

Les Peroxydases des plantes. Aspect théorique et Applications pratiques

Liens web : <http://www.biotech-ecolo.net>

M. BAAZIZ¹, N. QACIF¹, BENDIAB, K^{1,2} & A. AOUAD¹

¹ Equipe de Biochimie et Biotechnologies des Plantes, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences-Semialia, B.P. 2390, Marrakech, Maroc. E-mail : baaziz@ucam.ac.ma

² Département de Biologie, Faculté des Sciences et Techniques de Guéliz, B.P 618, Marrakech, Maroc

Les peroxydases (EC 1.11.1.7), enzymes catalysant l'oxydation de plusieurs substrats en présence du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), sont impliquées dans plusieurs processus physiologiques dont la croissance et la résistance aux contraintes biotiques et abiotiques. La diversité de leurs aspects quantitatif et qualitatif fait de ces oxydo-réductases des marqueurs potentiels chez plusieurs plantes.

Etudiées chez quelques plantes cultivées localement, comme le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), les cucurbitacées et les céréales, les peroxydases se sont révélées présentes sous trois formes dont la fraction soluble (fraction S) et deux formes liées aux parois cellulaires de façon ionique (fraction I) et covalente (fraction C). La séparation des différentes fractions enzymatiques par électrophorèse sur gel de polyacrylamide a permis de mettre en évidence des isoformes acides (séparées en milieu basique) et des isoformes basiques (séparées en milieu acide).

Les changements de l'environnement imposent aux plantes de nouvelles adaptations aux contraintes biotiques et abiotiques. La résistance du palmier dattier à la maladie du 'Bayoud', causée par *Fusarium oxysporum*. fs. *albedinis* (contrainte biotique), est associée à des taux élevés en peroxydases constitutives. Les impacts des contraintes abiotiques comme la salinité pour les céréales et les métaux lourds pour les cucurbitacées restent liés aux contenus des différents cultivars en peroxydases.

Les rôles possibles des différentes formes de peroxydases dans la croissance et la résistance aux contraintes sont discutés le long de cette étude.

Mots clef: peroxydases, contraintes biotiques, contraintes abiotiques, palmier dattier, céréales, cucurbitacées

Introduction

Les peroxydases des plantes (E.C. 1.11.1.7), appelées aussi peroxydases de classe III, catalysent l'oxydation de plusieurs substrats dont les phénols en présence du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

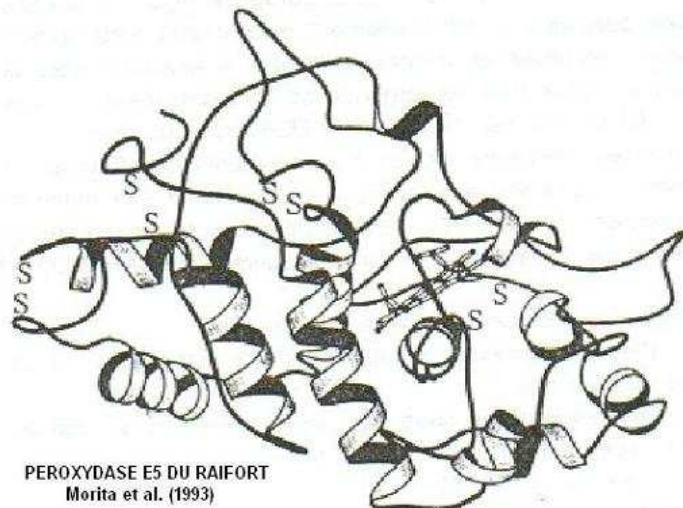


Fig. 1. HRP E5 (36 Kd, PI = 12) : 306 Acides aminés, 2 glucosamines, 8 sucres, Protohématine et 2 ions Ca⁺⁺

Ce sont des glycoprotéines contenant de la ferriprotoporphyrine IX comme groupe prosthétique et du calcium.

