pto* de tomate, transféré dans du tabac confère une résistance à *Pseudomonas syringae pv tabaci*) exprimant avrPto [THILMONY, 1995; ROMMENS ET coll. 1995]. Ceci suggère que les molécules chargées de transmettre le signal d'alerte à la cellule, suite à la reconnaissance spécifique Pto/avrPto, sont présentes chez le tabac. Symétriquement, WHITHAM *et coll.* [,1996] ont montré que le gène N (résistance au TMV) de tabac est fonctionnel dans la tomate. Ces résultats constituent les premiers exemples d'un transfert de gène de résistance entre deux espèces sexuellement isolées. II faut cependant souligner que la tomate et le tabac sont des espèces relativement proches, dans la mesure où elles appartiennent toutes les deux à la famille des Solanacées. Par contre, des transferts de gènes de résistance *(Pto* et *RPS2)* entre des espèces plus éloignées telles qu'arabidopsis et la tomate se sont soldés par des échecs [JONES ET JONES 1996]. II apparaît donc que le transfert interspécifique de gènes de résistance soit potentiellement réalisable entre des espèces relativement proches; pour des espèces plus éloignées le transfert interspécifique d'une résistance pourrait nécessiter l'introduction de plusieurs gènes (le gène de résistance et les gènes impliqués dans la cascade de signalisation).

Pour des gènes déjà clonés, tel que *Xa21,* la transformation génétique peut être déja utilisée pour introduire rapidement la résistance dans des cultivars de riz de haut niveau agronomique. La transformation génétique sera un outil puissant pour le pyramidage de gènes au sein d'un même cultiver car indépendant du nombre de transgènes et de la position des gènes sur le génome. Par ailleurs, la transformation permettra également de construire radidement des variétés multignés. Dans un futur plus lointain, il est également envisageable de construire au laboratoire des gènes synthétiques reconnaissant un grand nombre de gènes d'avirulence [MICHELMORE, 1995].

## BIBLIOGRAPHIE


ANDERSON, P.A., LAWRENCE, G.J., MORRISH, B.C., AYLIFFE, M.A., FINNEGAN, E.J. et ELLIS, J.G., 1997. Inactivation of the flax rust resistance gene M associated with loss a repeated unit within the leucine-rich repeat coding region. *Plant Cell*, 9 : 641-651.

BENT, A.F., KUNKEL, B.N., DAHLBECK, D., BROWN, K.I., SCHMIDT, R., GIRAUDAT, J., LEUNG, J. et STASKAWICZ, B.J. (1994). RPS2 of *Arabidopsis thaliana* : A leucine-rich repeat class of plant diseases resistance genes. *Science*, 265 1856-1860.

BISGROVE, S.R., SIMONICH, M.T., SMITH, N.M., SATTLER, A. et INNES, R.W. (1994). A disease resistance gene in arabidopsis with specificity for two different pathogene avirulence genes. *Plant Cell*, 6 : 927-933.

BOYES, D.C., MC DOWELL, J.M. et J.L., DANGL. (1996). Plant pathology : many roads lead resistance. *Curr Biol*, 6 : 634-637.

BUSCHGES, R., HOLLRICHER, K., PANSTRUGA, R., SIMONS, G., WOLTER, M., FRIJTERS, A., VAN DAELEN, R , VANDERLEE, T., DIERGAARDE, P., GROENENDIJK, J., TOPSCH, S., VOS, P., SALAMINI, F. et SCHULZE LEFERT, P. (1997). The barley mlo gene : A novel control element of plant pathogen resistance. *Cell*, 88 : 695-705.

CAI, D G., KLEINE, M., KIFLE, S., HARLOFF, H.J., SANDAL, N.N., MARCKER, K.A., KLI P., EINLANKHORST, R.M., SALENTIJN, E.M.J., LANGE, W., STIEKEMA, W.J., WYSS, U., GRUNDLER, F.M.W. et JUNG, C. (1997). Positional cloning of gene for nematode resistance in sugar beet. *Science*, 275 : 832-834.

