

**Des dérivés d'acides gras dans la résistance des plantes aux attaques microbiennes : à la recherche d'acyl hydrolases impliquées dans la synthèse des oxylipines**

**The role of oxylipins in plant defense response against microbial pathogens: searching for the acyl hydrolases responsible for the synthesis of oxylipins**

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 9, Numéro 1, 37-42, Janvier - Février 2002, Dossier : Lipides des plantes

**Auteur(s)** : Thierry HEITZ, Sandrine DHONDT, Guillaume GOUZERH, Pierrette GEOFFROY, Michel LEGRAND, Institut de biologie moléculaire des plantes (IBMP) du CNRS, 12, rue du Général-Zimmer, 67084 Strasbourg Cedex, France.

**Résumé** : Les plantes sont soumises constamment à des agressions multiples, provenant d'attaques par une grande variété de virus, bactéries, champignons, nématodes, ou encore d'herbivores. Face à cette pression, et devant l'impossibilité de fuir ces conditions hostiles, les plantes ont développé des systèmes de détection sophistiqués leur permettant d'opposer le plus souvent un état de résistance. L'agriculture a, de tous temps, cherché à associer aux qualités agronomiques des plantes cultivées les propriétés de résistance aux maladies de leurs parents sauvages. Les recherches actuelles visent une meilleure compréhension des mécanismes de défense naturels des plantes pour développer de nouvelles méthodes de lutte. Quand l'agresseur surmonte les barrières préexistantes à l'attaque, certaines plantes mettent en place, après une étape critique de reconnaissance, une cascade d'événements cellulaires complexes aboutissant à la résistance, et connue sous le nom de réaction d'hypersensibilité, ou RH (figure 1). La RH est caractérisée par la mort programmée des premières cellules infectées puis par l'induction d'altérations métaboliques intenses dans les tissus entourant les lésions nécrotiques [1]. Ces réponses de défense comprennent notamment : - un renforcement des parois végétales par le dépôt de polysaccharides, de composés phénoliques insolubles et de protéines ; - la stimulation de voies métaboliques secondaires, certaines conduisant à la synthèse de composés antimicrobiens appelés phytoalexines ; - la synthèse d'un large spectre de protéines de défense attaquant directement les structures du microorganisme, en général leurs parois ou membranes cellulaires. Cette superposition de réponses de la plante résulte généralement en un confinement de l'agent pathogène inducteur au niveau du site d'attaque [2]. Cette résistance locale est également accompagnée d'un phénomène appelé « résistance systémique acquise » (SAR) et procurant une protection durable, et à large spectre, à l'ensemble de la plante envers une infection secondaire. La perception spécifique par la plante d'un agresseur de type biotique (c'est-à-dire se nourrissant sur des cellules végétales vivantes) nécessite la présence simultanée d'un gène d'avirulence chez le parasite et celle d'un gène de résistance chez la plante (figure 1). En cas d'absence de l'un ou l'autre de ces gènes, la reconnaissance nécessaire à la RH n'a pas lieu, et la maladie se développe. D'autres types de microbes sont qualifiés de nécrotrophes, car leur stratégie de colonisation implique la sécrétion de toxines et d'enzymes de macération qui tuent les cellules végétales et dégradent leurs structures avant de s'en nourrir. La reconnaissance de l'agresseur par l'hôte déclenche une série de processus cellulaires rapides incluant notamment des flux d'ions, des phosphorylations, et la production de formes activées de l'oxygène. Ces réponses ne seront pas décrites ici (revue in [3, 4]). La séquence précise des réactions déclenchant la mort cellulaire reste

mystérieuse, comme l'est la relation de cette mort avec la production de signaux secondaires de défense.

**Summary :** Recent evidence suggested that oxidized lipid-derived molecules called oxylipins play important roles in inducible plant defense responses against microbial pathogens, as signals involved in the induction of sets of defense gene, as factors promoting host cell death, or by directly deterring parasite multiplication. The synthesis of oxylipins was thought to be dependent on the release of free fatty acids from membrane lipids, but the enzyme(s) responsible for such activity is (are) unknown. We first showed that in tobacco leaves reacting hypersensitively to tobacco mosaic virus, a strong increase in soluble PLA2 activity is induced before the accumulation of jasmonates, which are well characterized defense modulators. The protein bearing most of the enzymatic activity was isolated and identified as related to the patatin type of acyl hydrolases. Three cDNAs, that were called NtPat, were isolated and recombinant NtPAT1 and NtPAT3 proteins produced in *Escherichia coli* were shown to display high PLA1, PLA2, and galactolipase activity. A detailed study of the expression profile of NtPat-encoded PLA2 activity revealed that this response is specifically induced upon microbial attack, and is not a general response to stress. In some cases, we could correlate the induction of NtPat genes with the synthesis of jasmonates. Although NtPAT proteins are probably not located in the chloroplasts, the cellular site of the early jasmonate biosynthetic steps, they may contribute to a general breakdown of lipids occurring during pathogen-induced cell death and therefore provide fatty acid precursors for the synthesis of some oxylipins.

