Interactions moléculaires plantes - Potyvirus

E. Redondo, Frederic Revers, Olivier O. Le Gall, Thierry T. Candresse

▶ **To cite this version:**

E. Redondo, Frederic Revers, Olivier O. Le Gall, Thierry T. Candresse. Interactions moléculaires plantes - Potyvirus. Virologie, 2000, 4 (2), pp.95-103. hal-02691305

HAL Id: hal-02691305
https://hal.inrae.fr/hal-02691305

Submitted on 1 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

VIROLOGIE

Interactions moléculaires plantes - Potyvirus

Virologie. Volume 4, Numéro 2, 95-103, Mars - Avril 2000, Revues

Résumé Summary

Auteur(s) : E. REDONDO, F. REVERS, O. LE GALL, T. CANDRESSE, .

Résumé : Depuis quelques années, les chercheurs ont adopté de nouvelles technologies pour étudier le déterminisme du pouvoir pathogène des Potyvirus. Leurs résultats ont permis d'éclaircir certains aspects clés des interactions plante-virus et virus-vecteur. Cette revue présente les avancées récentes dans la compréhension du déterminisme des symptômes, de la transmission du virus par la graine, ainsi que la résistance naturelle et induite aux Potyvirus. De très récents développements dans le domaine de l'inactivation génique post-transcriptionnelle indiquent non seulement que ce processus est fondamental pour la résistance induite, mais souligne aussi plusieurs aspects de la biologie des virus de plantes.

Mots-clés : Potyvirus – Mouvement de cellule à cellule – Mouvement à longue distance – HC-Pro.

Illustrations

ARTICLE

Le genre *Potyvirus* est le plus important des virus de plantes, causant des pertes significatives dans les cultures [1]. Les virus de ce genre sont transmis par puceron selon un mode non persistant, certains étant aussi transmis par la graine [1]. Leur génome est constitué d'une molécule d'ARN simple brin codant pour une polyprotéine maturée par trois protéinases virales *(figure 1)*.

Des avancées substantielles ont été faites ces dernières années dans notre compréhension de la biologie moléculaire des interactions entre les *Potyvirus* et leurs hôtes. Ces avancées ont été possibles grâce à la connaissance des séquences nucléotidiques complètes des génomes viraux, à la construction de molécules infectieuses à partir d'ADNc viraux clonés [1], aux techniques de mutagenèse et à la construction de virus hybrides recombinants. De plus, l'insertion de gènes marqueurs dans des génomes viraux a été cruciale. Il s'agit en particulier du gène *uidA* codant pour la ß-glucuronidase (GUS) et du gène *gfp* provenant de *Aequorea victoria* et codant pour la protéine verte fluorescente (GFP). Le système double hybride dans la levure pour l'analyse des interactions entre protéines est disponible commercialement et l'expansion rapide de la génétique et des ressources bio-informatiques va permettre l'identification et la caractérisation des gènes de l'hôte (particulièrement pour la plante modèle *Arabidopsis thaliana*).

Une infection systémique a lieu quand un virus est capable de se déplacer vers les régions distales de la plante, après une étape d'amplification du génome, à partir d'un foyer d'infection primaire [2]. Pour cela, l'unité infectieuse doit être capable de passer de cellule à cellule à travers les plasmodesmes, puis à plus longue distance à travers le phloème. Au passage de chacune de ces étapes, le virus se trouve confronté aux mécanismes de défense naturels, passifs ou actifs, de son hôte ; l'infection systémique est en général accompagnée d'une désactivation, ou au minimum du contournement, de ces systèmes de défense.

Nous traiterons ici des avancées récentes sur les déterminants moléculaires de l'hôte et du virus ayant un rôle significatif durant ces différentes étapes de l'infection virale. Nous n'exposerons pas le modèle déjà bien décrit de la transmission par puceron des *Potyvirus* [3] car il ne concerne pas les interactions plante-virus à proprement parler. De même, nous n'aborderons pas le cas où les interactions plante-virus se bornent à la réaction d'hypersensibilité provoquée par une protéine virale, dite facteur d'avirulence, qui n'offre pas de spécificité dans le cas des *Potyvirus* par rapport à la généralité des agents phytopathogènes.

Amplification du génome

L'amplification du génome des *Potyvirus* requiert deux processus fondamentaux : la traduction de l'ARN viral pour la synthèse des protéines spécifiques au virus et la réplication de l'ARN. Ces deux processus étant étroitement liés, il est parfois difficile de définir si une protéine particulière est impliquée dans la fonction de réplication ou de traduction. De plus, les processus de réplication de l'ARN et de traduction sont probablement regroupés dans l'espace et chronologiquement.

Au cours de la traduction des ARNm eucaryotiques, la coiffe en 5' et la séquence polyadénylée en 3' ont un rôle fondamental. L'ARN des *Potyvirus* diffère des ARNm de l'hôte par la présence d'une protéine VPg liée de façon

covalente en 5', et non d'une structure coiffée. Gallie *et al*. [4] ont montré pour le *Tobacco etch virus* (TEV) que la région 5' non traduite (NTR) se substitue à la coiffe 5' dans l'interaction avec le poly-A en 3' en se liant peut-être aux facteurs de traduction avant le recrutement des ribosomes. Le système double hybride chez la levure a permis de mettre en évidence une interaction entre la VPg du *Turnip mosaic virus* (TuMV) et le facteur d'initiation de la traduction eIF(iso)4E d'*Arabidopsis thaliana* [5]. Cette interaction pourrait avoir une signification en termes de recrutement des ribosomes en 5' de l'ARN des *Potyvirus*.

La réplication de l'ARN viral se fait grâce à des complexes de réplication associés à des membranes de type réticulum endoplasmique (TEV [6]). La protéine 6K2 pourrait agir dans ce processus comme une ancre membranaire. La nature du complexe de réplication n'est pas encore bien définie dans le cas des *Potyvirus*, mais l'activité ARN-polymérase de NIb, la fonction cis-réplicative de NIa et, surtout, l'interaction physique entre NIa et NIb laissent à penser que ces protéines sont des composants de ce complexe [7]. Des études par mutagenèse ont aussi montré que les protéines P1, HC-Pro et P3 sont impliquées dans l'amplification génomique des *Potyvirus*
[8, 7]. De plus, la région codant pour la protéine de capside (CP) et la 3' NTR, ainsi que la traduction elle-même de la CP semblent nécessaires à la réplication chez le TEV [7].

Mouvement de cellule à cellule

Le mouvement de cellule à cellule s'effectue grâce aux plasmodesmes, canaux membranaires qui assurent la continuité symplastique entre cellules. Le transport des molécules de plus de 1 kd à travers les plasmodesmes nécessite une augmentation de la taille limite d'exclusion (SEL) de ceux-ci, réalisée par des molécules chaperons endogènes. Dans le cas du passage du matériel viral de cellule à cellule, il a été démontré que des protéines virales appelées protéines de mouvement sont capables d'augmenter la SEL et de permettre ainsi le mouvement viral (pour revue, voir [2]). Cependant une étude récente souligne que la présence de molécules chaperons n'est pas requise pour le passage des protéines de plus de 50 kd dans les tissus puits [9].