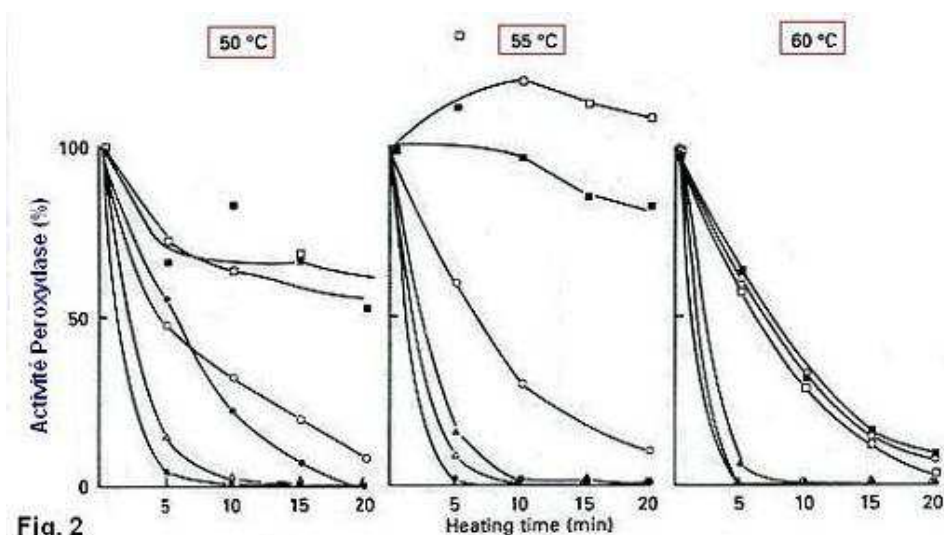
Les peroxydases jouent de grands rôles dans la croissance, le développement et le système de défense des plantes. Ces enzymes forment une famille multigénique. Ainsi, Un séquençage complet a permis de montrer l'existence de 73 gènes codant une peroxydase de classe III chez *Arabidopsis thaliana* (Tognolli et al., 2001). La plupart de ces gènes sont exprimés, soit de façon constitutive, soit à la suite de divers stress. L'isoforme E5 de la peroxydase du raifort de 36 Kd, est constitué de 306 acides aminés, deux glucosamines, huit sucres, une protohématine et deux ions Ca⁺⁺ (Morita et al., 1993) (Fig.1).

Les peroxydases exercent des fonctions diversifiées dans les plantes. Elles utilisent l'eau oxygénée comme accepteur d'électrons provenant de diverses molécules, tels les précurseurs de la lignine ou des phénols (flavonoïdes ou autres). En plus, elles peuvent catalyser l'oxydation de quelques molécules en présence d'oxygène. C'est le cas de l'auxine (acide 3-indolylacétique), une des hormones contrôlant la croissance et la différenciation des plantes.

La catalyse déclenchée par H_2O_2 permet la formation d'enzymes transitoires (composés I et II et III). En réagissant avec un donneur de proton (AH_2), les composés I et II donnent naissance à des radicaux libres (AH) qui peuvent former des polymères en réagissant entre eux. Le mécanisme de catalyse des peroxydases est de type 'ping-pong' donnant lieu à des cinétiques $1/v = f(1/(S))$ sous forme de droites parallèles. Les peroxydases ont longtemps été considérées comme des enzymes impliquées dans des réactions réduisant la croissance des cellules végétales, grâce à la destruction de l'auxine et la formation de liaisons covalentes au sein des parois (Penel et al., 1992). Ce n'est que récemment que certaines d'entre elles ont été décrites comme inducteurs de la croissance en catalysant la formation de radicaux hydroxyles ($\cdot OH$), qui provoquent la scission de certains polymères de la paroi, ce qui assouplit celle-ci, permettant l'extension de la cellule (Schopfer et al., 2002). Cette production revêt également une grande importance dans les mécanismes de défenses des plantes contre les contraintes biotiques et abiotiques. D'autre part, l'implication des peroxydases dans la lignification a été démontrée par transgénèse (Lagrimini, 1991) où les plants de tabac transformés pour un taux élevé en peroxydases montrent une lignification accentuée aboutissant au flétrissement des plantes.

Peroxydases du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) en relation avec la résistance à la fusariose vasculaire 'Bayoud'

Les peroxydases sont abondantes et diversifiées chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) (Majourhat et al. 2002). Extraites des feuilles et testées avec le gaiacol comme substrat, ces enzymes sont hautement résistantes à la dénaturation par chauffage (Fig.2). Elles présentent un pH optimum moyen de 5,0 (Baaziz, 1989).



Inactivation par la température (50°C, 55°C et 60°C) des peroxydases des folioles du palmier dattier (fraction Sephadex G25) préparées à partir des cultivars BSL (□), BZG (■), JHL (○), BFG (●), IKL (▲) et BSTN (△). BAAZIZ, 1989

Testées chez les cultivars adultes de palmier dattier, les peroxydases montrent de grandes activités chez les cultivars résistants à la fusariose vasculaire du dattier causée par *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* (FOA) et appelée localement 'Bayoud'. Les symptômes externes de la maladie

consistent en un flétrissement et un blanchissement des folioles. Les cultivars sensibles donnant plus de rejets à la base des arbres, contiennent moins de peroxydases. D'autre part, l'infestation expérimentale par FOA de plusieurs lots de jeunes plants de palmier dattier issus de graines, a permis de confirmer l'association de la résistance au Bayoud avec des taux élevés en peroxydases constitutives. L'induction de fortes activités enzymatiques au niveau des racines des plants sensibles exposés au champignon peut être considérée comme un indicateur précoce de la mortalité (Table 1).