**Keywords :** jasmonic acid, defense, oxylipin, patatin, phospholipase A2, tobacco.

ARTICLE

### **Les signaux secondaires de défense des plantes**

L'induction de la résistance nécessite, une fois ces événements moléculaires précoces engagés, la synthèse et la perception de signaux de défense dont les mieux caractérisés actuellement sont l'acide salicylique (AS), l'acide jasmonique (AJ) et l'éthylène [5]. Ces composés de faible masse moléculaire sont de puissants inducteurs de toute une panoplie de gènes de défense, et sont responsables de la mise en place d'une bonne partie des réponses sus-citées. En fait, chacun de ces régulateurs contrôle un spectre particulier de réponses de défense. Par exemple, l'augmentation des taux endogènes d'AS, un composé phénolique issu du métabolisme des phénylpropanoïdes, est requise pour l'expression de certaines protéines dites *Pathogenesis-related* (PR), aux propriétés antimicrobiennes montrées. Notre équipe a particulièrement contribué dans le passé à identifier et à caractériser les activités de ces protéines (revue in [6, 7]). Inversement, des plantes transgéniques qui expriment une enzyme bactérienne catabolisant l'AS présentent un affaiblissement de la résistance locale et sont incapables de développer une SAR [8]. Cela montre clairement le rôle critique de l'AS dans la résistance aux agents pathogènes, rôle qui a été plus récemment précisé dans la résistance aux parasites biotrophes [9]. L'éthylène, une hormone végétale volatile, est impliqué dans plusieurs

processus physiologiques et notamment dans la défense des plantes [10]. L'éthylène induit la synthèse de certaines protéines PR, notamment des isoformes à point isoélectrique basique, et celle des enzymes de voies de biosynthèse de composés aromatiques pour la lignification et la production de phytoalexines. Cependant, le rôle de l'éthylène dans la résistance reste controversé. Des plantes mutantes insensibles à l'éthylène sont toujours résistantes à certains microbes, et deviennent même moins sensibles à des agents pathogènes virulents. En fait, l'éthylène semble dans certains cas réguler l'apparition des symptômes de la maladie plus que la multiplication du microbe *in planta*. Enfin, un troisième type de signal de défense est représenté par l'AJ qui est l'oxylipine la mieux étudiée, notamment pour ses propriétés régulatrices des réponses de défense. Il est maintenant établi que ces trois régulateurs, et probablement d'autres qui restent à découvrir, sont produits de façon coordonnée dans la réponse inductible et orchestrent des réseaux de signalisation complexes conduisant à la résistance. Non seulement l'AS, l'AJ et l'éthylène régulent chacun des réponses spécifiques, mais un nombre croissant d'exemples montre que des interactions (*cross-talk*) positives et négatives existent entre ces voies et permettent une régulation fine de la réponse [5].

### **Biosynthèse des oxylipines**

Les oxylipines constituent une vaste famille de composés dérivant d'acides gras prélevés sur des glycérolipides structuraux (phospholipides et/ou galactolipides) des membranes cellulaires [11]. Bien que soupçonnée de longue date, cette diversité a pu être mieux appréhendée ces dernières années avec le développement de méthodes d'analyse globale des oxylipines par extraction et purification partielle par HPLC, puis identification et quantification par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Ces techniques nouvelles permettent de visualiser des profils, appelés signatures d'oxylipines, dans une espèce végétale donnée dans un état physiologique particulier [12-14]. De nouvelles oxylipines synthétisées en réponse à divers stress ont ainsi pu être détectées. Par leurs propriétés biologiques variées, elles interviennent à plusieurs niveaux dans la résistance antimicrobienne (*figure 1*).

La plupart des gènes et enzymes impliqués dans la biosynthèse des oxylipines sont maintenant bien caractérisés chez au moins une espèce végétale. Leur biosynthèse débute généralement par l'intervention d'une lipoxigénase (LOX) sur un acide gras polyinsaturé (AGPI), les précurseurs les plus courants étant l'acide linoléique (C18:2), l'acide linoléique (C18:3), ou encore l'acide hexadécatriénoïque (C16:3) (*figure 2*). Les hydroperoxydes formés sont au carrefour de plusieurs branches métaboliques qui vont conduire à des dérivés finaux en général plus stables et doués d'activités biologiques diverses. Il a été montré que les membranes de l'enveloppe des chloroplastes étaient un site cellulaire de métabolisation de ces hydroperoxydes [15]. La régulation de ces diverses voies enzymatiques (en compétition pour un même substrat) au cours de la vie d'une plante est un aspect encore méconnu mais constitue certainement un point de contrôle important puisque les signatures d'oxylipines varient considérablement selon la plante et le stress appliqué. Les systèmes enzymatiques mis en jeu comprennent principalement :

- l'allène oxyde synthase (AOS) conduisant à la formation des jasmonates ;
- l'hydroperoxyde lyase (HPL) clivant l'hydroperoxyde en aldéhydes (C6) et en oxo-acides (C12) ;
- la peroxygénase (POX) catalysant la production d'acides gras époxydés et époxy-hydroxylés ;

- la divinyl éther synthase (DES) fournissant des divinyl éthers ;
- la réductase formant des hydroxy-acides gras.