L'évidence génétique que la CP est requise pour le mouvement des *Potyvirus* a été apportée par Dolja *et al*. [10-11]. La CP des *Potyvirus* est une protéine comportant trois domaines avec des régions amino- et carboxy-terminales exposées sur la surface de la particule et un domaine central conservé qui interagit avec l'ARN viral [1]. Dolja *et al*. [10-11] ont obtenu des mutants dans le domaine central de la CP du TEV-GUS. Tous ces mutants sont déficients dans le mouvement de cellule à cellule et dans l'assemblage du virion.

Plusieurs études ont impliqué la protéine CI, une hélicase à ARN, dans le mouvement de cellule à cellule des *Potyvirus*. L'observation par microscopie électronique a montré que cette protéine forme des agrégats en forme de roues à aube ou inclusions cylindriques dans le cytoplasme des cellules infectées [1]. Ces inclusions sont fréquemment observées près des plasmodesmes [12]. Certains mutants de la CI du TEV sont incapables de se répliquer dans les protoplastes infectés, ce qui confirme que la protéine CI est requise pour la réplication du génome, mais d'autres, mutés dans la région amino-terminale de cette protéine sont déficients dans le mouvement de cellule à cellule [13] alors que leur réplication n'est pas affectée.

Le rôle de la CI et de la CP dans le mouvement de cellule à cellule a été confirmé par des études ultrastructurales de tissus, combinés avec un immunomarquage à l'or des protéines virales. Dans des tabacs et des pois infectés par le *Tobacco vein mottling virus* (TVMV ; [14]) et le *Pea seed borne mosaic virus* (PSbMV ; [15]), un canal continu contenant de la CP a été observé à un stade précoce de l'infection, à travers le centre des inclusions cylindriques et des plasmodesmes. Dans les tabacs infectés, l'ARN du TVMV a été identifié par hybridation *in situ* dans ces structures. Derrière le front d'infection du PSbMV, les inclusions ne sont plus associées ni avec la paroi cellulaire, ni avec la CP, et s'accumulent en structures caractéristiques en roues à aube dans le cytoplasme [15]. Ces deux études proposent que les inclusions cylindriques fonctionnent transitoirement pour transférer les complexes viraux de cellule à cellule à travers les plasmodesmes.

Il a été suggéré aussi que la VPg pourrait avoir un rôle dans le mouvement de cellule à cellule des *Potyvirus*. Par mutagenèse dirigée et construction de TVMV chimériques, les déterminants viraux du contournement de la résistance sur *Nicotiana tabacum* TN86, porteur du gène de résistance récessif *va*, ont été identifiés au niveau de la VPg [16]. L'expression phénotypique de cette résistance est un confinement de l'infection aux cellules initialement infectées, suggérant un mouvement restreint du virus [17]. Dans des expériences de co-inoculation, il n'y a pas de complémentation des souches incapables d'envahir TN86 par des souches qui en sont capables. Cependant, le gène *va* a aussi un effet sur l'accumulation virale [17], ce qui ouvre l'hypothèse que le rôle de la VPg dans le mouvement serait peut-être indirect et résulterait de sa fonction dans la réplication.

De même, plusieurs mutants dans la HC-Pro du TEV se déplacent de cellule à cellule moins efficacement que les virus parentaux [18], ce qui peut être un effet soit d'un rôle direct de cette protéine dans le mouvement du virus, soit d'un rôle indirect *via* un effet sur l'accumulation virale [8, 19], comme on le détaillera plus loin.

Des expériences de micro-injection de certaines protéines du *Bean common mosaic necrosis virus* et du *Lettuce mosaic virus* exprimées chez *Escherichia coli* ont permis de montrer que la CP et la HC-Pro augmentent la SEL des plasmodesmes et facilitent le mouvement de l'ARN viral de cellule à cellule [18], un des effets attendus des protéines de mouvement virales. La micro-injection de la CI ou de la NIa (qui contient le domaine VPg) n'induit pas ces effets.

L'ensemble de ces travaux montre qu'au moins deux protéines virales, la CI et la CP, peuvent être considérées comme des protéines de mouvement, bien que la première n'ait pas d'effet sur la SEL. Par ailleurs, la HC-Pro modifie cette propriété et la VPg pourrait, elle aussi, être impliquée dans ce processus. Selon le modèle proposé par Carrington *et al*. [13], la protéine CI pourrait diriger la translocation intracellulaire vers les plasmodesmes du

complexe viral de transport, qui inclut la CP. Ainsi, la CP pourrait interagir avec les plasmodesmes pour augmenter la SEL, et la CI aurait comme fonction de positionner le complexe viral au niveau des plasmodesmes, et de le faire passer dans les cellules adjacentes. Dans les prochaines années il s'agira de découvrir la nature du complexe viral de transport. Pour l'instant rien ne prouve que les *Potyvirus* se déplacent de cellule à cellule sous forme de virions, même si la CP semble impliquée dans ce processus.

Mouvement à longue distance

Le mouvement à longue distance résulte du mouvement de l'agent infectieux à partir du mésophylle *via* les cellules du parenchyme périvasculaire, le parenchyme phloémien et les cellules compagnes, dans les éléments de la sève phloémienne, par translocation passive dans le phloème, et relargage à un site distant pour y établir d'autres foyers d'infection (voir [2] pour revue).

Au moins trois protéines virales (CP, HC-Pro et VPg) semblent impliquées dans le mouvement à longue distance des *Potyvirus*. Des mutants de TEV-GUS avec des délétions dans les domaines amino- et carboxy-terminaux de la CP produisent des virions *in vivo*, mais les virus sont déficients dans le mouvement à longue distance dans les plantes [11].

D'autres analyses ont montré que la région centrale conservée de la HC-Pro a un rôle dans le mouvement à longue distance des *Potyvirus* [8, 19]. Un mutant du TVMV portant des insertions dans la partie amino-terminale de la HC-Pro ne migre pas de façon systémique [8].

L'implication de la VPg dans le mouvement à longue distance a été proposée à partir de l'analyse de TEV recombinants construits entre des souches qui diffèrent dans leur capacité à envahir *N. tabacum* V20 de façon systémique [20]. La souche HAT du TEV montre un phénotype restreint au mouvement de cellule à cellule dans *N. tabacum* V20, mais induit une infection systémique dans le cultivar Havana 425. La souche Oxnard du TEV est capable d'induire une infection systémique sur les deux cultivars. Pour identifier les déterminants du mouvement hôte-spécifique du TEV, des génomes viraux chimériques ont été construits entre TEV-HAT et TEV-Oxnard. Les virus chimériques contenant le domaine VPg du TEV-Oxnard sont capables d'infecter le *N. tabacum* V20 de façon systémique, démontrant l'implication de la VPg dans le mouvement à longue distance.