Table 1. Mortalités de plants de palmier dattier et activités peroxydase (POX) des feuilles enregistrées 21, 40 et 90 jours après infection par FOA, agent causal du Bayoud. Les lots de plants 1-4 sont sensibles aux Bayoud. Les lots de plants 5-7 sont résistants.

	Jours	Lots de plants						
		1	2	3	4	5	6	7
Mortalité (%)	40	3	7	3	5	0	1	0
	90	8	12	6	9	2	5	1
POX (U/g.MF)	21	+ 1326	+ 2428	+ 72	+ 478	- 31	+ 157	-22
	40	+ 198	+ 11	+ 405	+ 50	- 64	- 37	00

Les taux élevés des peroxydases peuvent être à l'origine d'une lignification accentuée chez les plants résistants au Bayoud et/ou une rigidité des parois par formation de ponts diphényles. Peu de changements qualitatifs ont été notés pour les peroxydases séparées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

Les peroxydases en relation avec les contraintes abiotiques.

Les contraintes abiotiques deviennent de plus en plus importantes pour la croissance et le développement des plantes dans des milieux devenus hostiles. C'est le cas, par exemple, de la salinité et des métaux lourds.

Cas des céréales et de la salinité.

L'extraction des peroxydases par solubilisation progressive à partir des feuilles de différentes variétés de céréales (orge, blé dur et blé tendre) a permis de mettre en évidence la présence de ces enzymes sous trois formes enzymatiques.

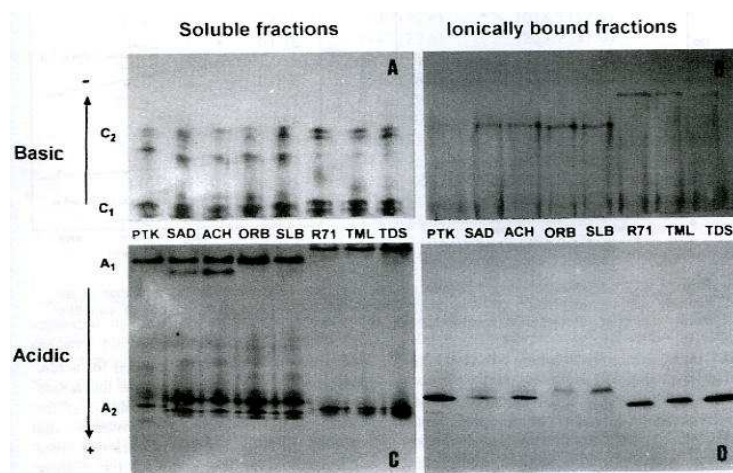
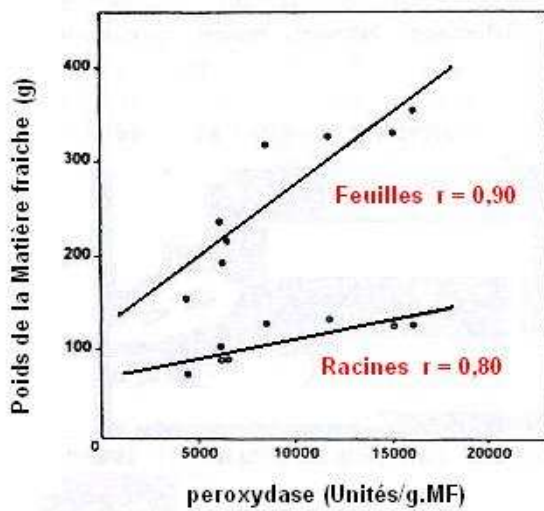


Fig. 3. Zymogramme des peroxydases acides et basiques des fractions enzymatiques solubles et ioniques des feuilles de céréales

Des formes solubles (fractions S) et des formes liées aux parois par des liaisons ioniques (fraction I) ou covalentes (fraction C). Cette dernière fraction reste d'activité très faible. Comme révélé par électrophorèse, chaque fraction enzymatique peut contenir des formes acides, résolues en milieu basique, et des formes basiques, séparées en milieu acide (Fig. 3). Les variétés de céréales peuvent être caractérisées par des isoformes différentes (Aouad et al., 2000).



La salinité affecte particulièrement la croissance des plantes.

La fraction S est relativement plus représentée au niveau des racines (86% de l'activité totale exprimée en unités/g.MF) chez les variétés à croissance rapide. Une corrélation positive entre les peroxydases solubles des racines et des feuilles et leur poids, a été enregistrée (Fig.4).

Fig. 4. Corrélation entre la croissance des céréales et le taux des peroxydases solubles au niveau des feuilles et des racines.

Cas des cucurbitacées et des métaux lourds.