La voie conduisant aux molécules de type jasmonates (historiquement appelée « voie octadécanoïque », car dérivant du C18:3) a été particulièrement étudiée [16] et présente des analogies avec la biosynthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (C20:4) chez les animaux au cours de la réponse inflammatoire [17]. L'hydroperoxyde généré par une 13-LOX est converti en une allène oxyde instable, lequel est cyclisé de façon stéréospécifique par une allène oxyde cyclase (AOC) en acide 12-oxo-phytodiénoïque (AOPD) (*figure 2*). La double liaison dans le pentacycle de l'AOPD est ensuite réduite par une AOPD réductase (OPR). Enfin, la chaîne latérale est raccourcie par trois cycles de beta-oxydation pour conduire à l'AJ. L'AOPD, l'AJ, et son ester méthylique, le méthyle jasmonate (MJ), possèdent des propriétés de signalisation similaires pour certaines réponses physiologiques [18] mais clairement distinctes pour d'autres [19-21]. Les enzymes de biosynthèse conduisant de l'acide linoléique à l'AOPD (LOX, AOS, et AOC) sont chloroplastiques, les étapes ultérieures sont probablement catalysées dans les peroxysomes [22].

### **Fonctions des oxylipines dans la défense**

Si l'on considère comme oxylipine tout dérivé oxygéné d'AGPI, on peut identifier au moins trois types de fonctions biologiques dans les défenses des plantes pour cette famille de composés (*figure 1*) :

1. Des hydroperoxydes d'acides gras libres, qui s'accumulent massivement au cours d'une RH induite par un microbe ou un éliciteur de mort cellulaire, et qui par leur réactivité chimique pourraient participer à l'exécution de la mort cellulaire caractéristique de cette RH [23]. Cet aspect a été développé au cours de ce colloque par J.-L. Montillet et ne sera pas détaillé dans cet article.
2. D'autres oxylipines limitent directement la progression ou la multiplication d'agents microbiens. Par exemple, des produits issus de la voie POX peuvent se polymériser par des liaisons esters pour former la cutine qui est en fait un réseau insoluble d'oxylipines et constitue la première barrière mécanique qui empêche la pénétration de bactéries ou de champignons [11]. D'autres molécules solubles dérivant des voies HPL [24] ou DES [13], et induites en réponse à des infections, ont également des propriétés antimicrobiennes montrées, et sont donc de véritables phytoalexines, c'est-à-dire des antibiotiques végétaux.
3. L'AJ issu de la voie AOS est l'oxylipine la mieux connue, sa voie de biosynthèse et sa capacité à induire de nombreuses réponses de défense ayant été décrites depuis de nombreuses années (revue in [25]). Son implication dans la défense était restreinte pendant longtemps à la réponse des plantes à des attaques d'insectes [16], mais les données plus récentes ont montré que l'AJ était également un élément essentiel de la résistance contre certains agents microbiens [5]. En effet, des plantes déficientes dans la synthèse ou la perception de l'AJ montrent une absence d'induction de certains gènes de défense [26, 27] et même une perte de résistance à des agresseurs nécrotrophes. L'action de l'AJ s'exerce seule dans certains cas, ou nécessite l'intervention simultanée [9], ou successive [28], de l'éthylène, dans d'autres cas.

Cependant, si la contribution spécifique de l'AJ est clairement identifiée dans ces exemples, la présence ou l'absence d'autres oxylipines peut également modifier l'issue d'une interaction plant-pathogène. Des plantes chez lesquelles on a surexprimé ou au contraire inhibé des enzymes de

biosynthèse d'oxylipines ont été obtenues et présentent une augmentation [20] ou une diminution de la résistance à différents agents pathogènes [29, 30]. Les conséquences de la sur- ou sous-expression d'un gène de *9-Lox* sur la résistance du tabac à *Phytophthora* ont été exposées par M.-T. Esquerré-Tuguayé au cours du colloque.

### **Recherche d'acyle hydrolases induites dans la défense chez le tabac**

La découverte de nouvelles oxylipines, de gènes et enzymes permettant leur synthèse, ainsi que l'identification de leurs importantes activités biologiques se sont considérablement accélérées ces dernières années. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la recherche d'acyle hydrolases activées au cours des réponses de défense et qui fourniraient les acides gras libres précurseurs des oxylipines (*figure 2*). En effet, les niveaux d'acides gras libres sont très faibles dans des tissus non stimulés, et leur libération après l'attaque est considérée comme un point de régulation essentiel du flux métabolique conduisant aux oxylipines. Par analogie avec les modèles animaux impliquant des phospholipases  $A_2$  ( $PLA_2$ ) dans la synthèse des éicosanoïdes, le même type d'activité est probablement requis chez les plantes pour la mobilisation des acides gras. Au début des années 90, dans une recherche d'activités hydrolytiques induites dans la réponse de résistance du tabac au virus de la mosaïque du tabac (VMT), nous avons mis en évidence une stimulation marquée de l'activité phospholipase  $A_2$  ( $PLA_2$ ), en utilisant comme substrat des membranes bactériennes radiomarquées [31]. Bien que des activités  $PLA_2$  aient été décrites dans plusieurs systèmes de défense inductible [32-34], aucune de ces études n'avait permis d'identifier la ou les protéine(s) responsable(s) de cette activité.