Comme la CP est une protéine structurale et que la VPg est liée de façon covalente à l'ARN viral, ces deux protéines sont probablement incluses dans le complexe viral de transport et pourraient interagir avec les facteurs de l'hôte pour un mouvement efficace à travers la plante. On connaît au moins quatre facteurs de l'hôte pour le moment. Une ségrégation résultant d'un croisement entre les cultivars de *N. tabacum* V20 et Havana 425 [21] suggère que la restriction du TEV dans V20 est due à deux gènes récessifs. Les loci dominants monogéniques (RTM1 et RTM2) d'*A. thaliana*, conférant un phénotype d'infection restreinte du TEV [22], sont les derniers facteurs. Récemment le gène *RTM1* d'*A. thaliana* a été cloné [23] et son analyse a révélé qu'il code pour une protéine montrant une homologie à la jacaline, une lectine atypique. Ce type de protéine comportant des séquences jacaline-*like* est impliqué dans les processus de défense contre les virus, les champignons et les insectes [23].

HC-Pro, un suppresseur viral de la défense des plantes

Lors d'une infection virale, la plante hôte met en jeu des mécanismes de défense qui visent à limiter le virus à une ou quelques cellules de la feuille inoculée. Ces mécanismes de défense ne sont pas encore totalement élucidés mais de récents travaux en ont permis une meilleure compréhension.

Avec l'obtention de plantes transgéniques rendues résistantes au TEV par l'expression du gène de la CP sous une forme non traduisible, Lindbo et Dougherty [24] ont démontré que ce type de résistance implique l'ARN du transgène et du virus. Le mécanisme proposé pour expliquer cette résistance est basé sur la dégradation spécifique de l'ARN portant la séquence virale, que ce soit le transgène ou l'ARN viral par des ribonucléases cellulaires : c'est le phénomène de co-suppression ou d'extinction génique post-transcriptionnelle *(figure 2)*, qui conduit à la dégradation spécifique des ARN dérivant du transgène et aussi des ARN viraux homologues. Cependant, ce mécanisme, d'abord détecté dans des plantes transgéniques, existe naturellement. En effet, des plantes non transgéniques infectées par un *Nepovirus*, le *Tomato black ring virus* (TBRV), sont capables de récupérer, c'est-à-dire que les feuilles formées quelques temps après l'inoculation sont asymptomatiques, contiennent une faible concentration de virus et sont immunes à une seconde inoculation [26]. Ce phénomène ressemble fortement, par ses propriétés, à celui décrit ci-dessus, et le TBRV semble donc déclencher chez la plante une réaction d'extinction qu'il n'est pas capable de surmonter. Cette réaction de la plante a été dénommée RMD, pour *RNA-mediated defence* (défense *via* l'ARN). De plus, la RMD semble aussi impliquée dans un phénomène connu depuis longtemps, et parfois exploité en agriculture, la prémunition de plantes contre une souche virale forte par leur infection préalable par une souche faible [27]. Trois hypothèses peuvent alors expliquer le déroulement ininterrompu des infections par les autres virus de plantes : soit ils ne déclenchent pas ce phénomène, soit ils interfèrent avec, soit enfin ils y sont insensibles. Chez les *Potyvirus*, il semble que la seconde hypothèse soit la bonne.

Plusieurs types d'expériences ont été menées afin de découvrir les protéines impliquées dans cette interférence chez les *Potyvirus*. D'une part des plantes transgéniques, dont l'expression du transgène (*uidA* ou *gfp*) est éteinte par co-suppression, ont été inoculées avec un vecteur viral exprimant la HC-Pro : ces plantes expriment de nouveau les gènes rapporteurs [28-29]. D'autre part, les croisements génétiques entre des lignées de tabac transgéniques exprimant une protéine de fusion P1/HC-Pro capable d'autoclivage libérant la HC-Pro et des lignées où l'expression d'un gène marqueur (*uidA* ou *gfp*) est éteinte ont une descendance chez laquelle la fonction du gène marqueur est restaurée [28, 30]. Enfin, l'analyse du phénomène de synergie entre *Potyvirus* et virus appartenant à d'autres genres

a montré que la HC-Pro pourrait agir comme un facteur de la pathogénicité [31-33] en interférant avec la réponse de l'hôte qui limite normalement l'infection virale. Plusieurs groupes [28, 33] ont montré que c'est la région centrale de la HC-Pro qui induit les effets synergiques dans la co-infection avec d'autres virus et la suppression de l'inactivation génique. Cette propriété de HC-Pro est accentuée en présence de la P1 [30].

En plus de ses fonctions dans la maturation protéolytique de la polyprotéine, de facteur assistant de la vection par pucerons, la HC-Pro joue donc un rôle essentiel en désactivant la capacité des plantes à se défendre contre l'infection virale. Il n'est pas impossible que cette fonction soit liée à l'implication de la HC-Pro dans le mouvement à longue distance, signalée plus haut. Cette découverte est très importante dans la mesure où, de la même façon, dans bon nombre de cas, des efficacités différentes des HC-Pro de différents isolats de *Potyvirus* pourraient entraîner en des positions différentes de l'équilibre dynamique entre virus et hôte, reflétées par des propriétés biologiques différentes.

Expression des symptômes induits par le virus

La nature et l'importance des symptômes dépendent du génotype de l'hôte, de l'isolat viral et des conditions environnementales. La plupart des *Potyvirus* induisent des symptômes forts, causant souvent un rabougrissement important des plantes infectées et des pertes dans les cultures. Ils induisent généralement des lignes longitudinales chlorotiques et nécrotiques sur les feuilles des espèces monocotylédones et un éclaircissement chlorotique des nervures, une mosaïque, des nécroses et/ou une distorsion des feuilles chez les espèces dicotylédones. Les fleurs, les graines et les fruits sont eux aussi affectés par de nombreux *Potyvirus* [1].

Dans la plante, des changements biochimiques accompagnent l'infection virale, mais il est difficile de distinguer entre cause et conséquence de l'expression des symptômes. L'analyse des changements au niveau de l'expression des gènes de l'hôte, en l'occurrence le pois, a été menée au niveau du front d'infection du PSbMV. Elle a révélé l'existence d'une zone étroite derrière le front d'infection, dans laquelle les changements induits concernent une régulation négative de plusieurs gènes de l'hôte et d'une zone qui se superpose, bien que plus étroite, dans laquelle d'autres gènes de l'hôte sont induits sélectivement [34].

Plusieurs régions du génome des *Potyvirus* semblent avoir un rôle dans l'expression des symptômes *(figure 3)*. En dépit de toutes ces informations mettant particulièrement en avant les régions non codantes, HC-Pro, P3 et VPg, il n'est pas encore possible d'identifier des principes communs à tous les *Potyvirus* pour rendre compte de la formation des symptômes.

Notre compréhension incomplète de l'expression des symptômes reflète notre manque de connaissance des protéines de l'hôte qui interagissent avec les protéines virales. Jusqu'à présent, seules deux interactions potentielles ont pu être identifiées : l'interaction entre la VPg du TuMV et eIF(iso)4E [5] décrite précédemment et l'identification par McClintock *et al*. [41] d'une protéine de 37 kd localisée dans les chloroplastes qui interagit avec la CP du TuMV. La signification de ces interactions pour la réplication virale ou l'expression des symptômes n'est pas encore connue.

