



HAL
open science

Bases moléculaires des résistances aux virus contrôlés par des facteurs de l'hôte nécessaires aux cycles infectieux

Carole Caranta

► **To cite this version:**

Carole Caranta. Bases moléculaires des résistances aux virus contrôlés par des facteurs de l'hôte nécessaires aux cycles infectieux. [Contrat] 2011. hal-02807142

HAL Id: hal-02807142

<https://hal.inrae.fr/hal-02807142>

Submitted on 6 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.

Projet ANR-08-GENM-128

MOVie

Programme 2008

A	IDENTIFICATION	2
B	RESUME CONSOLIDE PUBLIC	2
	B.1 Instructions pour les résumés consolidés publics	2
	B.2 Résumé consolidé public en français	3
	B.3 Résumé consolidé public en anglais.....	5
C	MEMOIRE SCIENTIFIQUE	7
	C.1 Résumé du mémoire	7
	C.2 Enjeux et problématique, état de l'art	7
	C.3 Approche scientifique et technique.....	8
	C.4 Résultats obtenus	8
	C.5 Exploitation des résultats.....	14
	C.6 Discussion	15
	C.7 Conclusions.....	15
	C.8 Références.....	15
D	LISTE DES LIVRABLES	15
E	IMPACT DU PROJET	18
	E.1 Indicateurs d'impact	18
	E.2 Liste des publications et communications.....	20
	E.3 Liste des éléments de valorisation.....	21
	E.4 Bilan et suivi des personnels recrutés en CDD (hors stagiaires)	22

Ce document est à remplir par le coordinateur en collaboration avec les partenaires du projet. L'ensemble des partenaires doit avoir une copie de la version transmise à l'ANR.

Ce modèle doit être utilisé uniquement pour le compte-rendu de fin de projet.

A IDENTIFICATION

Acronyme du projet	MOVIe
Titre du projet	Molecular basis of virus resistance mediated by host factors required for the infectious cycle
Coordinateur du projet (société/organisme)	Carole CARANTA (INRA)
Période du projet (date de début – date de fin)	1 janv 2009 31 Dec 2011
Site web du projet, le cas échéant	-

Rédacteur de ce rapport	
Civilité, prénom, nom	Carole Caranta
Téléphone	04.32.72.27.26
Adresse électronique	carole.caranta@avignon.inra.fr
Date de rédaction	Aout 2012

Si différent du rédacteur, indiquer un contact pour le projet	
Civilité, prénom, nom	
Téléphone	
Adresse électronique	

Liste des partenaires présents à la fin du projet (société/organisme et responsable scientifique)	P1 – INRA – GAFL – C. Caranta P2 – IRD – LGDP – L. Albar P3 – IRD – RPB – E. Hébrard P4 – INRA – SVQV – O. Lemaire, D. Merdinoglu
---	--

B RESUME CONSOLIDE PUBLIC

Ce résumé est destiné à être diffusé auprès d'un large public pour promouvoir les résultats du projet, il ne fera donc pas mention de résultats confidentiels et utilisera un vocabulaire adapté mais n'excluant pas les termes techniques. Il en sera fourni une version française et une version en anglais. Il est nécessaire de respecter les instructions ci-dessous.

B.1 INSTRUCTIONS POUR LES RESUMES CONSOLIDES PUBLICS

Les résumés publics en français et en anglais doivent être structurés de la façon suivante.

Titre d'accroche du projet (environ 80 caractères espaces compris)

Titre d'accroche, si possible percutant et concis, qui résume et explicite votre projet selon une logique grand public : il n'est pas nécessaire de présenter exhaustivement le projet mais il faut plutôt s'appuyer sur son aspect le plus marquant.

Les deux premiers paragraphes sont précédés d'un titre spécifique au projet rédigé par vos soins.

Titre 1 : situe l'objectif général du projet et sa problématique (150 caractères max espaces compris)

Paragraphe 1 : (environ 1200 caractères espaces compris)

Le paragraphe 1 précise les enjeux et objectifs du projet : indiquez le contexte, l'objectif général, les problèmes traités, les solutions recherchées, les perspectives et les retombées au niveau technique ou/et sociétal

Titre 2 : précise les méthodes ou technologies utilisées (150 caractères max espaces compris)

Paragraphe 2 : (environ 1200 caractères espaces compris)

Le paragraphe 2 indique comment les résultats attendus sont obtenus grâce à certaines méthodes ou/et technologies. Les technologies utilisées ou/et les méthodes permettant de surmonter les verrous sont explicitées (il faut éviter le jargon scientifique, les acronymes ou les abréviations).

Résultats majeurs du projet (environ 600 caractères espaces compris)

Faits marquants diffusables en direction du grand public, expliciter les applications ou/et les usages rendus possibles, quelles sont les pistes de recherche ou/et de développement originales, éventuellement non prévues au départ.

Préciser aussi toute autre retombée= partenariats internationaux, nouveaux débouchés, nouveaux contrats, start-up, synergies de recherche, pôles de compétitivités, etc.

Production scientifique et brevets depuis le début du projet (environ 500 caractères espaces compris)

Ne pas mettre une simple liste mais faire quelques commentaires. Vous pouvez aussi indiquer les actions de normalisation

Illustration

Une illustration avec un schéma, graphique ou photo et une brève légende. L'illustration doit être clairement lisible à une taille d'environ 6cm de large et 5cm de hauteur. Prévoir une résolution suffisante pour l'impression. Envoyer seulement des illustrations dont vous détenez les droits.

Informations factuelles

Rédiger une phrase précisant le type de projet (recherche industrielle, recherche fondamentale, développement expérimental, exploratoire, innovation, etc.), le coordonnateur, les partenaires, la date de démarrage effectif, la durée du projet, l'aide ANR et le coût global du projet, par exemple « Le projet XXX est un projet de recherche fondamentale coordonné par xxx. Il associe aussi xxx, ainsi que des laboratoires xxx et xxx). Le projet a commencé en juin 2006 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de xxx € pour un coût global de l'ordre de xxx € »

B.2 RESUME CONSOLIDE PUBLIC EN FRANÇAIS

Suivre impérativement les instructions ci-dessus.

De nouvelles cibles pour la lutte génétique contre les virus des plantes

Les facteurs de l'hôte nécessaires au cycle infectieux : exploitation pour développer des variétés résistantes aux virus

Dans le contexte d'une agriculture durable et respectueuse de l'environnement, l'utilisation de cultivars présentant des résistances génétiques vis-à-vis des phytovirus constitue une méthode de lutte simple, respectueuse de l'environnement et peu coûteuse pour l'agriculteur. Elle est également devenue un des éléments clés de la compétitivité des sociétés de semences. Cependant, l'utilisation de la lutte génétique reste limitée à la fois par la disponibilité de gènes de résistance facilement utilisables dans les programmes de sélection et également par l'émergence de populations virales capables de s'adapter à ces gènes de résistance.

Les virus se distinguent par leur petit génome codant pour moins d'une douzaine de protéines et détournent des facteurs cellulaires de la plante hôte pour accomplir leur cycle infectieux. Ces facteurs sont appelés « facteurs de sensibilité ». Ainsi, l'absence ou la modification d'un de ces facteurs conduit à la résistance des plantes hôtes. Cette

caractéristique fait de ces facteurs des cibles particulièrement intéressantes pour la lutte génétique contre les maladies virales. Parmi ces facteurs les plus connus à ce jour sont incontestablement les facteurs d'initiation de la traduction eIF4E et eIF4G.

Dans ce contexte, nos objectifs sont (i) de caractériser les mécanismes moléculaires à l'origine de la spécificité d'utilisation des facteurs d'initiation de la traduction par différents virus à ARN afin de définir des critères pour une utilisation efficace et durable des ces facteurs de résistance, (ii) d'étudier le rôle potentiel des facteurs d'initiation de la traduction dans la résistance au virus du court-noué chez la vigne et (iii) d'identifier des nouveaux facteurs de l'hôte nécessaire au cycle infectieux en tant que cibles pour la lutte génétique. En plus de connaissances fondamentales sur les bases moléculaires des interactions plantes-virus, les résultats de ce projet faciliteront l'exploitation de ces facteurs nécessaires au cycle viral en tant que cibles pour l'amélioration de la résistance des plantes aux virus.

Des approches de génétique pour caractériser les facteurs de sensibilité

Les fondations du projet MOVIE sont l'exploration et l'exploitation de la diversité naturelle des espèces cultivées et modèle pour la compréhension des mécanismes de résistance aux virus faisant intervenir des facteurs de sensibilité. Du fait du caractère générique de ce type de résistance, les travaux sont conduits chez différents couples plante-virus à ARN (Solanacées, Arabidopsis, riz et vigne) en fonction des ressources disponibles et des objectifs fixés. Les stratégies et méthodes utilisées font appel à des approches tout à fait classiques de génétique : analyse du polymorphisme naturel (plante et virus) par séquençage, mutagenèse, études d'interaction entre protéines virales et protéines de plante par double hybride dans la levure, clonage positionnel et validation fonctionnelle par transgénèse et/ou expression transitoire.