### **Des $PLA_2$ de type patatine dans la défense du tabac**

Dans l'interaction tabac-VMT, l'augmentation rapide de l'activité  $PLA_2$  vers 48 heures, au moment de l'apparition des lésions nécrotiques (*figure 3*) suggérait que des composés dont la synthèse dépend de l'hydrolyse de lipides pourraient s'accumuler et nous avons donc mesuré l'accumulation de jasmonates comme marqueurs de l'activation du métabolisme des oxylipines. Les niveaux d'AOPD et d'AJ augmentent en effet significativement en réponse à l'infection virale (*figure 3*). L'activité  $PLA_2$  atteignant son maximum bien avant les jasmonates, ce résultat permettait de poser l'hypothèse de l'implication de cette activité enzymatique dans la synthèse d'oxylipines. Dans le but de connaître la nature moléculaire de la  $PLA_2$ , nous avons fractionné un extrait protéique de feuilles infectées sur différents supports chromatographiques en suivant l'activité enzymatique. De longs efforts ont conduit à l'isolement d'une protéine labile et de faible abondance, mais responsable de la majorité de l'activité totale. La séquence N-terminale de cette protéine s'est révélée similaire à celle de la patatine, qui constitue une famille de protéines de réserve majeure du tubercule de pomme de terre. Celle-ci avait déjà été décrite comme une acyle hydrolase non spécifique avec des activités faibles de type  $PLA_2$ , galactolipase, et sulfolipase, n'hydrolysant pas les triglycérides et ne mobilisant donc pas directement de lipides de réserve [35]. Au début de ce projet, peu de gènes de type patatine étaient connus chez d'autres espèces végétales, et aucun n'avait été corrélé à un processus lié à une RH.

En utilisant une amorce oligonucléotidique dérivée de la séquence N-terminale de la protéine purifiée en combinaison avec des amorces dérivées de courtes régions conservées dans les gènes disponibles, nous avons amplifié par PCR des fragments partiels, puis trois ADNc *patatin-like* de tabac, l'un codant pour la protéine purifiée. Ces gènes ont été appelés *NtPat1*, *NtPat2* et *NtPat3*, l'identité entre les protéines NtPAT1 et NtPAT3 étant de 58 %, et celle entre NtPAT2 et NtPAT3 de 80 %. La structure des protéines déduites des ADNc semble indiquer une localisation subcellulaire distincte, qui pourrait leur permettre de dégrader des structures membranaires différentes.

Un premier objectif était de montrer l'activité enzymatique des protéines codée par ces gènes. Une étude biochimique directe à partir d'extraits de plantes n'étant pas possible du fait de la difficulté de leur purification, nous avons procédé à la production de protéines NtPAT1 et NtPAT3 recombinantes dans des bactéries, sous la forme de fusions avec la glutathione-S-transférase. Les protéines purifiées par affinité se sont révélées très actives dans deux tests différents : dans celui utilisant le substrat constitué de membranes bactériennes, elles ont montré la même activité élevée que la protéine native isolée de plante. Une préparation enrichie en patatine de pomme de terre, testée dans les mêmes conditions, est au moins 100 fois moins active. En utilisant de la phosphatidylcholine, nous avons déterminé que l'activité PLA<sub>2</sub> des protéines NtPAT1 et NtPAT3 est aussi élevée que celle d'une PLA<sub>2</sub> de venin d'insecte utilisée comme référence. Mais contrairement à cette dernière, les protéines de tabac possèdent également une activité PLA<sub>1</sub> significative, et des mesures récentes ont révélé qu'elles dégradaient aussi efficacement des galactolipides extraits de plantes.

#### ***Régulation de l'activité PLA<sub>2</sub> codée par les gènes NtPat en réponse à divers stress***

Un autre volet de notre étude concerne la détermination du profil d'expression des gènes *NtPat* dans des situations de stress, notamment en relation avec l'accumulation d'oxylipines. En effet, il est connu que différents stress engendrent l'hydrolyse de lipides et/ou la synthèse d'oxylipines, alors que très peu d'informations sont disponibles sur la nature des acyle hydrolases impliquées dans cette réponse physiologique. Dans un premier temps, nous avons montré que les transcrits des trois gènes *NtPat* isolés sont indétectables dans des plantes saines, mais s'accumulent rapidement au moment de l'apparition des lésions nécrotiques dans la RH du tabac au VMT, avec une cinétique parallèle à celle de l'activité enzymatique. Cela signifie que, dans le test utilisé, l'activité PLA<sub>2</sub> est due, en majeure partie, à l'expression de gènes de type patatine.