Transmission par la graine des *Potyvirus*

Certains *Potyvirus* sont transmis par la graine. La transmission par la graine des *Potyvirus* a surtout été étudiée lors de l'infection du pois par le PSbMV [42-44]. Dans ce cas, le virus infecte l'embryon immature après fécondation plutôt que *via* les gamètes infectés [43]. Certains *Potyvirus* peuvent pourtant être transmis par les deux voies simultanément [45].

De multiples déterminants viraux [42] et plusieurs gènes de l'hôte exprimés dans les tissus maternels [44] semblent être impliqués dans le déterminisme du niveau de transmission par la graine du PSbMV. La construction d'hybrides entre les isolats du PSbMV DPD-1 (transmissible) et NY (non transmissible) permet de localiser les déterminants dans les régions 5' NTR, HC-Pro et CP du génome. On l'a vu précédemment, ces régions sont également importantes pour la réplication et le mouvement du virus. À partir d'une analyse spatiale de l'accumulation du virus durant le processus de transmission par la graine, Wang et Maule [43-44] proposent que le virus exploite le suspenseur embryonnaire pour envahir l'embryon. Puisque le suspenseur est une structure programmée qui dégénère tôt au cours du développement, un mouvement du virus dans la plante, assez efficace pour envahir la graine immature à temps, serait un facteur-clé de la transmission par la graine *(figure 4)*.

Résistance naturelle ou induite

La résistance non hypersensible aux *Potyvirus* peut impliquer des gènes dominants, incomplètement dominants ou récessifs, alors que la résistance hypersensible est contrôlée surtout par des gènes dominants simples [46]. Sur l'ensemble des gènes de résistance aux *Potyvirus*, 40 % sont récessifs (20 % pour les autres groupes viraux [47]). Tandis que la base moléculaire de la résistance associée à l'hypersensibilité paraît avoir des traits communs pour une série d'hôtes et de pathogènes [48], peu d'éléments sont connus à propos de la nature des gènes de résistance récessifs. Plusieurs hypothèses pourraient expliquer le rôle de ces résistances : 1) il manque à l'hôte résistant une fonction essentielle pour une des étapes du cycle viral ; en d'autres termes, l'allèle dominant code pour une de ces fonctions permettant l'infection virale ; 2) l'allèle sensible code pour un régulateur négatif dominant de la réaction de défense de la plante. Des scénarios plus complexes sont aussi possibles. Un exemple de résistance récessive polygénique active dans le poivron contre plusieurs *Potyvirus* a été récemment raporté [49].

Dans plusieurs études, des gènes de résistance récessifs ont été fonctionnellement caractérisés par une analyse de leur mécanisme d'action (*voir* [7] *pour revue*). Les gènes y^a et *pvr3* de *C. annuum* ont pour effet de restreindre le

mouvement du *Potato virus Y* et du *Pepper mottle virus* (PepMoV), respectivement. Une inhibition de la réplication de l'ARN du TEV, du PepMoV et du PSbMV est une caractéristique des gènes et^a de *C. annuum*, *pvr1* de *C. chinense* et *sbm-1* du pois, respectivement. Dans le cas du gène *va* de *N. tabacum* cv. TN86, il semble que la réplication et le mouvement de cellule à cellule soient affectés [17].

L'identification des déterminants viraux d'avirulence est plus directe que le clonage des gènes de résistance de l'hôte. Par analyse de virus hybrides recombinants entre des souches virulentes et avirulentes, des données ont été produites pour les interactions PSbMV-*sbm-1* [50] et TVMV-*va* [16]. Dans les deux cas, les déterminants viraux impliqués dans la résistance ont été localisés dans la VPg, en particulier dans le domaine central [51]. Le rôle important de la VPg dans la réplication de l'ARN viral [52] pourrait indiquer une fonction associée des allèles dominants *Va* et *Sbm-1*.

Quoi qu'il soit trop tôt pour exploiter ces gènes de résistance naturelle en utilisant la biotechnologie, des progrès notables ont été faits dans le développement de résistances dérivées du pathogène par l'expression transgénique de séquences de *Potyvirus* telles que celles de la P1, P3, CI, VPg, NIa, NIb et CP [7]. La résistance peut être vue soit comme une incapacité à établir l'infection (résistance extrême), soit comme un phénotype de récupération où, après une phase initiale de sensibilité, les plantes récupèrent et deviennent résistantes. Dans la plupart des cas, le mécanisme de résistance est basé sur le PTGS, qui consiste à dégrader l'ARNm du transgène et de l'ARN viral homologue dans le cytoplasme [53]. Ce mécanisme n'est pas encore élucidé mais Jones *et al*. [54] et Guo *et al*. [55] émettent l'hypothèse qu'une molécule signal systémique et la méthylation induite des séquences homologues transgéniques pourraient être impliquées.

CONCLUSION

La présente revue illustre les avancées faites dans notre compréhension des interactions entre plantes et *Potyvirus* durant ces dernières années. Par le clonage et la manipulation de leur génome, de nombreux déterminants impliqués dans leurs propriétés biologiques ont été identifiés. Les données obtenues montrent un rôle des régions codantes et non codantes du génome viral et que la plupart des protéines des *Potyvirus* sont multifonctionnelles. Une plus grande compréhension des fonctions des protéines virales viendra de notre connaissance des facteurs de l'hôte impliqués dans les réactions de défense de la plante.

Peut-être que la découverte récente la plus significative dans la recherche sur les *Potyvirus* est la démonstration que HC-Pro peut agir comme un régulateur négatif des mécanismes de défense de la plante basés sur l'inactivation génique post-transcriptionnelle. Puisque d'autres suppresseurs ont été découverts chez d'autres virus (par exemple le CMV [29, 56]), on peut émettre l'hypothèse que les virus ont généralement besoin de contrer les mécanismes de défense de la plante pour développer une infection systémique.

Ces informations récentes peuvent être exploitées pour organiser la lutte contre les *Potyvirus*, qui causent d'importantes pertes dans les récoltes. D'une part, la connaissance précise des facteurs viraux de la pathogénicité permettra l'identification rapide des souches les plus pathogènes et ainsi une conduite plus efficace des programmes de détection-éradication. D'autre part, l'identification des facteurs de l'hôte nécessaires à la multiplication virale conduira à la recherche de plantes mutantes pour ces facteurs. Les interactions plante-virus indispensables à l'infection virale seront alors abolies. Ces plantes mutantes présenteront l'intérêt d'être des sources de résistances à déterminisme génétique récessif. Cette stratégie permettra aussi d'améliorer la durabilité des résistances par le choix d'allèles *a priori* moins faciles à contourner. De plus, une compréhension complète des mécanismes mis en jeu par les *Potyvirus* pour contrer les réactions de défense de la plante (RMD) permettra de construire des plantes transgéniques capables d'interférer avec ces mécanismes viraux, qui fourniront des résistances antivirales à spectre large.

REFERENCES

1. Shukla, DD, Ward, CW, Brunt AA. Genome structure, variation and function. *In : The Potyviridae*. CAB International, Wallingford, UK 1994 : 74-110.