Résultats majeurs du projet

Au delà des connaissances fondamentales sur les interactions plantes-virus et de la production académique, les résultats obtenus dans le cadre du projet MOVIE présentent plusieurs intérêts pour le développement et l'utilisation de variétés résistantes aux virus :

- Des critères pour le choix des allèles de résistance eIF4E à utiliser dans les programmes de sélection pour la résistance aux *Potyvirus* : identification de la combinaison optimale de mutations dans eIF4E pour une résistance à large spectre ;
- Des stratégies de déploiement des allèles de résistance eIF4E ou eIF4G en fonction de souches virales présentes dans les zones de culture : étant donnée la forte structuration spatiale de la diversité moléculaire du RYMV en Afrique, le résultat sur le polymorphisme impliqué dans l'adaptabilité du virus aux allèles de résistance *rymv1-2* et *1-3* devra être pris en compte dans la stratégie de déploiement des résistances (déploiement préférentiel de l'allèle *rymv1-3* en Afrique de l'Est) ;
- L'utilisation des gènes eIF4E ou eIF4G pour le développement de variétés résistantes à de nouveaux virus : première démonstration du rôle des facteurs eIF dans l'interaction avec les Polérovirus ;
- De nouveaux gènes (et marqueurs pour la sélection) et mécanismes de résistance pour diversifier les cibles pour la lutte génétique contre les virus : *cPGK* pour la résistance aux Potyvirus et possiblement pour la résistance aux Potexvirus exploitable chez les Solanacées par une approche de biologie translationnelle (les Potexvirus constituent une des maladies virale les plus dommageable aux cultures de tomate) et *HYS1/CPR5* pour la résistance aux Sobemovirus chez le riz. Des marqueurs étroitement liés au locus de résistance

HYS1/CPR5 ont été développés. Ils faciliteront la sélection assistée par marqueur du gène d'intérêt et le pyramidage de ce gène avec le gène de résistance *RYMV1*.

Production scientifique et brevets

Le projet MOVIE a donné lieu à 5 publications de résultats originaux (dont une soumise) dans des revues internationales à comité de lecture ainsi qu'à deux revues. Au moins deux autres publications devraient être soumises dans les 6 mois. L'étude de la brevetabilité des deux nouveaux gènes de résistance caractérisés est en cours.

Informations factuelles

Le projet MOVIE est un projet de recherche fondamentale et appliquée coordonné par C. Caranta (INRA, unité de Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, Avignon). Il associe également les équipes de L. Albar et A. Guesquiere (IRD, Lab. Génétique et Développement des Plantes, Montpellier), E. Hébrard et D. Fargette (IRD, Résistance des Plantes aux Bioagresseurs, Montpellier) et O. Lemaire et D. Merdinoglu (INRA, Santé de la vigne et Qualité du vin, Colmar). Le projet a commencé en janvier 2009 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 454 082 € pour un coût global de l'ordre de 2 248 000 €.

B.3 RESUME CONSOLIDE PUBLIC EN ANGLAIS

Suivre impérativement les instructions ci-dessus.

New targets to fight against plant viruses through the development of resistant cultivars

Host factors required for the viral infectious cycle: exploitation to develop cultivars that are resistant to plant viruses

Among the methods available for the control of virus-induced diseases, the use of natural host-derived resistance genes, whilst successful and environmentally friendly, has several limitations: (i) their identification in many crop species is limited by technical constraints and (ii) dominant resistance genes, easy to manipulate during breeding programs, are not always available in the natural diversity of crop plants and for many economically important viruses. Moreover, the development of durable and efficient resistance systems suppose the combination of genes affecting different steps of the virus life cycle in a single variety.

Because of their small genome encoding generally less than a dozen proteins the viral infectious cycle completely relies on the use of cellular factors; the completion of the viral cycle is therefore the result of a complex interplay between virus-encoded and host-encoded factors. In this scheme, absence or mis-adequacy of a single host factor (also called susceptibility factors) led to plants fully or partially resistant to viruses. In the plant natural diversity, these non-functional versions of host factors required for the viral cycle were demonstrated to correspond to recessive resistance genes. Among these factors, the translation initiation factors eIF4E and eIF4G are undoubtedly the best characterized.

In this context, the MOVIE project aims at (i) the characterization of mechanisms underlying molecular specificity of translation initiation factors-mediated resistance, (ii) the study of the potential role of translation initiation factors in RNA virus resistance in economically

important crops such as grapevine, and (iii) the identification of new host factors required for viral infection. The project is likely to provide fundamental insights into the molecular basis of plant-virus interactions and to greatly facilitate the exploitation of host factors required for the viral cycle as targets to improve plant resistance to viruses.

Exploitation of genetic approaches to characterize susceptibility factors

The foundations of the MOVIE project are the exploration and exploitation of the natural diversity of crops and model species for understanding the mechanisms of resistance to viruses involving susceptibility factors. Due to the generic nature of this type of resistance, the work is conducted on different couple plant-RNA viruses (Solanaceae, Arabidopsis, rice and grapes) based on available resources and objectives. The strategies and methods used in this project involve classical genetic approaches: polymorphism analysis by sequencing, mutagenesis, analysis of interactions between viral and host proteins by the yeast two-hybrid system, positional cloning, and functional validation by transient expression and/or genetic transformation.

Major results of the project

Beyond the basic knowledge on plant-virus interactions and the academic production, the results obtained in the MOVIE project have several interests for the development and use of virus resistant cultivars:

- Criteria for the selection of eIF4E resistance alleles to use in breeding programs for resistance to potyviruses: identification of the optimal combination of mutations in eIF4E for broad-spectrum resistance;
- Strategies for the deployment of eIF4E and eIF4G resistance alleles depending of the viral strains present in the culture areas;
- The use of eIF4E or eIF4G for the development of resistant varieties to new viruses: first demonstration of the involvement of eIF factors in the infectious cycle of Poleroviruses;
- Identification of new genes (and markers for marker assisted selection) and mechanisms for the diversification of resistance targets for plant breeding: *cPGK* for resistance to potyvirus and future prospects for resistances to potexvirus (one of the most devastating virus for tomato cultivations) and *HYS1/CPR5* for rice resistance to sobemovirus. Markers closely linked to the resistance locus *HYS1/CPR5* have been developed. They will facilitate marker-assisted selection and the pyramiding of this gene with the resistance gene RYMV1.

Scientific production and patents

The MOVIE project resulted in five publications of original results (one submitted) and two reviews. At least two other publications should be submitted within 6 months. The study of the patentability of the two new cloned resistance genes is currently under examination.

Factual information

The MOVIE project is a project of fundamental and applied research coordinated by C. Caranta (INRA, unité de Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, Avignon). It also involves the groups of L. Albar et A. Guesquiere (IRD, Lab. Génétique et Développement des Plantes, Montpellier), E. Hébrard et D. Fargette (IRD, Résistance des Plantes aux Bioagresseurs, Montpellier) and O. Lemaire et D. Merdinoglu (INRA, Santé de la vigne et Qualité du vin, Colmar). The project began in January 2009 for a period of 36 months. It was supported by an ANR grant of 454 082 € for a total cost of around 2 248 000 €.

C MEMOIRE SCIENTIFIQUE

Maximum 5 pages. On donne ci-dessous des indications sur le contenu possible du mémoire. Ce mémoire peut être accompagné de rapports annexes plus détaillés.

Le mémoire scientifique couvre la totalité de la durée du projet. Il doit présenter une synthèse auto-suffisante rappelant les objectifs, le travail réalisé et les résultats obtenus mis en perspective avec les attentes initiales et l'état de l'art. C'est un document d'un format semblable à celui des articles scientifiques ou des monographies. Il doit refléter le caractère collectif de l'effort fait par les partenaires au cours du projet. Le coordinateur prépare ce rapport sur la base des contributions de tous les partenaires. Une version préliminaire en est soumise à l'ANR pour la revue de fin de projet.

Un mémoire scientifique signalé comme confidentiel ne sera pas diffusé. Justifier brièvement la raison de la confidentialité demandée. Les mémoires non confidentiels seront susceptibles d'être diffusés par l'ANR, notamment via les archives ouvertes <http://hal.archives-ouvertes.fr>.

Mémoire scientifique confidentiel : OUI

Oui, car des nombreux résultats n'ont pas encore été publiés notamment pour ce qui concerne les résultats du WP3 (caractérisation de nouveaux facteurs récessifs de résistance aux virus chez le riz et chez *Arabidopsis*), jusqu'à la publication des résultats (prévue avant la fin 2012).