Nous avons ensuite évalué la cinétique de réponse des gènes *NtPat* à d'autres traitements, en mesurant d'une part l'activité PLA<sub>2</sub>, et en immunodétequant d'autre part la protéine NtPAT3. Les résultats obtenus sont résumés dans la *figure 4*. Par exemple, au cours d'un stress de sécheresse, une hydrolyse de lipides polaires, notamment de galactolipides chloroplastiques, a été décrite chez la dolique, et un gène de patatine induit dans ces conditions et codant pour une activité galactolipase vient d'être isolé [36]. Dans le tabac, une déficience en eau n'induit ni l'activité PLA<sub>2</sub>, ni la protéine NtPAT3, et cette dernière n'est donc pas impliquée dans la dégradation de lipides au cours du flétrissement, s'il existe chez cette espèce. La blessure mécanique, souvent utilisée pour mimer une attaque d'insectes herbivores, provoque chez de nombreuses plantes une accumulation transitoire d'AJ, qui va ensuite induire un groupe de gènes codant pour des protéines diminuant la digestibilité et la valeur nutritive de la plante attaquée [25].

Cette réponse suppose une induction très rapide d'un gène d'acyl hydrolase, ou une activation post-traductionnelle d'une enzyme préexistante. Les gènes *NtPat* ne sont pas impliqués dans ce processus, au vu de leur réactivité très faible et tardive à une blessure.

Les signaux de défense AS, AJ, éthylène ou encore certaines formes activées de l'oxygène sont capables d'induire certains gènes de biosynthèse d'oxylipines. Nous avons testé ces traitements, et seul l'éthylène, administré à des plantes sous la forme de son précurseur, l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC), augmente l'activité PLA<sub>2</sub>. Cet effet est clairement amplifié lorsque l'ACC est associé au MJ. L'induction observée dans ce cas, bien que forte, est bien plus tardive que celle observée en réponse au VMT, et ne reflète probablement pas la signalisation endogène activant les gènes *NtPat* pendant la RH.

De façon intéressante, d'autres types d'agents pathogènes, notamment la bactérie *Erwinia carotovora* et le champignon *Botrytis cinerea*, tous deux de type nécrotrophe, induisent des niveaux élevés d'activité PLA<sub>2</sub> et d'accumulation de protéine NtPAT3. Il en est de même pour la beta-mégaspermine, une protéine fongique issue du milieu de culture de *Phytophthora megasperma* et décrite comme un éliciteur puissant de la RH chez le tabac [37]. Ce dernier inducteur a été un outil puissant pour une étude de la régulation spatio-temporelle des gènes *NtPat*, de l'activité PLA<sub>2</sub>, et de l'accumulation de jasmonates (manuscrit en préparation). L'activité PLA<sub>2</sub> est induite à la fois dans une zone foliaire infiltrée avec l'éliciteur, qui met en place la mort cellulaire typique de la RH, mais également dans une zone étroite de cellules vivantes située à l'extérieur de la zone traitée et qui exprime intensément de nombreuses réponses de défense. En revanche, l'AOPD et l'AJ, mesurés comme marqueurs du métabolisme des oxylipines, ne sont synthétisés que dans le tissu en cours de nécrose. Cela signifie que l'expression de gènes *NtPat* peut avoir lieu indépendamment de la synthèse de jasmonates, ou de la mort de cellules végétales. D'autres facteurs non identifiés sont impliqués dans la régulation de ces deux réponses.

## CONCLUSION

Ce travail, initié par une approche biochimique de recherche d'activité PLA<sub>2</sub> dans une interaction plante-pathogène, a conduit à la caractérisation des premières lipide acyl hydrolases végétales spécifiquement induites en réponse à des infections microbiennes. Leur identification en tant que membres de la famille des patatines suggère un nouveau rôle dans la défense inductible pour ces protéines que l'on pensait jusque là cantonnées dans une fonction de protéine de réserve. Le spectre large de substrats hydrolysés *in vitro* par les protéines NtPAT ainsi que leur probable localisation différentielle dans la cellule (à l'extérieur du chloroplaste) indiquent que divers systèmes membranaires pourraient être dégradés par ce type d'enzymes au cours de la RH. En réponse à l'infection par le VMT ou à l'infiltration d'un éliciteur, la stimulation de l'activité PLA<sub>2</sub> précède la synthèse de jasmonates, signifiant qu'une partie des acides gras libérés par les protéines NtPAT pourraient être métabolisés en oxylipines dans différents compartiments cellulaires. Cependant, d'autres PLA, impliquées spécifiquement dans la synthèse des jasmonates dans les chloroplastes, pourraient être masquées dans notre test par l'activité élevée des protéines NtPAT. Différentes oxylipines sont probablement synthétisées à partir de différents pools d'acides gras libres mobilisés par des enzymes spécifiques.

L'obtention de plantes altérées dans l'expression des gènes *NtPat* devrait permettre d'élucider la contribution des protéines NtPAT dans la synthèse de dérivés d'acides gras dans la défense induite chez les végétaux. Par ailleurs, les ressources génétiques disponibles chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* permettront une approche génétique systématique du rôle de l'ensemble des gènes de type patatine identifiés chez cette plante.