2. Carrington JC, Kasschau KD, Mahajan SK,Schaad MC. Cell-to-cell and long-distance transport of viruses in plants. *Plant Cell* 1996 ; 8 : 1669-81.

3. Pirone TP, Blanc S. Helper-dependent vector transmission of plant viruses. *Annu Rev Phytopathol* 1996 ; 34 : 227-47.

4. Gallie DR, Tanguay RL, Leathers V. The tobacco etch viral 5' leader and poly (A) tail are functionally synergistic regulators of translation. *Gene* 1995 ; 165 : 233-8.

5. Wittmann S, Chatel H, Fortin MG, Laliberté JF. Interaction of the viral protein genome linked of turnip mosaic potyvirus with the translational eukaryotic initiation factor (iso) 4E of Arabidopsis thaliana using the yeast two-hybrid system. *Virology* 1997 ; 234 : 84-92.

6. Schaad MC, Jensen PE, Carrington JC. Formation of plant RNA virus replication complexes on membranes : role of an endoplasmic reticulum-targeted viral protein. *EMBO J* 1997a ; 16 : 4049-59.

7. Revers F, Le Gall O, Candresse T, Maule AJ. New advances in understanding the molecular biology of plant/potyvirus interactions. *Mol Plant-Microbe Interact* 1999 ; 12 : 367-76.

8. Klein, PG, Klein RR, Rodríguez-Cerezo E, Hunt AG, Shaw JG. Mutational analysis of the tobacco vein mottling virus

genome. *Virology* 1994 ; 204 : 759-69.

9. Oparka KJ, Roberts AG, Boevink P, *et al*. Simple, but not branched, plasmodesmata allow the nonspecific trafficking of proteins in developing tobacco leaves. *Cell* 1999 ; 97 : 743-54.

10. Dolja VV, Haldeman R, Robertson NL, Dougherty WG, Carrington JC. Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of etch potyvirus in plants. *EMBO J* 1994 ; 13 : 1482-91.

11. Dolja VV, Haldeman-Cahill R, Montgomery AE, Vandenbosch KA, Carrington JC. Capsid protein determinants involved in cell-to-cell and long distance movement of tobacco etch potyvirus. *Virology* 1995 ; 206 : 1007-16.

12. Lawson RH, Hearon SS. The association of pinwheel inclusions with plasmodesmata. *Virology* 1971 ; 44 : 454-6.

13. Carrington JC, Jensen PE, Schaad MC. Genetic evidence for an essential role for potyvirus CI protein in cell-to-cell movement. *Plant J* 1998 ; 14 : 393-400.

14. Rodríguez-Cerezo E, Findlay K, Shaw JG, *et al*. The coat and cylindrical inclusion proteins of a potyvirus are associated with connections between plant cells. *Virology* 1997 ; 236 : 296-306.

15. Roberts IM, Wang D, Findlay K, Maule AJ. Ultrastructural and temporal observations of the potyvirus cylindrical inclusions (CIs) shows that the CI protein acts transiently in aiding virus movement. *Virology* 1998 ; 245 : 173-81.

16. Nicolas O, Dunnington SW, Gotow LF, Pirone TP, Hellmann GM. Variations in the VPg protein allow a potyvirus to overcome va gene resistance in tobacco. *Virology* 1997 ; 237 : 452-9.

17. Gibb KS, Hellmann GM, Pirone TP. Nature of resistance of a tobacco cultivar to tobacco vein mottling virus. *Mol Plant-Microbe Interact* 1989 ; 2 : 332-9.

18. Rojas MR, Zerbini FM, Allison RF, Gilbertson RL, Lucas WJ. Capsid protein and helper component-proteinase function as potyvirus cell-to-cell movement proteins. *Virology* 1997 ; 237 : 283-95.

19. Kasschau KD, Cronin S, Carrington JC. Genome amplification and long distance movement functions associated with the central domain of tobacco etch potyvirus helper component-proteinase. *Virology* 1997 ; 228 : 251-62.

20. Schaad MC, Lellis AD, Carrington JC. VPg of tobacco etch potyvirus is a host genotype-specific determinant for long-distance movement. *J Virol* 1997b ; 71 : 8624-31.

21. Schaad MC, Carrington JC. Suppression of long-distance movement of tobacco etch virus in a nonsusceptible host. *J Virol* 1996 ; 70 : 2556-61.

22. Mahajan SK, Chisholm ST, Whitham SA, Carrington JC. Identification and characterization of a locus (RTM1) that restricts long-distance movement of tobacco etch virus in Arabidopsis thaliana. *Plant J* 1998 ; 14 : 177-86.

23. Chisholm ST, Mahajan SK, Whitham SA, Yamamoto ML, Carrington JC. Cloning of the Arabidopsis RTM1 gene, which controls restriction of long-distance movement of tobacco etch virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 489-94.

24. Lindbo JA, Dougherty WG. Pathogen-derived resistance to a potyvirus : immune and resistant phenotypes in transgenic tobacco expressing altered forms of the potyvirus coat protein. *Mol Plant-Microbe Interact* 1992 ; 5 : 144-53.

25. Fire A. RNA-triggered gene silencing. *Trends Genet* 1999 ; 15 : 358-63.

26. Covey SN, Al-Kaff NS, Làngara A, Turner DS. Plants combat infection by gene silencing. *Nature* 1997 ; 385 : 781-2.

27. Ratcliff FG, MacFarlane SA, Baulcombe DC. Gene silencing without DNA : RNA-mediated cross-protection between viruses. *Plant Cell* ; 11 : 1207-16.

28. Anandalakshmi R, Pruss GJ, Ge X, *et al*. A viral suppressor of gene silencing in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 13079-84.

29. Brigneti G, Voinnet O, Li WX, Ji LH, Ding SW, Baulcombe DC. Viral pathogenicity determinants are suppressors of transgene silencing in Nicotiana benthamiana. *EMBO J* 1998 ; 17 : 6739-46.

30. Kasschau KD, Carrington J C. A counterdefensive strategy of plant viruses : suppression of posttranscriptional gene silencing. *Cell* 1998 ; 95 : 461-70.

31. Vance VB, Berger PH, Carrington JC, Hunt AG, Shi XM. 5' proximal potyviral sequences mediate potato virus X/potyviral synergistic disease in transgenic tobacco. *Virology* 1995 ; 206 : 583-90.

32. Pruss G, Ge X, Shi XM, Carrington JC, Vance VB. Plant viral synergism : the potyviral genome encodes a broad-range pathogenicity enhancer that transactivates replication of heterologous viruses. *Plant Cell* 1997 ; 9 : 859-68.

33. Shi XM, Miller H, Verchot J, Carrington JC, Vance VB. Mutations in the region encoding the central domain of helper component-proteinase (HC-Pro) eliminate potato virus X/potyviral synergism. *Virology* 1997 ; 231 : 35-42.

34. Wang D, Maule AJ. Inhibition of host gene expression associated with plant virus replication. *Science* 1995 ; 267 : 229-31.