C.1 RESUME DU MEMOIRE

Ce résumé peut être repris du résumé consolidé public.

C.2 ENJEUX ET PROBLEMATIQUE, ETAT DE L'ART

Présenter les enjeux initiaux du projet, la problématique formulée par le projet, et l'état de l'art sur lequel il s'appuie. Présenter leurs éventuelles évolutions pendant la durée du projet (les apports propres au projet sont présentés en C.4).

L'un des problèmes majeurs de l'agriculture moderne est lié à l'infection des cultures par des organismes pathogènes. Ces derniers sont responsables, au niveau mondial, de pertes de rendements considérables pouvant aller jusqu'à la totalité de la production d'une espèce végétale donnée. Si pour certains de ces organismes il existe des moyens de lutte efficaces, les méthodes permettant de lutter contre les virus restent limitées ; il s'agit le plus souvent d'arracher les plantes infectées ou bien d'éradiquer les vecteurs des maladies virales (le plus souvent des insectes) à l'aide de pesticides. Cette pratique reste peu efficace (en particulier pour des virus transmis selon le mode non-persistant) et écologiquement inadaptée dans le contexte d'une agriculture durable. De plus, ces dernières années une augmentation de l'incidence des maladies causées par les virus a été observée. Elle est reliée à l'intensification des cultures et des échanges de matériel végétal ainsi qu'au changement climatique, qui présente un impact direct sur l'aire de répartition des vecteurs. Dans ce contexte, l'utilisation de cultivars présentant des résistances génétiques vis-à-vis des phytovirus constitue une méthode de lutte simple, respectueuse de l'environnement et peu coûteuse pour l'agriculteur. Elle est également devenue un des éléments clés de la compétitivité des sociétés de semences. Cependant, à ce jour, l'utilisation de la lutte génétique reste limitée à la fois par la disponibilité de gènes de résistance facilement

utilisables dans les programmes de sélection et également par l'émergence de populations virales capables de s'adapter à ces gènes de résistance.

Les virus se distinguent des autres agents pathogènes par le fait qu'ils possèdent un petit génome codant en général pour moins d'une douzaine de protéines ; par conséquent, ils utilisent et détournent des facteurs cellulaires de la plante hôte pour accomplir leur cycle infectieux à savoir, leur traduction, réplication, migration de cellule-à-cellule et migration à longue distance. Dans ce système, l'absence ou la modification d'un de ces facteurs (également appelé facteurs de sensibilité) conduit à la résistance totale ou partielle des plantes hôtes. Cette caractéristique fait de ces facteurs des cibles particulièrement intéressantes pour la lutte génétique contre les maladies virales.

Ces dix dernières années, les approches de génétique ont largement contribué à l'identification puis à la caractérisation du rôle des facteurs d'initiation de la traduction eIF4E et eIF4G (Eukaryotic initiation factor 4E and 4G) dans les interactions entre plantes et virus. Les travaux de caractérisation moléculaire de gènes récessifs de résistance, initiés chez les Solanacées en interaction avec des virus du genre *Potyvirus* puis étendus à d'autres espèces cultivées, à l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana* et à d'autres genres viraux ont permis de mettre en évidence le rôle clé et généraliste de eIF4E et eIF4G dans l'interaction et la résistance naturelle des plantes à différents virus à ARN (pour revue voir Le Gall et al., 2011).

Dans ce contexte, les objectifs du projet MOVIE sont (i) de caractériser les mécanismes moléculaires à l'origine de la spécificité d'utilisation des facteurs d'initiation de la traduction par différents virus à ARN afin de définir des critères pour une utilisation efficace et durable des ces facteurs de résistance, (ii) d'étudier le rôle potentiel des facteurs d'initiation de la traduction dans la résistance au virus du court-noué chez la vigne et (iii) d'identifier des nouveaux facteurs de l'hôte nécessaire au cycle infectieux en tant que cibles pour la lutte génétique. En plus de connaissances fondamentales sur les bases moléculaires des interactions plantes-virus, les résultats de ce projet faciliteront l'exploitation de ces facteurs nécessaires au cycle viral en tant que cibles pour l'amélioration de la résistance des plantes aux virus.

C.3 APPROCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE

Les fondations du projet MOVIE sont l'exploration et l'exploitation de la diversité naturelle des espèces cultivées et modèle pour la compréhension des mécanismes de résistance aux virus faisant intervenir des facteurs de sensibilité. Du fait du caractère générique de ce type de résistance, les travaux sont conduits chez différents couples plante-virus à ARN (Solanacées, *Arabidopsis*, riz et vigne) en fonction des ressources disponibles et des objectifs fixés. Les stratégies et méthodes utilisées font appel à des approches tout à fait classiques de génétique forward et reverse : Analyse du polymorphisme naturel (plante et virus) par séquençage, mutagenèse, études d'interaction protéine-protéine par double hybride dans la levure, clonage positionnel et validation fonctionnelle par transgénèse et/ou expression transitoire.

C.4 RESULTATS OBTENUS

WP1 – Bases moléculaires de la résistance et spécificité d'utilisation des facteurs eIF4E et eIF4G par les potyvirus et sobemovirus

Partenaires impliqués : P1 (équipe C. Caranta/J.L. Gallois, INRA) et P3 (équipe E. Hébrard, IRD)

Les objectifs de ce WP sont de caractériser les mécanismes moléculaires à l'origine de la spécificité d'utilisation des facteurs d'initiation de la traduction par différents virus à ARN (potyvirus et sobémovirus) afin de définir des critères pour une utilisation efficace et durable des ces facteurs de résistance.

Analyse du polymorphisme au locus eIF4E1-pvr2 chez *Capsicum* – Impact du polymorphisme sur la résistance au PVY, TEV et PepMoV, sur l'interaction avec les VPg des potyvirus et sur la fonction de traduction. Une analyse du polymorphisme au locus eIF4E1-pvr2 a été effectuée chez 100 nouvelles accessions de différentes espèces de *Capsicum*. En plus des 10 variants alléliques précédemment caractérisés, **cette étude a permis d'identifier 14 nouveaux variants présentant de nouvelles combinaisons de substitutions en acides aminés et/ou de nouvelles substitutions illustrant ainsi l'extrême diversité à ce locus.** A l'exception de 2 positions (AA51 et 219), ces substitutions se localisent dans les régions I et II de la protéine eIF4E précédemment démontrées comme impliquées dans la résistance et dans l'interaction avec la protéine virale VPg des potyvirus (Charron et al. 2008, Plant J).

L'analyse du niveau de résistance des géotypes correspondant à ces nouveaux variants alléliques ainsi que les tests d'interaction eIF4E1/VPg confirme que la résistance aux potyvirus est corrélée à l'absence d'interaction eIF4E1-pvr2 / VPg alors que la sensibilité s'accompagne d'une restauration de cette interaction. De plus, nous confirmons qu'une mutation dans la région I est nécessaire et suffisante pour la résistance au PVY. D'autre part, un second allèle de résistance au TEV, pvr2¹⁴, a été mis en évidence. A la différence de l'allèle pvr2² précédemment caractérisé comme responsable de la résistance au PVY et TEV et présentant des substitutions dans les régions I et II (AA67-79 et AA109), l'allèle pvr2¹⁴ porte 3 substitutions dans la région I (AA66-67-73) et une substitution hors des régions I et II à la position 219. Selon la structure 3D de la protéine eIF4E de blé, cette position 219 est localisée à la surface de la protéine au voisinage des zones I et II, proche de la zone de cap binding. De plus, la substitution change la nature de l'AA puisqu'il s'agit d'une substitution d'un AA négatif et hydrophile (acide aspartique) à un AA non polaire et hydrophobe (glycine). **L'ensemble de ces éléments suggère qu'en plus des régions I et II, une nouvelle région III (AA219) influencerait la résistance aux potyvirus et son spectre en agissant directement ou indirectement sur la structure / fonction de la protéine.**

Sur la base de l'analyse du polymorphisme naturel, et afin de déterminer l'impact des différentes substitution en AA sur le spectre de résistance, 30 allèles mutants de eIF4E1 avec 1, 2 ou 3 changement en AA ont été obtenus par mutagenèse dirigée et étudiés pour leur niveau d'interaction avec les VPg de trois potyvirus. Cette expérience a permis de montrer que **la combinaison de deux substitutions en AA (en position 67 ou 79 dans la région I de la protéine + en position 109 de la région II) était nécessaire et suffisante pour abolir l'interaction avec les VPg de l'ensemble des potyvirus.** De plus ces changements en AA, ne semblent pas affecter la capacité de traduction de la protéine (complémentation fonctionnelle dans la levure). **Ces résultats sont en cours de validation par complémentation in planta, avant publication.**