DELORENZO, G., CERVONE, F., BELLINCAMPI, D., CAPRARI, C., CLARK, A.J., DESIDERIO, A., DEVOTO, A., FORREST, R., LECKIE, F., NUSS, L. et SALVI, G. (1994. Polygalacturonase, PGIP and oligogalacturonides in cell-cell communication. *Biochem Soc Trans*, 22 : 394-397.

DIXON, M.S., JONES, D.A., KEDDIE, J.S., THOMAS, C.M., HARRISON, K. Et JONES, J.D.G. (1996). The tomato *Cf-2* disease resistance locus comprises two functional genes encoding leucine-rich repeat proteins. Cell, 84 : 451-459.

ELLIS, J., LAWRENCE, G., FINNEGAN, J., et LUCK, L. (1997). Allelic variation and specificity determination at the flax *L.* for resistance. Résumé au "Plant disease resistance gene function EMBO Whorkshop, à Maratea, Italy, May 18-20.





GABRIEL, D., et ROLFE, B. (1990). Working models of specific recognition in plant-microbe interactions. *Annu Rev Phytopathol*, 28 : 265-391.

GOPALAN, S., BAUER, D., ALFANO, J.R., LONIELLO, A.O., HE, S.Y. et COLLMER, A. ( 1996). *Expression of the Pseudomonas syringae* avirulence protein avrB in plant cells alleviates its dependence on the hypersensitive response and pathogenicity (Hrp) secretion system in eliciting genotype-specific hypersensitive cell death. *The Plant Cell*, 8 : 1095-1105.

INNES, R.W. (1995). Plant-parasite interactions : has the gene-for-gene model become outdated. *Trends in Microbiology*, 3 : 483-485.

JOHAL, G.S. et BRIGGS, S.P. (1992). Reductase Activity Encoded by the HM1 Disease Resistance Gene in Maize. *Science*, 258 : 985-987.

JONES, D.A., THOMAS, C.M., HAMMONDOSACK, K.E., BALINTKURTI, P.J., et JONES, J.D.G. (1994). Isolation of the tomato *Cf-9* gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science*, 266 : 789-793.

JONES, D.A. et JONES, J.D.G. (1997). The role of leucine-Rich Repeat proteins in plant defences. *Advances in Botanical Research*, 24 : 90-167.

KOBE, B. et DEISENHOFER, J. (1994). The leucine-rich repeat : a versatile binding motif. *Trends in Biochemical Sciences*, 19 : 415-421.

KOLMER, A. (1996). Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annu Rev Phytopathol*. 34 : 435-455.

LAWRENCE, G.J., FINNEGAN, E.J., AYLIFFE, M.A. et ELLIS, J.G. (1995). The *L6* gene for flax rust resistance is related to the arabidopsis bacterial resistance gene *RPS2* and the tobacco viral resistance gene N. *Plant Cell*, 7 : 1195-1206.

LEPPIK, E.E. (1970). Gene centers of plants as sources of disease resistance. *Annu Rev Phytopathol*, 8 : 323-344.

LOH, Y.T. et MARTIN, G.B. (1995). The pto bacterial resistance gene and the Fen insecticide sensitivity gene encode functional protein kinases with serine/threonine specificity. *Plant Physiol*, 108 : 1735-1739.

MARTIN, G.B., BROMMONSCHENKEL, S.H., CHUNWONGSE, J., FRARY, A., GANAL, M.W., SPIVEY, R., WU, T.Y., EARLE, E.D. et TANKSLEY, S.D. (1993). Map-Based Cloning of a Protein kinase Gene Conferring Disease Resistance in Tomato, *Science*, 262 : 1432-1436.

MICHELMORE, R. (1995). Molecular approaches to manipulation of disease resistance genes. *Ann Rev Phytopathol*, 15 : 393-427.

MINDRINOS, M., KATAGIRI, F., YU, G.L., et AUSUBEL, F.M. (1994). The *A.thaliana* disease resistance gene *RPS2* encodes a protein containing a nucleotide-binding site and leucine-rich repeats. *Cell*, 78 (6) : 1089-1099.

NASRALLAH, J.B. et NASRALLAH, M.E. (1993). Pollen-stigma signaling in the sporophytic self-incompatibility response. *Plant Cell*, 5 : 1325-1335.