#### REFERENCES

1. KAUFFMANN S, DOREY S, FRITIG B (août 1999). Les stratégies de défense des plantes. *Pour la science*, 30-7.
2. HAMMOND-KOZACK KE, JONES JDG (1996). Resistance gene-dependent plant defense responses. *Plant Cell*, 8 : 1773-91.
3. NÜRNBERGER T, SCHEEL D (2001). Signal transmission in the plant immune response. *Trends Plant Sci*, 6 : 372-9.
4. YANG Y, SHAH J, KLESSIG DF (1997). Signal perception and transduction in plant defense responses. *Genes Dev*, 11 : 1621-39.
5. THOMMA BP, PENNINGCKX IA, BROEKAERT WF, CAMMUE BP (2001). The complexity of disease signaling in Arabidopsis. *Curr Opin Immunol*, 13 : 63-8.
6. STINTZI A, HEITZ T, PRASAD V, *et al.* (1993). Plant pathogenesis-related proteins and their role in defense against pathogens. *Biochimie*, 75 : 687-706.
7. FRITIG B, HEITZ T, LEGRAND M (1998). Antimicrobial proteins in induced plant defense. *Curr Opin Immunol*, 10 : 16-22.
8. GAFFNEY T, FRIEDRICH L, VERNOOIJ B, *et al.* (1993). Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. *Science*, 261 : 754-6.
9. PENNINGCKX IAMA, THOMMA BPHJ, BUCHALA A, MÉTRAUX JP, BROEKAERT WF (1998). Concomitant activation of jasmonate and ethylene response pathways is required for induction of a plant defensin gene in Arabidopsis. *Plant Cell*, 10 : 2103-13.
10. ECKER JR (1995). The ethylene signal transduction pathway in plants. *Science*, 268 : 667-75.
11. BLÉE E (1998). Phytooxylipins and plant defense reactions. *Prog Lipid Res*, 37 : 33-72.
12. GÖBEL C, FEUSSNER I, SCHMIDT A, *et al.* (2001). Oxylipin profiling reveals the preferential stimulation of the 9-lipoxygenase pathway in elicitor-treated potato cells. *J Biol Chem*, 276 : 6267-73.
13. WEBER H, CHÉTELAT A, CALDELARI D, FARMER EE (1999). Divinyl ether fatty acid synthesis in late blight-diseased potato leaves. *Plant Cell*, 11 : 485-94.
14. WEICHERT H, STENZEL I, BERNDT E, WASTERNAK C, FEUSSNER I (1999). Metabolic profiling of oxylipins upon salicylate treatment in barley leaves - preferential induction of the reductase pathway by salicylate. *FEBS Lett*, 464 : 133-7.

15. BLÉE E, JOYARD J (1996). Enveloppe membranes from spinach chloroplasts are a site of metabolism of fatty acid hydroperoxides. *Plant Physiol* 110 : 445-54.
16. CREELMAN RA, MULLET JE (1997). Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 48 : 355-81.
17. BERGEY D, HOWE G, RYAN C (1996). Polypeptide signaling for plant defensive genes exhibits analogies to defense signaling in animals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93 : 12053-8.
18. STINTZI A, WEBER H, REYMOND P, BROWSE J, FARMER EE (2001). Plant defense in the absence of jasmonic acid: the role of cyclopentenones. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 12837-42.
19. STINTZI A, BROWSE J (2000). The Arabidopsis male-sterile mutant, *opr3*, lacks the 12-oxophytodienoic acid reductase required for jasmonate synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97 : 10625-30.
20. SEO HS, SONG JT, CHEONG JJ, *et al.* (2001). Jasmonic acid carboxyl methyltransferase: a key enzyme for jasmonate-regulated plant responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98 : 4788-93.
21. WEILER EW, ALBRECHT T, GROTH B, *et al.* (1993). Evidence for the involvement of jasmonates and their octadecanoid precursors in the tendril coiling response of *Bryonia dioica*. *Phytochemistry*, 32 : 591-600.
22. SCHALLER F (2001). Enzymes of the biosynthesis of octadecanoid-derived signalling molecules. *J Exp Bot*, 52 : 11-23.
23. RUSTÉRUCCI C, MONTILLET JL, AGNEL JP, *et al.* (1999). Involvement of lipoxygenase-dependent production of fatty acid hydroperoxides in the development of the hypersensitive cell death induced by cryptogein on tobacco leaves. *J Biol Chem*, 274 : 36446-55.
24. CROFT KPC, JÜTTNER F, SLUSARENKO AJ (1993). Volatile products from the lipoxygenase pathway evolved from *Phaseolus vulgaris* (L.) leaves inoculated with *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*. *Plant Physiol*, 101 : 13-24.
25. WASTERNAK C, PARTHIER B (1997). Jasmonate-signalled plant gene expression. *Trends Plant Sci*, 2 : 302-7.
26. PENNINGCKX IAMA, EGGERMONT K, TERRAS FRG, *et al.* (1996). Pathogen-induced systemic activation of a plant defense gene in Arabidopsis follows a salicylic acid-independent pathway. *Plant Cell*, 8 : 2309-23.
27. THOMMA BPHJ, EGGERMONT K, PENNINGCKX IAMA, *et al.* (1998). Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in Arabidopsis are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95 : 15107-11.
28. PIETERSE CMJ, LOON LCV (1999). Salicylic acid-independent plant defence pathways. *Trends Plant Sci*, 4 : 52-58.