Analyse du polymorphisme au locus rymv1-eIF(iso)4G1 chez le riz et impact du polymorphisme sur l'interaction avec la protéine VPg du RYMV. En comparaison avec la situation observée chez le piment, le polymorphisme au locus rymv1-eIF(iso)4G1, analysé

chez 14 accessions de riz africains (*Oryza glaberrima*) sensibles au RYMV et chez 10 accessions de riz africain et 10 accessions de riz sauvage (*O. barthii*) inclus dans un projet de séquençage génomique chez le riz, est très faible. **Une interaction forte entre le domaine central (MIF4G) de *rymv1-1* et la VPg du RYMV a été mise en évidence en système double hybride dans la levure [publication 1 : Hébrard et al., 2010].** Le changement en AA responsable de la résistance de l'allèle *rymv1-2* affecte fortement l'interaction sans l'abolir totalement. **De façon similaire à ce qui est observé dans l'interaction piment-potyvirus, les mutations de virulence qui émergent dans la VPg face à *rymv1-2* restaurent l'interaction.** L'effet des allèles *rymv1-2* et *1-5* sur l'interaction avec la VPg sont similaires alors que celui des allèles *rymv1-3* et *1-4* apparaît plus faible. **La position 49 de la VPg (sous forte sélection diversificatrice) joue un rôle décisif sur la capacité d'adaptation du virus aux allèles de résistance.** En effet, les souches d'Afrique de l'Ouest incapables, ou presque, de contourner la résistance conférée par l'allèle *rymv1-2* possèdent une thréonine en 49. Cet AA diminue l'interaction avec *rymv1-2* en système double hybride, qu'elle soit en combinaison ou pas avec les mutations de virulence. Les isolats possédant un acide glutamique en position 49 (E49) sont incapables de contourner la résistance conférée par l'allèle *rymv1-3* [publication 2 : Poulicard et al., 2012].

Spécificité d'utilisation des facteurs eIF4E et eIF4G par différents virus à VPg.

L'objectif de ce volet est de comparer l'utilisation des protéines eIF4E et eIF4G d'*Arabidopsis* par différents genre de virus à VPg (*Potyvirus*, *Sobemovirus* et *Polérovirus*) via des tests d'interaction protéine-protéine. Concernant les *Sobemovirus*, une forte interaction a été mise en évidence entre la VPg du RYMV et le domaine MIF4G d'At eIF(iso)4G1 et At eIF(iso)4G2 alors que ni At eIF4G ni les isoformes At eIF4E n'interagissent avec la VPg du RYMV. **Ces résultats suggèrent que le virus RYMV maintient sa spécificité de recrutement des isoformes iso4G des facteurs d'initiation de la traduction chez la plante non-hôte *Arabidopsis*.** Pour ce qui concerne les *Potyvirus*, des tests d'interaction ont été réalisés avec les VPg de deux potyvirus : le TuMV qui recrute eIF(iso)4E pour infecter *Arabidopsis* et le CIYVV qui recrute eIF4E. Dans tous les cas, aucune interaction n'a pu être détectée avec les protéines eIF4G d'*Arabidopsis* (eIF4G, eIF(iso)4G1 et eIF(iso)4G2) alors que certains des mutants eIF4G sont résistants aux potyvirus (Nicaise et al., 2007, FEBS). **Ces résultats montrent que le *Potyvirus*, interagissent, via leur VPg, de façon spécifique avec les protéines eIF4E.** Finalement, pour les *Polerovirus*, nous avons montré que l'accumulation du *Turnip yellows virus* (TuYV) chez *Arabidopsis* était dépendante de la présence et de l'interaction avec de eIF(iso)4G1, alors que celle du *Beet mild yellowing virus* (BMVYV) et du *Beet western yellows virus-USA* (BWYV-USA) était dépendante de eIF4E1. **Cette étude met en évidence une situation inédite jusqu'alors pour laquelle des virus apparentés appartenant à un même genre utilisent soit des protéines de la famille eIF4E, soit celles de la famille eIF4G [Publication 3 : Reinbold et al., 2012, publication acceptée avec modification mineure dans MPMI].**

Bases moléculaires de la spécificité d'utilisation des différentes isoformes de eIF4E par les différents potyvirus – rôle des régions régulatrices. L'objectif est de mieux comprendre les facteurs déterminant la spécificité d'utilisation des isoformes eIF4E par les potyvirus, en plus particulièrement aux régions régulatrices des différents gènes. Il s'agit d'étudier par transgénèse chez *Arabidopsis* le profil d'expression dirigé par les promoteurs des différents gènes eIF4E (eIF4E1, eIF4E2, eIF4E3 and eIF(iso)4E) et de réaliser des expériences d'échanges

de promoteurs (promoter swapping) ou de portions codantes entre différents gènes d'une même espèce, ou entre différentes espèces. Du fait de gros problèmes phytosanitaires (champignons attaquant les hampes florales et empêchant d'obtenir des fleurs pour les expériences de transformation)- enfin résolu- et de vecteurs pour le clonage, l'ensemble des tâches ayant pour objet la transformation de mutants d'arabidopsis a été retardée. Nous disposons maintenant de toutes les lignées transgéniques à la génération T2 et T3 et les tests d'expressions de promoteurs et de résistance aux virus seront réalisés en 2012, après la fin du projet.

WP2 – Etude du rôle des gènes eIF4E et eIF4G dans la résistance aux Népovirus chez la vigne

Partenaires impliqués : P4 (équipe D. Merdinoglu/O. Lemaire, INRA) et P1 (équipe C. Caranta/J.L. Gallois, INRA)

Les objectifs de ce WP sont de déterminer si les facteurs d'initiation de la traduction eIF4E et/ou eIF4G sont impliqués dans l'interaction entre le GFLV et l'ArMV (Népovirus responsables de la maladie du court Noué de la vigne) et la vigne et pourraient constituer une cible pour la résistance à ce virus. Ces travaux sont basés sur le fait qu'une interaction entre la NIa (précurseur de la VPg) du *Tomato ringspot virus* (genre Népovirus) et l'isoforme eIF(iso)4E d'*Arabidopsis* a été mise en évidence (Léonard et al., 2002, J. Gen. Virol.). Des approches de génétique d'association et d'analyse des interactions entre protéines eIF et protéines virales ont été mises en œuvre.

Identification *in silico* des gènes codant pour les facteurs d'initiation de la traduction chez la vigne. Un gène eIF4E et un eIF(iso)4E, se trouvent respectivement sur les chromosomes 10 et 5. Un gène eIF4G possédant les deux domaines MIF4 et MA3 et homologue à celui d'*A. thaliana* se trouve sur le chromosome 15. Deux copies du gène eIF(iso)4G ont été confirmées : eIF(iso)4Ga sur le chromosome 4 et eIF(iso)4Gb sur le chromosome 11.

Polymorphisme des gènes eIF4E, eIF(iso)4E, eIF4G, eIF(iso)4Ga et eIF(iso)4Gb. L'analyse de séquences du transcrit du gène eIF4E, obtenue à partir de 103 génotypes, a mis en évidence 25 SNPs dont 9 conduisant à un changement d'acides aminés (dont 3 dans le domaine actif) et un InDel concernant 59 acides aminés dans le deuxième exon. Parmi les 14 SNP observés dans les exons du gène eIF(iso)4E, 7 sont non synonymes et une mutation dans le codon 80 correspond à un codon STOP. L'analyse de la région MIF4G du gène eIF4G sur 137 génotypes montre 6 SNP (dont 3 non synonymes) et une délétion dans le codon 1014 qui génère une protéine tronquée au 1019^{ème} acide aminé. La région MA3 du même gène présente 12 SNP, dont 3 non synonymes. Pour le domaine MIF4G du gène eIF(iso)4Ga, 15 SNP dont 7 non synonymes ont été observés alors qu'un seul SNP synonyme a été mis en évidence dans le domaine MA3. La séquence du domaine MIF4G du gène eIF(iso)4Gb (chromosome 11) a été analysée chez 146 génotypes permettant la détection de 15 SNP dont 5 non synonymes. Le domaine MA3 de ce gène présente 7 SNP dont un seul induit un changement d'acide aminé.

