

RESUME DE THESE

Domaine : Sciences de la Vie

Spécialité : Biologie Appliquée et Environnement

UFR : Biologie Appliquée et Valorisation des Ressources Naturelles

Co-Directeurs de thèse : Pr. Fouad SAYAH & Pr. René LAFONT

Responsable de l'UFR : Professeur Fouad SAYAH

Titre de la thèse :

*Étude de la voie de biosynthèse des phytoecdystéroïdes et de sa régulation chez l'épinard
(Spinacia oleracea L.)*

Prénom & Nom : Ahmed BAKRIM

Résumé :

Au cours de l'évolution, les plantes ont développé des systèmes de défense par des métabolites secondaires en réponse aux différentes contraintes de l'environnement auxquelles elles ont été tenues de s'adapter pour maintenir leur existence. Les phytoecdystéroïdes (PEs) font partie des métabolites secondaires ; ce sont des analogues des hormones de mue des insectes, qui jouent un rôle dans la défense des plantes contre les insectes phytophages non adaptés et les nématodes de sol. En effet, ces composés peuvent avoir soit des effets toxiques en perturbant le développement de l'insecte (induction de mues surnuméraires), soit des effets anti-appétents. Ils sont produits par de nombreuses espèces de plantes sauvages (6% des 5000 espèces étudiées à ce jour) appartenant à différents groupes phylogénétiques, et cette distribution laisse penser que les gènes nécessaires à la synthèse des PEs sont présents chez toutes les plantes. Les mécanismes qui inhiberaient cette synthèse chez la majorité des espèces cultivées ne sont pas connus à ce jour. Activer cette voie métabolique chez une plante cultivée permettrait à celle-ci de se protéger elle-même contre les ravageurs en évitant le recours à des pesticides. Le travail de cette thèse a pour but de mieux comprendre la biosynthèse des PEs et sa régulation chez une plante-modèle, l'épinard, une des rares plantes cultivées produisant de quantités importantes des PEs.

Dans une première partie de ce travail, nous avons analysé la nature des PEs accumulés par cette plante, leur stabilité et leur distribution au cours de l'ontogenèse. Les résultats ont montré que la 20-hydroxyecdysone (20E) est le PE majoritaire, dont la stabilité métabolique permet son accumulation progressive au cours de l'ontogenèse. Ce composé se redistribue continuellement au profit des feuilles les plus jeunes (organes "puits") aux dépens des feuilles âgées (organes "source").

Une seconde partie a consisté à étudier la biosynthèse de la 20E à partir d'acide mévalonique (=AMV) radiomarqué au ¹⁴C ainsi que de plusieurs intermédiaires tritiés de la voie de biosynthèse des ecdystéroïdes chez les arthropodes. Cette approche a permis de montrer que seules les feuilles âgées sont aptes à réaliser la biosynthèse dans sa totalité, tandis que les jeunes feuilles apicales, lieu d'accumulation des PEs, ne sont par contre aptes à réaliser que certaines étapes terminales, dont la 2-hydroxylation. Les marquages utilisant la 2-désoxyecdysone (2dE) tritiée ont montré que, contrairement aux insectes, la C-20 hydroxylation précède la C-2 hydroxylation chez l'épinard. L'enzyme responsable de cette dernière réaction (la C2-hydroxylase) a une localisation microsomale chez l'épinard alors qu'elle est mitochondriale chez les insectes. Ces deux résultats, s'ajoutant aux données de la littérature, montrent que les voies de biosynthèse des ecdystéroïdes diffèrent fortement entre les plantes et les insectes.

La troisième partie de ce travail a eu pour but de mieux comprendre comment est régulée la biosynthèse de la 20E au cours du développement de l'épinard. Deux approches complémentaires ont été entreprises, reposant d'une part sur des expériences d'ablations de feuilles apicales (puits) ou basales (sources) et d'autre part sur des surcharges par de la 20E réalisées sur des feuilles excisées. Ces travaux ont montré que l'exportation de la 20E produite dans les feuilles âgées est nécessaire pour que la synthèse y soit continue et que la forte accumulation de la 20E dans les feuilles apicales inhibe la biosynthèse de PEs dans celles-ci.

Notre étude a permis ainsi de mettre en évidence une relation étroite entre la biosynthèse et le mouvement de la 20E dans la plante. Le travail de caractérisation des différentes enzymes devra être poursuivi et permettra de mieux comprendre la séquence des réactions de biosynthèse et les niveaux de régulation.