29. RANCÉ I, FOURNIER J, ESQUERRÉ-TUGAYÉ MT (1998). The incompatible interaction between *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* race 0 and tobacco is suppressed in transgenic plants expressing antisense lipoxygenase sequences. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95 : 6554-9.
30. VANCANNEYT G, SANZ C, FARMAKI T, *et al.* (2001). Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to an increase in aphid performance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98 : 8139-44.
31. DHONDT S, GEOFFROY P, STELMACH B, LEGRAND M, HEITZ T (2000). Soluble phospholipase A<sub>2</sub> activity is induced before oxylipin accumulation in tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves and is contributed by patatin-like enzymes. *Plant J*, 23 : 431-40.
32. KAWAKITA K, SENDA K, DOKE N (1993). Factors affecting *in vitro* activation of potato phospholipase A<sub>2</sub>. *Plant Sci*, 92 : 183-90.
33. ROY S, POUÉNAT ML, CAUMONT C, CARIVEN C, PRÉVOST MC, ESQUERRÉ-TUGAYÉ MT (1995). Phospholipase activity and phospholipid patterns in tobacco cells treated with fungal elicitor. *Plant Sci*, 107 : 17-25.
34. CHANDRA S, HEINSTEIN P, LOW P (1996). Activation of phospholipase A by plant defense elicitors. *Plant Physiol*, 110 : 979-86.
35. ANDREWS DL, BEAMES B, SUMMERS MD, PARK WD (1988). Characterization of the lipid acyl hydrolase activity of the major potato (*Solanum tuberosum*) tuber protein, patatin, by cloning and abundant expression in a baculovirus vector. *Biochem J*, 252 : 199-206.
36. MATOS AR, D'ARCY-LAMETA A, FRANÇA M, *et al.* (2001). A novel patatin-like gene stimulated by drought stress encodes a galactolipid acyl hydrolase. *FEBS Lett*, 491 : 188-92.
37. BAILLIEUL F, GENETET I, KOPP M, SAINDRENAN P, FRITIG B, KAUFFMANN S (1995). A new elicitor of the hypersensitive response in tobacco: a fungal glycoprotein elicits cell death, expression of defence genes, production of salicylic acid, and induction of systemic acquired resistance. *Plant J*, 8 : 551-60.

## Illustrations

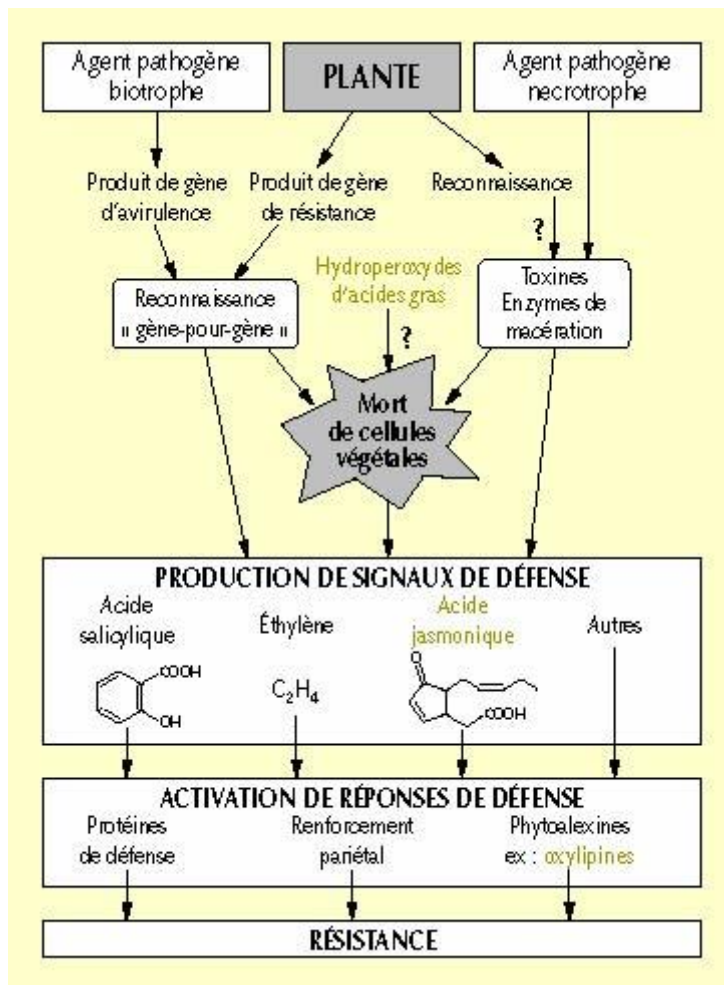


Figure 1. Événements de reconnaissance, de signalisation et réactions de défense conduisant à la mise en place d'un état de résistance. Les différents niveaux d'intervention d'oxylipines sont indiqués en couleur.