Analyse de l'association entre le polymorphisme des facteurs d'initiation de la traduction et la résistance au GFLV chez la vigne. Les plantes homozygotes pour chaque haplotype ont été sélectionnées parmi 6 descendances S1 (S1 d' Uburebekur, Mondeuse, *Vitis berlandieri* fertile

1, César N, Cot1 et Bobo) représentant de façon optimale le polymorphisme initial observé. Elles ont été plantées dans des bacs contenant des nématodes virulifères en juin 2010 afin de tester leur potentiel à résister à l'infection par le virus du court-noué. Une détection du GFLV par test ELISA a été réalisée en juillet 2011 sur 112 plantes S1 survivantes (sur 140 plantes). Le taux d'infection dans le témoin sensible (lignée 40024) était de seulement 19% mais restait conforme à la cinétique d'infection du GFLV de la vigne par nématode après un an de plantation. Du fait des contraintes inhérentes à la biologie de la vigne, **le phénotype de sensibilité/résistance au GFLV de ces plantes S1 sera établi après 2 années supplémentaires de culture et de tests ELISA vis-à-vis du GFLV.**

Etudes des interactions en YTH entre les isoformes de eIF4E et la NiA du GFLV et de l'ArMV. Les tests d'interactions réalisés avec les 5 protéines eIF de *Vitis vinifera* (4E, iso4E-2 constructions différentes-, 4G, iso4Ga et iso4Gb) ainsi qu'avec les 5 protéines eIF d'*Arabidopsis* (constructions fournies par l'INRA d'Avignon, 4E, iso4E, 4G, iso4G1 et iso4G2) et les protéines Nia, VPg et Protéinase du GFLV et de l'ArMV **n'ont montré aucune interaction positive**. Les résultats préliminaires précédemment acquis, concernant une interaction positive en double hybride entre la protéinase du GFLV et de l'ArMV et le facteur eIF(iso)4E, n'ont pas été confirmés. Nous avons en effet montré que ce faux positif correspondait à une activité d'auto-activation de l'ancienne construction iso4E. L'analyse par Western-blot a permis de vérifier la bonne expression des protéines de fusions de l'ensemble des constructions testées permettant de conclure à une non interaction des protéines 1C et 1D du GFLV et de l'ArMV avec les facteurs eIF4 de vigne et d'*Arabidopsis*.

WP3 : Caractérisation de nouveaux facteurs récessifs de résistance aux virus à ARN chez les plantes

Partenaires impliqués : P2 (équipe L. Albar, IRD) et P1 (équipe C. Caranta/J.L. Gallois, INRA)

L'objectif de ce WP est de cloner de nouveaux facteurs récessifs de résistance aux virus à ARN différents des facteurs d'initiation de la traduction eIF4E et eIF4G afin de diversifier les cibles pour la lutte génétique contre les phytovirus. Les facteurs de résistance ciblés sont chez le riz, le gène de résistance élevée au *Rice yellow mosaic virus* RYMV2 (Thiemele et al., 2010) et deux QTL de résistance partielle (localisés sur les chromosomes 1 et 12, Boisnard et al., 2007, TAG) et chez *Arabidopsis thaliana*, le gène récessif *rwm1* contrôlant la résistance au *Watermelon mosaic virus* (Potyvirus). Pour l'ensemble de ces facteurs, des stratégies de clonage positionnel ont été mises en œuvre.

Caractérisation de nouveaux gènes de résistance au RYMV (Sobemovirus) chez le riz

Pour le **clonage du gène RYMV2**, plus de 3500 plantes en ségrégation pour le gène d'intérêt et dérivées du croisement interspécifique entre la variété *O. sativa* sensible, IR64, et la variété *O. glaberrima* résistante, AC104589 ont été criblées. Le gène RYMV2 a été localisé dans un intervalle de 28,9kb. Dans la première moitié de cette région, cinq gènes ont été annotés sur la séquence de la variété de référence Nipponbare, tandis que la deuxième moitié est riche en éléments répétés (Ouyang et al., 2007, NAR). Plus de 93% de la région a été séquencée chez l'accèsion AC104589 et comparée à des accessions porteuses de l'allèle de sensibilité. Hormis trois incertitudes liées à la présence de poly-A, seules deux mutations sont spécifiques de l'accèsion AC104589. La première est un SNP dans une région non codante ; la seconde est la délétion d'un nucléotide dans le premier exon du gène Os01g68970, générant un changement de cadre de lecture au niveau du 17^{ème} acide aminé et

une protéine tronquée. **L'homologue de ce gène chez *A. thaliana* est le gène *HYS1/CPR5***, décrit comme étant impliqué dans la sénescence et la résistance constitutive à des pathogènes fongiques et bactériens (Yoshida et al., 2002, Plant J). Grâce à un site de restriction associé à la délétion, cette mutation a pu être identifiée chez trois autres accessions *O. glaberrima* résistantes, tandis qu'elle est absente chez 115 autres, dont une large majorité d'accessions sensibles, représentant *O. glaberrima* (87 accessions), *O. barthii* (riz sauvage africain, 9) et *O. sativa* (19).

Le QTL de résistance partielle identifié sur le chromosome 1 était initialement cartographié sur un intervalle de 1,8Mb dans la région du gène *RYMV2*. La cartographie fine de ce QTL à partir de recombinants issus de rétrocroisements avancés a permis de le localiser dans un intervalle de 211kb, avec une forte probabilité. Le gène *RYMV2* est localisé au centre de cet intervalle, suggérant que **le même gène pourrait être impliqué à la fois dans la résistance partielle et la résistance élevée**. Le séquençage du gène candidat Os01g68970 chez les accessions parentales IR64 et Azucena a révélé sept substitutions d'acides aminés, quelques SNPs dans les introns et les UTRs, ainsi que deux insertions-délétions de 31 et 48 nucléotides dans la région promotrice.

Le niveau d'expression du gène candidat est en cours d'analyse chez des plantes saines ou infectées, différents temps après inoculation, par QPCR, afin de tester une potentielle différence dans la régulation de ce gène entre IR64 et Azucena. Par ailleurs des mutants T-DNA de ce gène sont disponibles et leur analyse permettra une ultime vérification du rôle de ce gène dans la résistance. La validation de ce candidat constituera la première mise en évidence de ce gène dans la résistance naturelle à un virus.

Un autre QTL avait été précédemment identifié sur le chromosome 12, dans un intervalle de 1,6Mb présentant une forte restriction à la recombinaison. Des lignées transgéniques surexprimant un gène candidat de la famille des facteurs d'initiation de la traduction de type 4G (*eIF4G-like*) avait été générées. La caractérisation des plantes transgéniques surexprimant le gène *eIF4G-like* n'a mis en évidence aucune modification du niveau de résistance ou de sensibilité au RYMV, suggérant que le gène candidat n'est pas impliqué dans la résistance partielle et n'est donc pas responsable du QTL identifié sur le chromosome 12.

Caractérisation de nouveaux gènes de résistance au WMV (Potyvirus) chez *Arabidopsis thaliana*

Dans l'objectif de caractériser de nouveaux facteurs de l'hôte nécessaires au cycle infectieux des virus, le pathosystème *Arabidopsis/ Water melon mosaic virus* (WMV) a été développé [publication 4, Ouibrahim and Caranta, soumise à *Molecular Plant Pathol.*]. Le criblage d'une collection de 53 accessions d'*A.thaliana*, représentative de la diversité génétique de l'espèce, a permis de mettre en évidence des interactions compatibles (infection asymptomatique de la plante par le virus) et incompatibles (résistance au potyvirus). L'analyse du **déterminisme génétique du phénotype de résistance identifié chez l'accession Cvi-0 indique que la résistance est gouvernée par un gène récessif nommé *rwm1* (*resistance to watermelon mosaic virus 1*)**. La résistance contrôlée par *rwm1* est efficace vis-à-vis de l'ensemble des souches testées (5) et agit à un stade précoce de l'infection, en abolissant l'accumulation de l'ARN viral au niveau des tissus inoculés. La caractérisation phénotypique de lignées recombinantes fixées de type NILs (*Near Isogenic Lines*) a permis de **localiser le gène de résistance au niveau du bras long du chromosome 1 d'*A.thaliana***. Par

une approche de clonage positionnel, *rym1* a été **cartographié dans un intervalle de 114 kb, contenant 30 gènes**. Parmi ces 30 gènes et sur la base d'une analyse de la littérature, le gène codant pour la **phosphoglycerate kinase chloroplastique (cPGK, At1g56190)** a été sélectionné comme gène candidat pour la résistance au WMV. La comparaison des séquences cPGK entre le génotype résistant (Cvi-0) et des génotypes sensibles a permis d'identifier **un seul changement en acide aminé localisé (S78G)** dans la partie N-ter de la protéine distinguant la protéine cPGK du génotype résistant de celle des génotypes sensible. En parallèle, des expériences de *virus-induced gene silencing* (VIGS) conduites chez le tabac montrent une **importante diminution de l'accumulation de l'ARN et de la protéine capsidale du WMV au niveau des feuilles silencées pour la cPGK**. **L'ensemble de ces résultats (actuellement complétés par la validation fonctionnelle chez *Arabidopsis*) suggèrent un rôle de la cPGK dans l'interaction Arabidopsis/WMV et dans la résistance contrôlée par *rym1*** [Publication 5 : Ouibrahim et al., publication soumise à Plant Physiol].