35. Atreya CD, and Pirone TP. Mutational analysis of the helper component-proteinase gene of a potyvirus : effects of amino acid substitutions, deletions, and gene replacement on virulence and aphid transmissibility. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 11919-23.

36. Johansen IE, Keller KE, Dougherty WG and Hampton RO. Biological and molecular properties of a pathotype P-1 and a pathotype P-4 isolate of pea seed-borne mosaic virus. *J Gen Virol* 1996 ; 77 : 1329-33.

37. Chu M, López-Moya JJ, Llave-Correas C, Pirone TP. Two separate regions in the genome of the tobacco etch virus contain determinants of the wilting response of Tabasco pepper. *Mol Plant-Microbe Interact* 1997 ; 10 : 472-80.

38. Riechmann JL, Cervera MT, García JA. Processing of the plum pox virus polyprotein at the P3-6K1 junction is not required for virus viability. *J Gen Virol* 1995 ; 76 : 951-6.

39. Simón-Buela L, Guo HS, and García JA. Long sequences in the 5' noncoding region of plum pox virus are not necessary for viral infectivity but contribute to viral competitiveness and pathogenesis. *Virology* 1997b ; 233 : 157-62.

40. Rodríguez-Cerezo E, Klein PG, Shaw JG. A determinant of disease symptom severity is located in the 3'-terminal noncoding region of the RNA of a plant virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 9863-7.

41. McClintock K, Lamarre A, Parsons V, Laliberté JF, Fortin MG. Identification of a 37 kDa plant protein that interacts with the turnip mosaic potyvirus capsid protein using anti-idiotypic-antibodies. *Plant Mol Biol* 1998 ; 37 : 197-204.

42. Johansen IE, Dougherty WG, Keller KE, Wang D, Hampton RO. Multiple viral determinants affect seed transmission of pea seedborne mosaic virus in Pisum sativum. *J Gen Virol* 1996 ; 77 : 3149-54.

43. Wang D, Maule AJ. Early embryo invasion as a determinant in pea of the seed transmission of pea seed-borne mosaic virus. *J Gen Virol* 1992 ; 73 : 1615-20.

44. Wang D, Maule AJ. A model for seed transmission of a plant virus: genetic and structural analyses of pea embryo invasion by pea seed-borne mosaic virus. *Plant Cell* 1994 ; 6 : 777-87.

45. Maule AJ, Wang D. Seed transmission of plant viruses: a lesson in biological complexity. *Trends Microbiol* 1996 ; 4 : 153-8.

46. Fraser RSS. The genetics of plant-virus interactions: implications for plant breeding. *Euphytica* 1992 ; 63 : 175-85.

47. Provvidenti R, Hamptom RO. Sources of resistance to viruses in the potyviridae. *Arch Virol* 1992 ; 5 : 189-211.

48. Staskawicz BJ, Ausubel FM, Baker BJ, Ellis JG, Jones JDJ. Molecular genetics of plant disease resistance. *Science* 1995 ; 268 : 661-7.

49. Caranta C, Lefebvre V, Palloix A. Polygenic resistance of pepper to potyviruses consists of a combination of isolate-specific and broad-spectrum quantitative trait loci. *Mol Plant-Microbe Interact* 1997 ; 10 : 872-8.

50. Keller KE, Johansen IE, Martin RR, Hampton RO. Potyvirus genome-linked protein (VPg) determines pea seed-borne mosaic virus pathotype-specific virulence in Pisum sativum. *Mol Plant-Microbe Interact* 1998 ; 11 : 124-30.

51. Johansen IE, Keller KE. The role of potyvirus proteins in recessive resistance affecting replication. Molecular mechanisms in the replicative cycle of viruses in plants. *EMBO Workshop*. June 15-19 1997, Las Navas del Marqués, Spain 1997.

52. Schaad MC, Haldeman-Cahill R, Cronin S, Carrington JC. Analysis of the VPg-proteinase (Nla) encoded by tobacco etch potyvirus : effects of mutations on subcellular transport, proteolytic processing and genome amplification. *J Virol* 1996 ; 70 : 7039-48.

53. Van den Boogaart T, Lomonossoff GP, Davies JW. Can we explain RNA-mediated virus resistance by homology-dependent gene silencing ? *Mol Plant-Microbe Interact* 1998 ; 11 : 717-23.

54. Jones AL, Thomas CL, Maule AJ. *De novo* methylation and co-suppression induced by a cytoplasmically replicating plant RNA virus. *EMBO J* 1998b ; 17 : 6385-93.

55. Guo HS, López-Moya JJ, García JA. Mitotic stability of infection-induced resistance to plum pox potyvirus associated with transgene silencing and DNA methylation. *Mol Plant-Microbe Interact* 1999 ; 12 : 103-11.

56. Béclin C, Berthomé R, Palauqui JC, Tepfer M, Vaucheret H. Infection of tobacco or Arabidopsis plants by CMV counteracts systemic post-transcriptional silencing of non-viral (trans)genes. *Virology* 1998 ; 252 : 313-7.

Copyright © 2007 John Libbey Eurotext - Tous droits réservés

VIROLOGIE

Interactions moléculaires plantes - Potyvirus

Virologie. Volume 4, Numéro 2, 95-103, Mars - Avril 2000, Revues

Résumé Summary

Auteur(s) : E. REDONDO, F. REVERS, O. LE GALL, T. CANDRESSE, .

Résumé : Depuis quelques années, les chercheurs ont adopté de nouvelles technologies pour étudier le déterminisme du pouvoir pathogène des Potyvirus. Leurs résultats ont permis d'éclaircir certains aspects clés des interactions plante-virus et virus-vecteur. Cette revue présente les avancées récentes dans la compréhension du déterminisme des symptômes, de la transmission du virus par la graine, ainsi que la résistance naturelle et induite aux Potyvirus. De très récents développements dans le domaine de l'inactivation génique post-transcriptionnelle indiquent non seulement que ce processus est fondamental pour la résistance induite, mais souligne aussi plusieurs aspects de la biologie des virus de plantes.

Mots-clés : Potyvirus – Mouvement de cellule à cellule – Mouvement à longue distance – HC-Pro.