Deux variétés de courgettes (*Cucurbita pepo*) ont été testées pour leur comportement vis à vis des métaux lourds constitués par Zn, Cui et Cd. Par rapport au cultivar 'Courgette d'Italie' (CI), le cultivar 'courgette d'Alger' (CA) est connu par sa tolérance aux métaux lourds (Tahlil et al.2002).

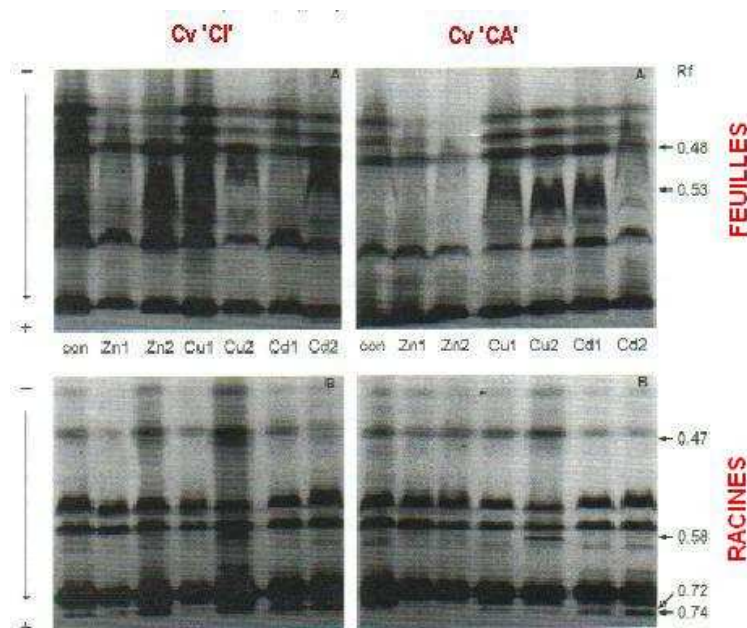


Fig. 5 Séparation par électrophorèse des peroxydases de *Cucurbita pepo*, cultivars 'CI' et 'CA' extraites de jeunes plants cultivés en présence de deux concentrations de 3 métaux lourds, Zn, Cu et Cd

Le contenu en peroxydases constitutives du cultivar CA est relativement faible par rapport à celui du cultivar CI. Par contre, la culture des deux cultivars en présence de concentrations différentes de métaux lourds a permis de révéler des taux élevés de peroxydases induites chez le cultivar CA tolérant aux métaux lourds.

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide a permis de montrer l'induction de nouvelles isoformes de peroxydases au niveau des racines des différents cultivars cultivés en présence d'un métal bien précis (Fig.5).

En général, les aspects quantitatif et qualitatif des peroxydases peuvent être utilisés comme marqueurs de résistance des plantes à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques. Néanmoins, le rôle exact joué par ces enzymes demande encore plus d'investigations.

Références

- AOUAD, A., BAAZIZ, M. & MERGOUM, M. 2000. Quantitative and qualitative aspects of peroxidases in some Moroccan cereal varieties and their relationships with the *in vitro* growth potential. Plant Peroxidase Newsletter 15, 13-21.
- BAAZIZ, M. 1989. The activity and preliminary characterization of peroxidases in leaves of cultivars of date palm, *Phoenix dactylifera* L. New Phytologist 111, 403-411.
- LAGRIMINI, 1991. Altered phenotypes in plants transformed with chimeric tobacco peroxidase genes. In Biochemical, Molecular and Physiological aspects of plant peroxidases, Lobarzewski, H., Greppin, H., Penel, C. & Gaspar, Th. University . Curie-Sklodowska & University of Geneva, pp. 59-67.
- MAJOURHAT, K., BENDIAB, K., MEDRAOUI, L. & BAAZIZ, M. 2002. Diversity of leaf peroxidases in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) as revealed in an example of marginal (seedling-derived) palm groves. Scientia Horticulturae 95, 31-38.
- PENEL, C., GASPAR, Th & GREPPIN, H. 1992. Plant peroxidases 1980-1990. University of Geneva.
- TAHLIL, N., RADA, A., EL GHARMALI, A., BAAZIZ, M. & EL MERAY, M. 2003. Use of peroxidase activity in leaves and roots of two varieties of zucchini (*Cucurbita pepo* L.) as biomarkers of toxicity of soil contaminated by the spread of urban wastes. Agrochimica XLVII (3-4), 241-247.
- TOGNOLLI, M., PENEL, C., GREPPIN, H., SMON, P. 2002. Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana*. Gene 288, 129-138.
- SCHPFER, P., LISZKAY, A., BECHTOLD, M., FRAHRY, G. & WAGNER, A. 2002. Evidence that hydroxyl radicals mediate auxin-induced extension growth. Planta 214, 821-828.