C.5 EXPLOITATION DES RESULTATS

Au delà des connaissances fondamentales sur les interactions plantes-virus et de la production académique, les résultats obtenus dans le cadre du projet MOVIE présentent plusieurs intérêts pour le développement et l'utilisation de variétés résistantes aux virus :

- Des critères pour le choix des allèles de résistance eIF4E à utiliser dans les programmes de sélection pour la résistance aux *Potyvirus* : identification de la combinaison optimale de mutations dans eIF4E pour une résistance à large spectre ;
- Des stratégies de déploiement des allèles de résistance eIF4E ou eIF4G en fonction de souches virales présentes dans les zones de culture : étant donnée la forte structuration spatiale de la diversité moléculaire du RYMV en Afrique (souche à 49T absentes en Afrique de l'Est), le résultat sur le polymorphisme impliqué dans l'adaptabilité du virus aux allèles de résistance *rymv1-2* et *1-3* (VPg 49 E/T) devra être pris en compte dans la stratégie de déploiement des résistances (déploiement préférentiel de l'allèle *rymv1-3* en Afrique de l'Est) ;
- L'utilisation des gènes eIF4E ou eIF4G pour le développement de variétés résistantes à de nouveaux virus : première démonstration du rôle des facteurs eIF dans l'interaction avec les Polérovirus ;
- De nouveaux gènes (et marqueurs pour la sélection) et mécanismes de résistance pour diversifier les cibles pour la lutte génétique contre les virus : *cPGK* pour la résistance aux Potyvirus et possiblement pour la résistance aux Potexvirus exploitable chez les Solanacées par une approche de biologie translationnelle (les Potexvirus constituent une des maladies virales les plus dommageables aux cultures de tomate) et *HYS1/CPR5* pour la résistance aux Sobemovirus chez le riz. Des marqueurs étroitement liés au locus de résistance *HYS1/CPR5*, et potentiellement un marqueur spécifique de la mutation conférant une résistance élevée, ont été générés. Ils faciliteront la sélection assistée par marqueur du gène d'intérêt et le pyramidage de ce gène avec le gène de résistance *RYMV1*. Ces marqueurs pourront être transférés vers des partenaires, notamment l'AfricaRice (Cotonou, Bénin), impliqués dans des programmes de sélection.

C.6 DISCUSSION .

Degré de réalisation des objectifs initiaux

WP1 – Bases moléculaires de la résistance et spécificité d'utilisation des facteurs eIF4E et eIF4G par les potyvirus et sobemovirus

L'ensemble des objectifs initiaux du WP1 ont été réalisés excepté ceux concernant le rôle des régions régulatrices des différentes isoformes de eIF4E dans la spécificité d'utilisation par les Potyvirus. Du fait de gros problèmes phytosanitaires (champignons attaquant les hampe florales et empêchant d'obtenir des fleurs pour les expériences de transformation)- enfin résolu- et de vecteurs pour le clonage, l'ensemble des tâches ayant pour objet la transformation de mutants d'arabidopsis a été retardée. Nous disposons maintenant de toutes les lignées transgéniques à la génération T2 et T3 et les tests d'expressions de promoteurs et de résistance aux virus seront réalisés en 2012, après la fin du projet.

WP2 : Etude du rôle des gènes eIF4E et eIF4G dans la résistance aux Népovirus chez la vigne. Les objectifs expérimentaux fixés ont été entièrement réalisés. Néanmoins le phénotypage de la résistance au court-noué doit être complété par au moins deux années d'analyses par ELISA au niveau des feuilles. En cas de phénotype de résistance identifiés chez les génotypes porteurs de mutations dans les allèles eIF, des analyses par Q-RT-PCR pourront être éventuellement réalisées au niveau des racines afin de préciser le niveau de résistance.

WP3 : Caractérisation de nouveaux facteurs récessifs de résistance aux virus à ARN chez les plantes. Dans le cadre du projet, deux nouveaux gènes de résistance aux virus ont été clonés (où sont en passe de l'être pour ce qui concerne le riz), ce qui dépasse les objectifs affichés et constitue un résultat plus qu'honorable dans le cadre d'un projet de 3 ans.

C.7 CONCLUSIONS

Ce projet ambitieux conduit chez différents couples plante-virus à ARN (Solanacées, Arabidopsis, riz et vigne / potyvirus, sobémovirus, polérovirus, népovirus) a incontestablement produit des résultats significatifs du point de vue fondamental (connaissances originales sur les bases moléculaires des interactions plantes-virus) mais également du point de vue appliqué (Cf § Exploitation des résultats). Des perspectives de ce travail sont envisagées par les partenaires dans le cadre de nouveaux projets ANR et également dans le cadre de contrats de recherche avec des partenaires privés (semenciers).

C.8 REFERENCES

Citées dans le texte

D LISTE DES LIVRABLES

Quand le projet en comporte, reproduire ici le tableau des livrables fourni au début du projet. Mentionner l'ensemble des livrables, y compris les éventuels livrables abandonnés, et ceux non prévus dans la liste initiale.

Date de Livraison	N°	Titre	Nature (rapport, logiciel, prototype, données, ...)	Partenaires (souligner le responsable)	Commentaires
<u>WP1 – Bases moléculaires de la résistance et spécificité d'utilisation des facteurs eIF4E et eIF4G par les potyvirus et sobemovirus</u>					
Juin 2009	1.1.1 - A	Analysis of eIF4E natural polymorphism in pepper lines resistant to PVY , TEV and PepMov	données	P1 (Lacombe, <u>Caranta</u>)	
Janvier 2011	1.1.1 - B	eIF4E haplotypes / VPgs interaction analysis – Pepper/PVY, TEV, PepMov	données	P1 (Lacombe, <u>Caranta</u>)	
Décembre 2011	1.1.2 - C	Analysis of eIF(iso)4G natural polymorphism (MiF4G domain) in rice – Rice/RYMV	données	P3 (<u>Hébrard</u>)	
Juin 2010	1.1.2 - D	eIF(iso)4G haplotypes / VPgs interaction analysis – Rice/RYMV	données	P3 (<u>Hébrard</u>)	
Décembre 2010	1.1.3 - E	Targeted mutagenesis and impact of mutations on interaction with the VPg – Pepper /PVY, TEV, PepMoV	données	P1 (Lacombe, <u>Caranta</u>)	
Juin 2011	1.1.3 - F	Targeted mutagenesis and impact of mutations on interaction with the VPg – Rice/RYMV	données	P3 (<u>Hébrard</u>)	
Juin 2010	1.1.4 - G	Crossed interaction with 4E and 4G – pepper/poty and rice/sobemo	données	P1 (Lacombe, <u>Caranta</u>) P3 (<u>Hébrard</u>)	
Non délivré	1.2.1 - H	Promoter analysis – Arabidopsis/ TuMV, CIYVV	données	P1 (<u>Gallois</u> , <u>Caranta</u>)	Retard du à des problèmes de champignons sur les hampes florale d'Arabidopsis empêchant la transformation. Transformants obtenus en Juin 2012 et tests de résistance en cours
Non délivré	1.2.2 - I	Specificity of use of eIF4E isoforms in Arabidopsis / TuMV, CIYVV, TEV	données	P1 (<u>Gallois</u> , <u>Caranta</u>)	Idem de 1.2.1 H
Non délivré	1.3.1 - J	Heterologous complementation – pepper eIF4E in Arabidopsis / TEV,	données	P1 (<u>Gallois</u> , <u>Caranta</u>)	Idem que 1.2.1 H