Illustrations

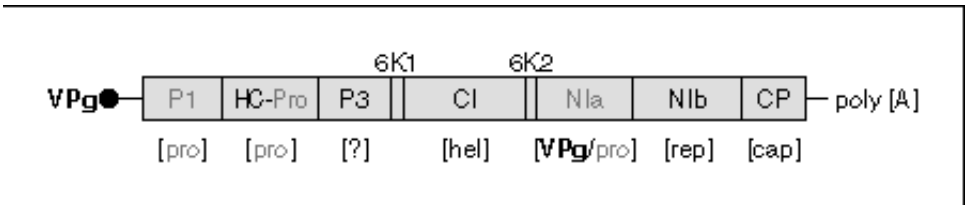
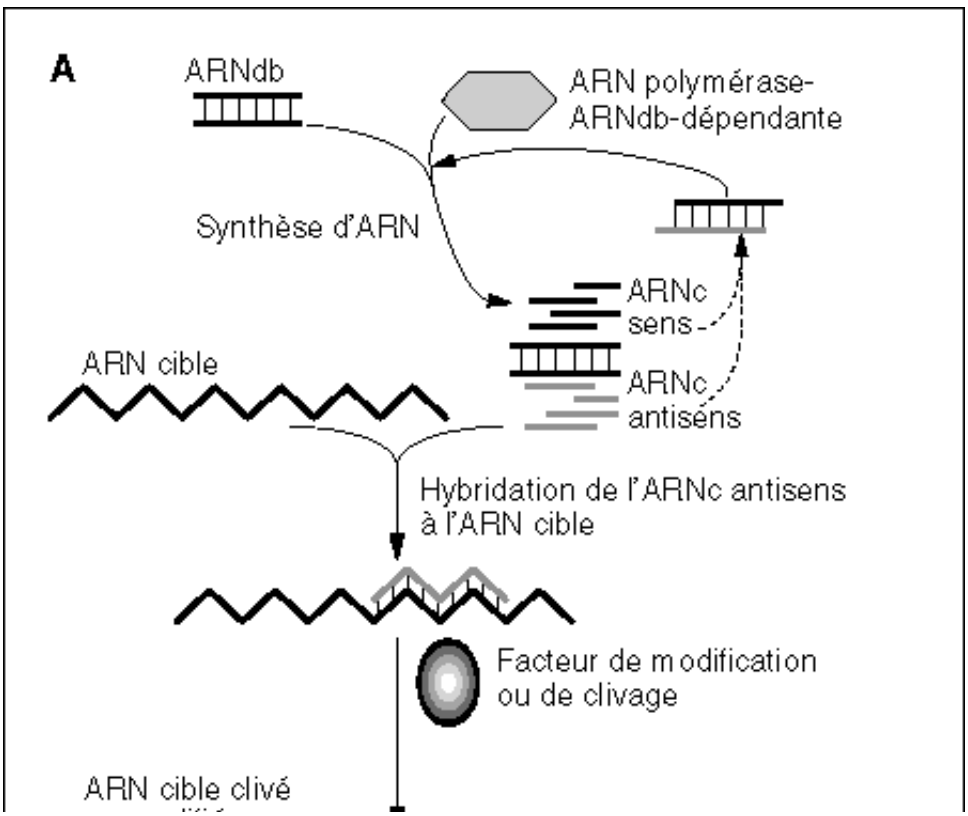


Figure 1. Organisation génomique des *Potyvirus*. Le génome des *Potyvirus* est constitué d'un ARN simple brin de polarité positive, polyadénylé en 3' (poly[A]) et lié de façon covalente à une protéine virale en 5' [VPg]. L'ARN code pour une polyprotéine (rectangle gris) automaturée par trois protéases virales [pro]. La seule protéine structurale est la protéine de capside [cap]. CI porte une activité hélicase [hel]. NIb est la réplicase virale [rep].



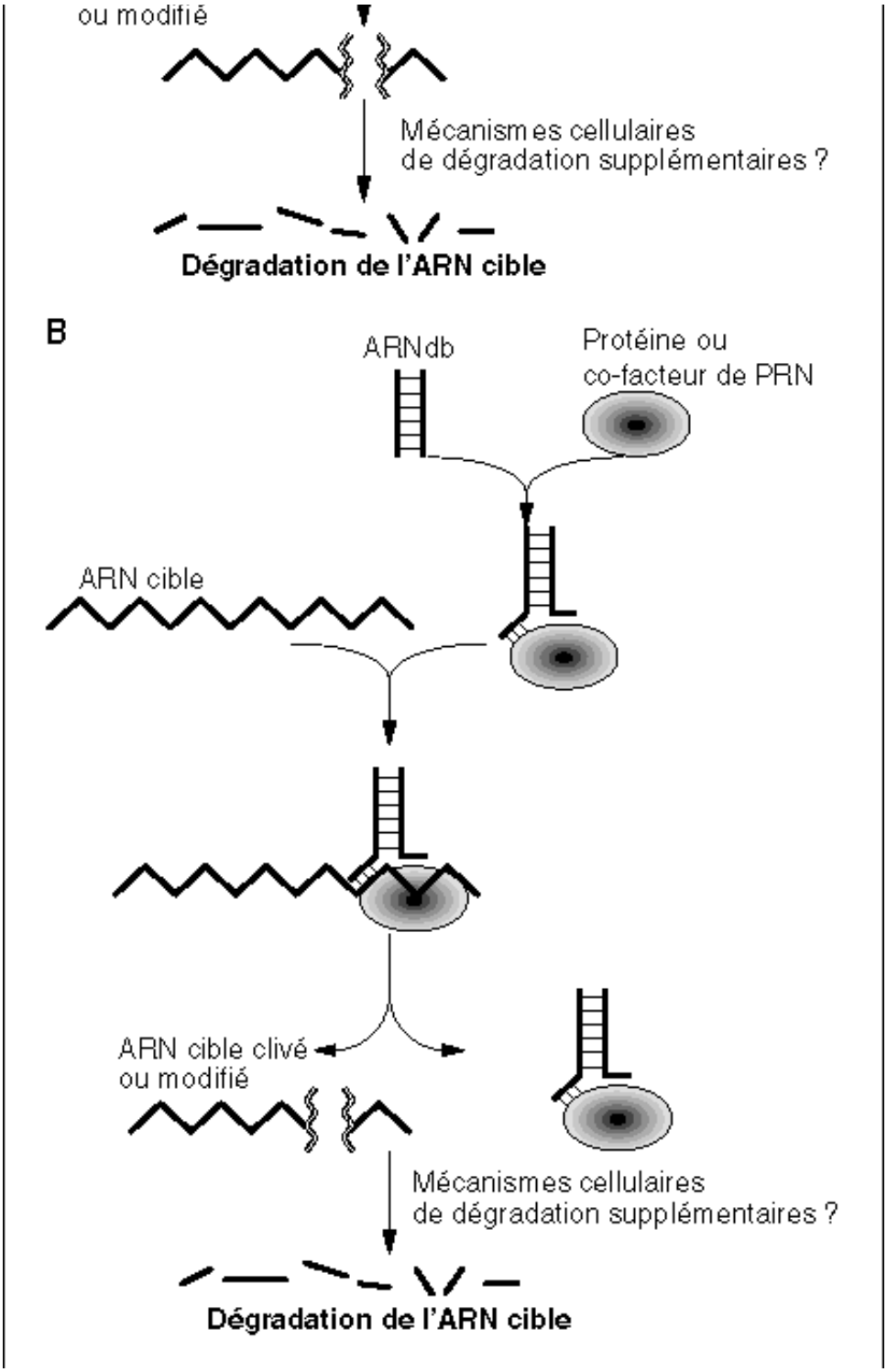


Figure 2. Deux modèles pour l'extinction génique post-transcriptionnelle [25] : **A.** La synthèse d'une grande quantité d'ARN complémentaire (ARNc) antisens à partir d'une matrice ARN double brin (ARNdb) conduit à la modification de l'ARN cible (ARN viral ou transgène) grâce à l'hybridation partielle de cet ARN avec l'ARNc antisens. Cet ARNdb modifié par des facteurs cellulaires encore inconnus est ensuite dégradé.
B. L'activité catalytique d'une protéine ou d'un co-facteur de protéine ribonucléique (PRN) cellulaire lié à un ARN db conduit à la modification puis à la dégradation de l'ARN cible après hybridation partielle de cet ARN avec l'ARN db.