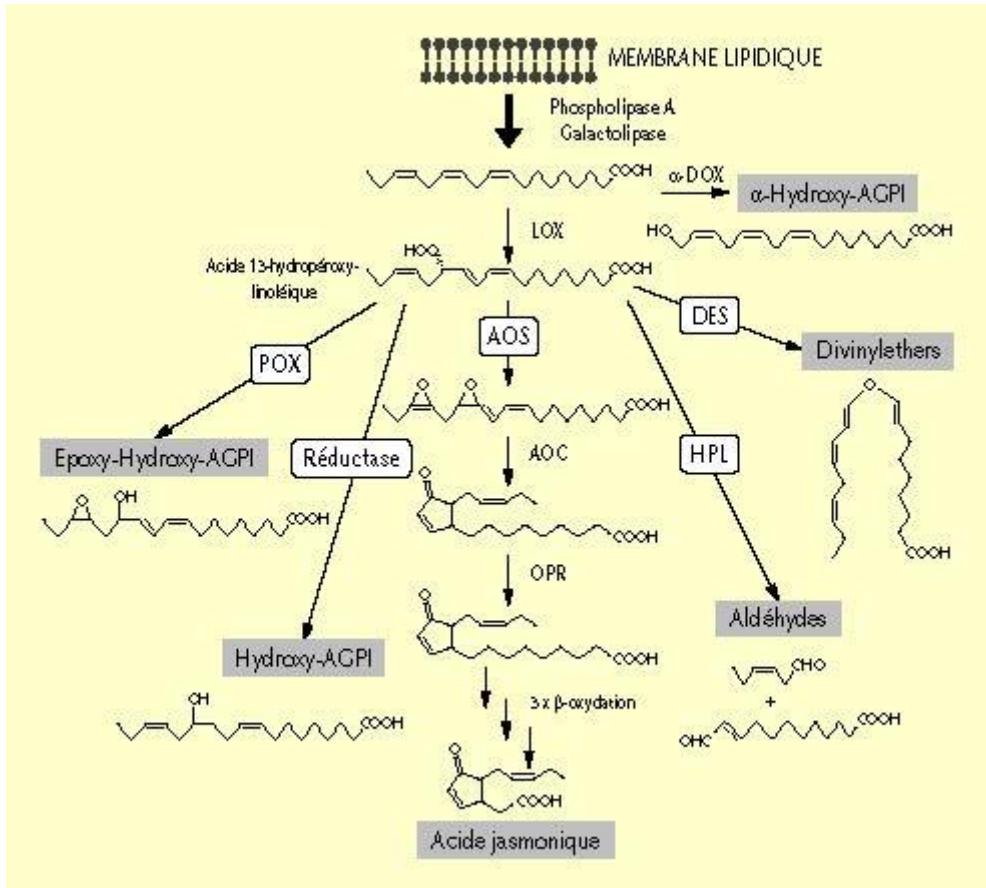


Figure 2. Schéma simplifié de la voie de biosynthèse des oxylipines par l'action d'une 13-LOX sur l'acide linoléique. La voie de biosynthèse de l'acide jasmonique est détaillée. AGPI : acide gras polysaturé ; AOC : allène oxyde cyclase ; AOS : allène oxyde synthase ; DES : divinyléther synthase ; alpha-DOX : alpha-dioxygénase ; HPL : hydroperoxyde lyase ; LOX : lipoxygénase ; OPR : 12-oxo-phytyldiénoate réductase ; POX : peroxygénase.

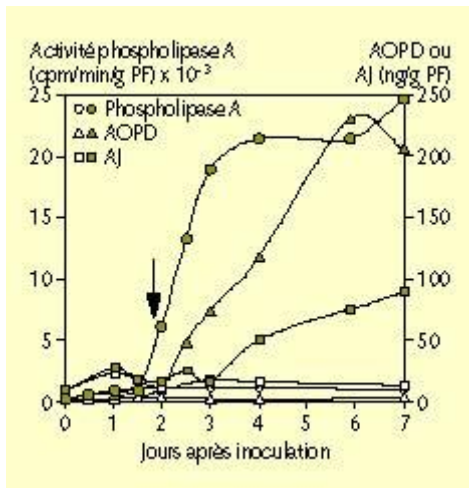


Figure 3. Évolution de l'activité phospholipase  $A_2$  et des niveaux de jasmonates (AOPD : acide 12-oxo-phytyldiénoïque et AJ : acide jasmonique) au cours de la réaction d'hypersensibilité du tabac au virus de la mosaïque du tabac. La flèche montre le temps où apparaissent les lésions nécrotiques. Symboles vides : plantes non infectées ; symboles jaunes : plantes infectées (adapté de Dhondt et al., (2000)).

Sécheresse	Blessure	MJ	ACC	ACC-MJ	AS	FAO	VMT	$\beta$ -meg	<i>E. carotovora</i>	<i>B. cinerea</i>
-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
				+			+	+	+	+

Figure 4. Effet de différents stimulus sur l'activité  $PLA_2$  codée par les gènes NtPat. ACC : acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique ; AS : acide salicylique ; B. cinerea : Botrytis cinerea ; E. carotovora : Erwinia carotovora ; FAO : formes activées de l'oxygène ; beta-meg : beta-mégaspermine ; MJ : méthyle jasmonate ; VMT : virus de la mosaïque du tabac.