Date de Livraison	N°	Titre	Nature (rapport, logiciel, prototype, données, ...)	Partenaires (souligner le responsable)	Commentaires
		PVY			
WP2 : Etude du rôle des gènes eIF4E et eIF4G dans la résistance aux Népotavirus chez la vigne.					
Juin 2009	2.1.1 - M	Analysis of eIF4E and eIF(iso)4E polymorphism in grapevine varieties	données	P4 (Merdinoglu, Lemaire, Moumene, Prado)	
Décembre 2009	2.1.2 - N	Analysis of eIF4G and eIF(iso)4G polymorphism (MA3 and MiF4G domains) in grapevine varieties	données	P4 (Merdinoglu, Lemaire, Moumene, Prado)	
Décembre 2009	2.2.1 - O	Production of S1 seeds from grapevine varieties (haplotypes)	jalon	P4 (Merdinoglu, Lemaire, Moumene, Prado)	
Encore en cours	2.2.2 - P	Assessment of GFLV resistance of S1 individuals	données	P4 (Merdinoglu, Lemaire, Moumene, Prado)	Du fait de la biologie de l'interaction vigne-Népotavirus cette est tache sera poursuivie en 2012 et 2013
Décembre 2011	2.3 - Q	Molecular interactions between VPg, Pro and Nia of GFLV and ArMV and 4E and 4G isoforms from Grapevine and Arabidopsis	données	P4 (Moumene); P1 (caranta)	
Abandonné	2.3 - R	Mapping of the domain of the viral protein involved in the interaction	données	P4 (Moumene); P1 (caranta)	Tâche abandonnées du fait des résultats obtenus dans la 2.3 Q
WP3 : Caractérisation de nouveaux facteurs récessifs de résistance aux virus à ARN chez les plantes.					
Déc. 2010	3.1.1-S	Fine mapping of RYMV2	Donnée : Cartographie de RYMV2 dans un intervalle de moins de 30kb.	P2	
Juin 2011	3.1.1.- T	Fine mapping of QTL of chromosome 1	Donnée : Cartographie du QTL dans un intervalle de 210kb (contenant le gène RYMV2)	P2	
Décembre 2011	3.1.2. U&V	Characterization of candidate gene for RYMV2 and QTL of chromosome 1	Donnée : identification du gène candidat (Os01g68970). Analyse de la variabilité allélique. Données d'expression préliminaires.	P2	

Date de Livraison	N°	Titre	Nature (rapport, logiciel, prototype, données, ...)	Partenaires (souligner le responsable)	Commentaires
En cours	3.1.3. W&X	Functional validation of candidate gene		P2	L'effort a été préférentiellement mis sur le séquençage de l'accession candidate pour éliminer de potentiels candidats par absence de polymorphisme
Juin 2010	3.1.3. Y	Characterization of transgenic lines overexpressing eiF4G-like	Donnée : pas d'effet de la surexpression sur la résistance.	P2	
Approche non poursuivie	3.1.3. Z	Validation or reject of eiF4G-like as candidate for QTL12 using alternative strategies		P2	Approche non poursuivie, notamment en raison de l'absence d mutants dans le gène candidat
Abandonné	3.2.1 - AA	Allelism test for WMV2 resistance between Cvi and Bay0	données	P1 (L. Ouibrahim, <u>C. Caranta</u>)	Abandonné à cause de l'absence de reproductibilité du phenotype de résistance de Bay-0
LJuin 2010	3.2.2 - AB	Fine mapping of Cvi resistance gene – Arabidopsis/WMV2	données	P1 (L. Ouibrahim, <u>C. Caranta</u>)	
Abandonné	3.2.2 - AC	Fine mapping of Bay0 resistance gene if distinct from Cvi gene– Arabidopsis/WMV2	jalons	P1 (L. Ouibrahim, <u>C. Caranta</u>)	Abandonné à cause de l'absence de reproductibilité du phenotype de résistance de Bay-0
Décembre 2011	3.2.3 - AD	Functional validation of Cvi gene – Arabidopsis/WMV2	données	P1 (L. Ouibrahim, <u>C. Caranta</u>)	Validation fonctionnelle réalisée par VIGS chez le tabac. La complémentation fonctionnelle par transformation chez Arabidopsis est en cours.
Abandonné	3.2.3 - AE	Functional validation of Bay0 gene if distinct from Cvi gene– Arabidopsis/WMV2	données	P1 (L. Ouibrahim, <u>C. Caranta</u>)	Abandonné à cause de l'absence de reproductibilité du phenotype de résistance de Bay-0

E IMPACT DU PROJET

Ce rapport rassemble des éléments nécessaires au bilan du projet et plus globalement permettant d'apprécier l'impact du programme à différents niveaux.

E.1 INDICATEURS D'IMPACT

Nombre de publications et de communications (à détailler en E.2)

Comptabiliser séparément les actions monopartenaies, impliquant un seul partenaire, et les actions multipartenaires résultant d'un travail en commun.

Attention : éviter une inflation artificielle des publications, mentionner uniquement celles qui résultent directement du projet (postérieures à son démarrage, et qui citent le soutien de l'ANR et la référence du projet).

		Publications multipartenaires	Publications monopartenaies
International	Revue à comité de lecture	P2-P3 : [1] MPMI 2010 P2-P3 : [2] PLoS Pathog 2012	P1 : [3] MPMI 2012 P1 : [4] soumise MPP P1 [5] soumise Plant Physiol
	Ouvrages ou chapitres d'ouvrage		P1 : [6] Legall et al., 2011
	Communications (conférence)	P2-P3 : EMBO Workshop 2010 (poster)	P1: EMBO Workshop 2010 (com orale invitée) P1 : IAV, 2010 (com orale invitée)
France	Revue à comité de lecture		
	Ouvrages ou chapitres d'ouvrage		
	Communications (conférence)	P1-P2-P3 : Caranta et al., 2012, Plant Genomics (com orale)	P2 : Bouniol et al., 2011. RVV (poster) P1 : Lacombe et al., 2011, RVV (com orale) P1 : Ouibrahim et al., 2011, RVV (Com orale) P1: Reinbold et al., 2011. RVV (poster)
Actions de diffusion	Articles vulgarisation		
	Conférences vulgarisation		
	Autres		P2 : Thiemele, 2010 (thèse) P1 : Ouibrahim, 2012 (thèse, soutenance Sept)

Autres valorisations scientifiques (à détailler en E.3)

Ce tableau dénombre et liste les brevets nationaux et internationaux, licences, et autres éléments de propriété intellectuelle consécutifs au projet, du savoir faire, des retombées diverses en précisant les partenariats éventuels. Voir en particulier celles annoncées dans l'annexe technique).

	Nombre, années et commentaires (valorisations avérées ou probables)
Brevets internationaux obtenus	
Brevet internationaux en cours d'obtention	
Brevets nationaux obtenus	
Brevet nationaux en cours d'obtention	- Réflexion en cours avec Génoplante valor sur un dépôt de brevet sur la cPGK
Licences d'exploitation (obtention / cession)	
Créations d'entreprises ou essaimage	
Nouveaux projets collaboratifs	- Projet MENERGEP (collaboration avec AfricaRice, dans le cadre du Global Rice Science Partnership) - ANR KBBE VIREcrop (2010-2013) New plant susceptibility factors for virus resistance in tomato, melon and barley (coord. M. Aranda, CSIC)

Colloques scientifiques	8 communications lors de colloques scientifiques (cf liste ci-dessus)
Autres (préciser)	2 thèses

E.2 LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Répertorier les publications résultant des travaux effectués dans le cadre du projet. On suivra les catégories du premier tableau de la section **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** en suivant les normes éditoriales habituelles. En ce qui concerne les conférences, on spécifiera les conférences invitées.

En gras : personnes impliquées dans le projet MOVIE

Articles originaux dans revues à comité de lecture

[1] - Hébrard E, Poulicard N, Gérard C, Traoré O, Albar L, Fargette D, Bessin Y, Vignols F. 2010. Direct interaction between the Rice yellow mottle virus VPg and the central domain of the rice eIF(iso)4G1 factor correlates with rice susceptibility and RYMV virulence. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 23 (11):1506-1513.

[2] - Poulicard N, Pinel-Galzi A, Traoré O, Vignols F, Ghesquière A, Konaté G, Hébrard E, Fargette D. 2012. Historical contingencies modulate the adaptability of Rice yellow mottle virus, *PLoS Pathogens*, 8 (1): e1002482.

[3] – Reinbold, C., Lacombe, S., Ziegler-Graff, V., Scheidecker, D., Wiss, L., Beuve, M, Caranta, C. and Brault, V. Closely related poleroviruses depend on distinct translation initiation factors to infect *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *in revision*.

[5] - Ouibrahim, L., Mazier, M., Estevan, J., Lecoq, H., Desbiez, H., Pagny, G., Decroocq, V., Moretti, A., and Caranta, C. The chloroplast phosphoglycerate kinase is a candidate gene for rwm1-mediated resistance to Watermelon mosaic potyvirus in *Arabidopsis*. *Submitted*

Publications en cours de rédaction (soumission certaine en 2012) :

P2 : caractérisation d'un gène majeur et d'un QTL de résistance partielle au RYMV chez le riz.

Revue et Chapitres d'ouvrage

[4] – Ouibrahim, L. and Caranta, C. Exploitation of the natural genetic diversity to study plant-virus interactions: what can we learn from *Arabidopsis thaliana*? *Submitted to Molecular plant Pathology*

[6] – Le Gall, O., Aranda, M., and Caranta, C. 2011. Plant resistance to viruses mediated by translation initiation factors. In *Recent Advances in Plant Virology*, Eds C. Caranta, M. Aranda, M. Tepfer and JJ Lopez-Moya, Caister Academic Press, pp 177-194.