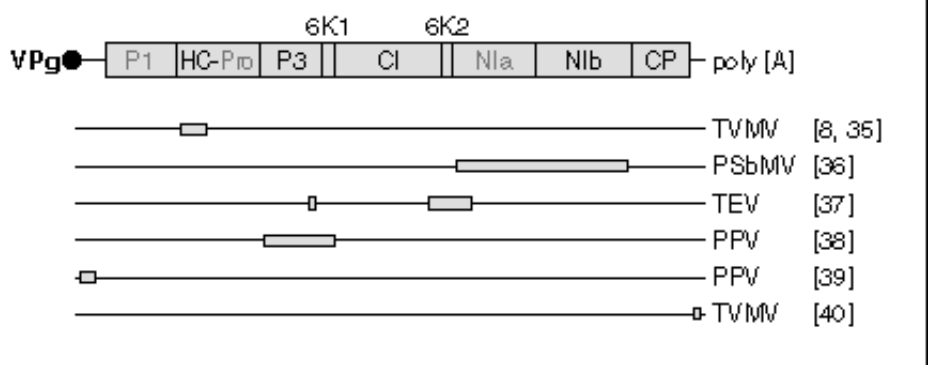


Figure 3. Régions génomiques impliquées dans l'expression des symptômes chez les *Potyvirus* d'après les articles indiqués entre crochets.

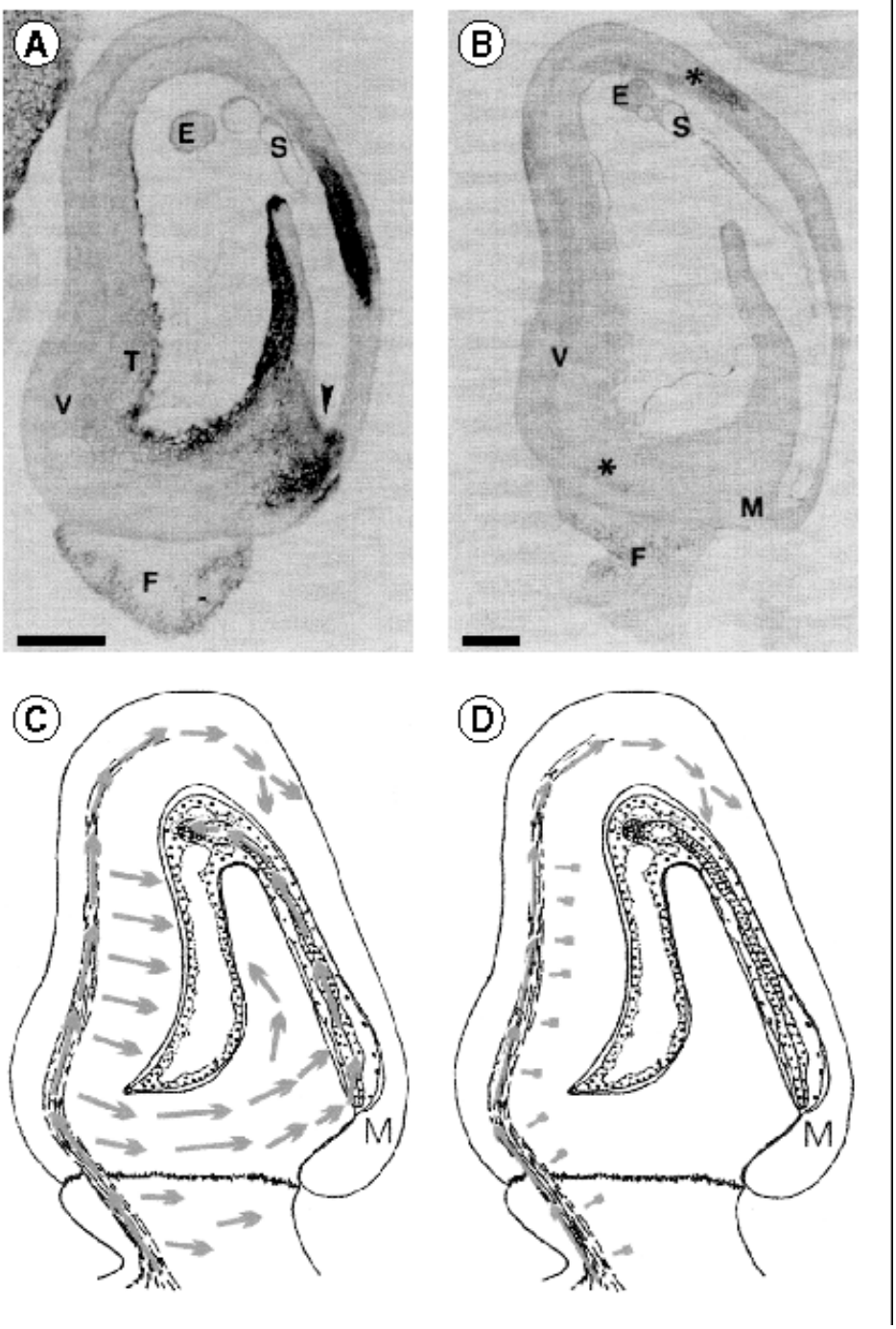


Figure 4. Transmission par la graine du PSbMV dans le pois [45]. Analyse immunocytochimique à l'aide d'un anticorps monoclonal dirigé contre la CP du PSbMV de la distribution de ce virus dans des coupes longitudinales d'une graine de pois immature. **A.** Dans le cas d'une interaction hôte-virus qui permet la

transmission par la graine [avec *Pisum sativum* cv. Vedette], le virus s'accumule dans la testa. **B**. En revanche, dans un cultivar où le PSbMV n'est pas transmissible [avec cv. Progreta], le virus est restreint aux vaisseaux conducteurs par lesquels il entre dans la graine. Échelle du trait : 500 µm.

Les analyses systématiques des graines immatures de différents âges ont permis d'identifier les voies suivies (flèches grises) par le virus lors de l'invasion de la graine [cv. Vedette **(C)** et cv. Progreta **(D)**]. Ces études montrent que, pour qu'un virus soit transmis par la graine, il est nécessaire qu'il atteigne la zone micropylaire qui est le point de contact [pointe de flèche sur la *figure* **A)**] entre les tissus de la testa et le suspenseur embryonnaire. Dans une interaction hôte-virus qui ne permet pas la transmission par la graine [notée par les carrés rouges **(D)**], le virus semble incapable d'envahir et/ou de se multiplier dans les tissus vasculaires.

E : embryon ; F : funicule ; M : région micropylaire ; S : suspenseur ; T : testa ; V : vaisseaux conducteurs.

Copyright © 2007 John Libbey Eurotext - Tous droits réservés