NASRALLAH, J.B., STEIN, J.C. KANDASAMY, M.K. et NASRALLAH, M.E. (1994). Signaling the arrest of pollen tube development in self-incompatible plants. *Science*, 266 : 1505-1508.

ORI, N., ESHED, Y., PARAN, I., PRESTING, G., AVIV, D., TANKSLEY, S., KAMIR, D. et FLUHR, R. (1997). The *I2C* family from the wilt disease resistance locus *I2* belongs to the nucleotide binding, leucine-rich repeat superfamily of plant resistance genes. *Plant Cell*. 9 (4) : 521-532.

PARKER., J.E. HOLUB, E.B., FROST, L.N. , FALK, A., GUNN, N.D. et DANIELS, M.J. (1996). Characterization of eds1, a mutation in Arabidopsis suppressing resistance to *Peronospora parasitica* specified by several different *RPP* genes. *Plant Cell*, 8 : 2033-2046.

PRYOR, T. et ELLIS, J. (1993). The genetic complexity of fungal resistance genes in plants. *Advances in Plant Pathology*, 10 : 281-305.

ROMMENS, C.M.T., SALMERON, J.M., OLDROYD, G.E.D. et STASKAWICZ, B.J. (1995). Intergeneric tranfer and functional expression of the tomato diseases resistance gene *Pto*. *Plant Cell*, 7 : 1537-1544.

SALMERON, J.M., BARKER, S.J., CARLAND, F.M., MEHTA, A.Y. et STASKAWICZ, B.J. (1994). Tomato mutants altered in bacterial diseases resistance provide evidence for a new locus controlling pathogen recognition. *Plant Cell*, 6 : 511-520.

SCOFIELD, S.R., TOBIAS, C.M., RATHJEN, J.P., CHANG, J.H., LAVELLE, D.T., MICHELMORE, R.W. et STASKAWICZ, B.J. (1996). Molecular basis of gene-for-gene specificity in bacterial speck disease of tomato. *Science,* 274 : 2063-2065.

SONG, W.Y., WANG, G.L., CHEN, L.L., KIM, H.S., PI, L.Y., HOLSTEN, T., GERDNER, J., WANG, B., ZHAI, W.X., ZHU, L.H., FAUQUET, C. et RONALD, P. (1995). A receptor kinase-like protein encloded by the rice disease resistance gene. Xa21. *Science*, 270 : 1804-1806.



STASKAWICZ, B.J., AUSUBEL, F.M., BAKER, B.J., ELLIS, J.G. et JONES, J.D.G. (1995). Molecular genetics of plant disease resistance. *Science*, 268 : 661-667.

TANG, X.Y., FREDERICK, R.D., ZHOU, J.M., HALTERMAN, D.A., JIA, J.L. et MARTIN, G.B. (1996). Initiation of plant disease resistance by physical interaction of AvrPto and Pto kinase. *Science,* 274 : 2060-2063.

THIBMONY, R.L., CHEN, Z.T., BRESSAN, R.A. et MARTIN, G.B. (1995). Expression of the tomato Pto gene in tobacco enhances resistance to *Pseudomonas syringae pv tabaci* expressing avrPto, *Plant Cell*, 7 : 1529-1536.

VAN DER ACKERVEKEN, G., MAROIS, E. et BONAS, U. (1996). Recognition of the bacterial avirulence protein avrBs 3 occurs inside the host plant cell. *Cell*, 87 : 1307-1316.

WHITHAM, S., DINESH-KUMAR, S.P., CHOI, D., CHOI, D., HEHL, R., CORR, C. et BAKER, B. (1994). The product of the tobacco mosaic virus resistance gene *N* : similarity to Toll ant the interleukin-1 recteptor. *Cell*, 78 : 1101-1115.

WHITHAM, S., MCCORMICK, S. et BACKER, B. (1996). The *N* gene of tobacco confers resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tomato. *Proc Natl Acad Sci* USA, 93 : 8776-8781

YOUNG, N.D. et TANKSLEY, S.D. (1989). RFLP analysis of the size of the chromosomal segments retained around the *Tm-2* locus of tomato during back-cross breeding. *Theor Appl Genet*, 77 : 353-359.