Communications dans des congrès

- Caranta, C., Lacombe, S., Ewert, S., Gallois, J.L., Ouibrahim, L., Moretti, A., Estevan, J., Albar, L., Ghesquière, A., Bouniol, J., Thiemele, D., Hébrard, E., Fargette, D., Vignols, F., Poulicard, N., Moumene, A., Prado, E., Beuve, M., Dumas, V., Komar, V., Vigne, E., Demangeat, G., Lemaire, O., Merdinoglu, D. 2012. Molecular basis of virus resistance mediated by host factors required for the infectious cycle. *Plant Genomics 2012*, 3-5 Avril 2012, Pont-Royal, France.

- Bouniol J., Thiémélé D., Chéron S., Ghesquière A, Albar L.. The résistance gene RYMV2, mapped in a 52kb-interval, may control both High and partial résistance against RYMV. 2011, 13^{ème} Rencontres de Virologie Végétale, Aussois, France 23-27/01.

- Lacombe S., Ewert, S., Moretti, A., Fouet, C., Caranta, C. 2011. Des régions clé de la protéine pvr2-eIF4E1 du piment gouvernent la résistance au potyvirus et son spectre. 13^{ème} Rencontre de Virologie Végétale d'Aussois, 16-20 Janv 2011, Aussois, France.

- **Ouibrahim, L.,** Moretti, A., Salgues, A., Giner-Rubio, A., Lecoq, H., Robaglia, C., **Caranta, C. 2011.** Towards the identification of new host factors required for plant susceptibility to potyviruses: novel routes to resistance. 13^{ème} Rencontre de Virologie Végétale d'Aussois, 16-20 Janv 2011, Aussois, France.
- Reinbold, C., **Lacombe, S.,** Ziegler-Graff, V., Scheidecker, D., Beuve, M., **Caranta, C.,** Brault, V. **2011.** Deux polérovirus recrutent différents facteurs d'initiation de la traduction pour l'infection d'*Arabidopsis thaliana*. 13^{ème} Rencontre de Virologie Végétale d'Aussois, 16-20 Janv 2011, Aussois, France.
- **Caranta, C.,** Ouibrahim, L., Lacombe, S., Robaglia, C., Gallois, J.L. **2010.** Host factors required for plant susceptibility to viruses: targets to improve plant resistance. EMBO Workshop Genomic approaches to interactions between plant viruses, their hosts and their vectors. 12-16 June 2010, Fenestrelle, Italy (*Communication orale invitée*).
- **Caranta, C.,** Ouibrahim, L., Lacombe, S., Salgues, A., Moretti, A., Gallois, J.L. **2010.** The fight for translation : use of translation initiation factors by plant RNA viruses. AAB Meeting, International Advances in Plant Virology, 5-7 September 2010, Arnhem, Netherland. (*Communication orale invitée*).
- Poulicard N, Pinel-Galzi A, Traoré O, Albar L, Vignols F, Ghesquière A, Konaté G, Hébrard E, Fargette E. **2010.** Ancient host adaptation modulated the actual resistance-breaking ability of the Rice yellow mottle virus. EMBO workshop « Genomic approaches to interactions between plant viruses, their hosts and their vectors », 12-16 juin 2010, Fenestrelle, Italy - poster –

Thèses

Ouibrahim, L. 2012. Identification et caractérisation de nouveaux facteurs de l'hôte impliqués dans les interactions plante-Potvirus. Thèse de l'Université d'Aix-Marseille. 192p.

E.3 LISTE DES ELEMENTS DE VALORISATION

*La liste des éléments de valorisation inventorie les retombées (autres que les publications) décomptées dans le deuxième tableau de la section **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** On détaillera notamment :*

- *brevets nationaux et internationaux, licences, et autres éléments de propriété intellectuelle consécutifs au projet.*
- *logiciels et tout autre prototype*
- *actions de normalisation*
- *lancement de produit ou service, nouveau projet, contrat,...*
- *le développement d'un nouveau partenariat,*
- *la création d'une plate-forme à la disposition d'une communauté*
- *création d'entreprise, essaimage, levées de fonds*
- *autres (ouverture internationale,..)*

Elle en précise les partenariats éventuels. Dans le cas où des livrables ont été spécifiés dans l'annexe technique, on présentera ici un bilan de leur fourniture.

- Sans objet -

E.4 BILAN ET SUIVI DES PERSONNELS RECRUTES EN CDD (HORS STAGIAIRES)

Ce tableau dresse le bilan du projet en termes de recrutement de personnels non permanents sur CDD ou assimilé. Renseigner une ligne par personne embauchée sur le projet quand l'embauche a été financée partiellement ou en totalité par l'aide de l'ANR et quand la contribution au projet a été d'une durée au moins égale à 3 mois, tous contrats confondus, l'aide de l'ANR pouvant ne représenter qu'une partie de la rémunération de la personne sur la durée de sa participation au projet.

Les stagiaires bénéficiant d'une convention de stage avec un établissement d'enseignement ne doivent pas être mentionnés.

Les données recueillies pourront faire l'objet d'une demande de mise à jour par l'ANR jusqu'à 5 ans après la fin du projet.

Identification				Avant le recrutement sur le projet			Recrutement sur le projet				Après le projet				
Nom et prénom	Sexe H/F	Adresse email (1)	Date des dernières nouvelles	Dernier diplôme obtenu au moment du recrutement	Lieu d'études (France, UE, hors UE)	Expérience prof. Antérieure, y compris post-docs (ans)	Partenaire ayant embauché la personne	Poste dans le projet (2)	Durée missions (mois) (3)	Date de fin de mission sur le projet	Devenir professionnel (4)	Type d'employeur (5)	Type d'emploi (6)	Lien au projet ANR (7)	Valorisation expérience (8)
Lacombe Séverine	F	severine.lacombe@ird.fr	Contact permanent pour la valorisation du projet MOVle (publications en cours de rédaction)	PhD	Fr	6 ans	P1 (UGAFL)	IR (post-doc)	30	30.09.2010	Recrutée comme chercheur	IRD Montpellier	Chercheur	oui	oui
Ewert Sophie	F	-	Décembre 2011	Master	Fr	3 ans	P1 (UGAFL)	IE	12	30.09.2011	Tour du monde pendant 1 an				
Bouniol-Orjuela Julie	F	julieaorjuela@gmail.com	Janvier 2012	Master	Hors UE/ France	2	P2 (LGDP)	IE	26	Dec. 2011	CDD	IRD	Ingénieur	Partenaire P2	Oui
Poulicard Nils	H	Nils.Poulicard@laposte.net	Janvier 2012	Master	Fr	0	P3 (RPB)	AI	0.5	01.12.2010	Post-doc étranger	Enseignement et recherche publique	Chercheur	non	Oui
Moumene Amal	F	amalmoumene@hotmail.fr	-	Master	Fr	2.5 ans	P4 (SVQV)	AI	18	31.08.2010	CDD	EPIC	Assistant Ingénieur	non	oui

Aide pour le remplissage

- (1) **Adresse email** : indiquer une adresse email la plus pérenne possible
- (2) **Poste dans le projet** : post-doc, doctorant, ingénieur ou niveau ingénieur, technicien, vacataire, autre (préciser)
- (3) **Durée missions** : indiquer en mois la durée totale des missions (y compris celles non financées par l'ANR) effectuées sur le projet
- (4) **Devenir professionnel** : CDI, CDD, chef d'entreprise, encore sur le projet, post-doc France, post-doc étranger, étudiant, recherche d'emploi, sans nouvelles
- (5) **Type d'employeur** : enseignement et recherche publique, EPIC de recherche, grande entreprise, PME/TPE, création d'entreprise, autre public, autre privé, libéral, autre (préciser)
- (6) **Type d'emploi** : ingénieur, chercheur, enseignant-chercheur, cadre, technicien, autre (préciser)
- (7) **Lien au projet ANR** : préciser si l'employeur est ou non un partenaire du projet
- (8) **Valorisation expérience** : préciser si le poste occupé valorise l'expérience acquise pendant le projet.

Les informations personnelles recueillies feront l'objet d'un traitement de données informatisées pour les seuls besoins de l'étude anonymisée sur le devenir professionnel des personnes recrutées sur les projets ANR. Elles ne feront l'objet d'aucune cession et seront conservées par l'ANR pendant une durée maximale de 5 ans après la fin du projet concerné. Conformément à la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 modifiée, relative à l'Informatique, aux Fichiers et aux Libertés, les personnes concernées disposent d'un droit d'accès, de rectification et de suppression des données personnelles les concernant. Les personnes concernées seront informées directement de ce droit lorsque leurs coordonnées sont renseignées. Elles peuvent exercer ce droit en s'adressant l'ANR (<http://www.agence-nationale-recherche.fr/Contact>).