



Identification des régions du génome de Potato virus Y impliquées dans les variations quantitatives de son pouvoir pathogène chez *Capsicum annuum*

Juliette Doumayrou

► To cite this version:

Juliette Doumayrou. Identification des régions du génome de Potato virus Y impliquées dans les variations quantitatives de son pouvoir pathogène chez *Capsicum annuum*. [Stage] Université de la Méditerranée (Aix Marseille 2), Marseille, FRA. 2008, 49 p. hal-02818913

HAL Id: hal-02818913

<https://hal.inrae.fr/hal-02818913>

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.

FACULTE DES SCIENCES DE LUMINY

Mémoire de Master 2

Présenté par

Juliette DOUMAYROU

Master 2 microbiologie, biologie végétale et biotechnologies

Identification des régions du génome de *Potato virus Y* impliquées dans les variations quantitatives de son pouvoir pathogène chez *Capsicum annuum*



Identification des régions du génome de Potato virus Y impliquées dans les variations quantitatives de son pouvoir pathogène chez Capsicum annuum by Doumayrou Juliette est mis à disposition selon les termes de la [licence Creative Commons Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 2.0 France](#).

Date de soutenance: 24/06/2008

Stage de master 2 effectué du: 04/01/2008 au 30/06/2008

Au sein de l'unité de pathologie végétale de l'INRA d'Avignon au domaine St Maurice dirigée par Cindy Morris

Sous la direction de M. Benoît Moury, Directeur de recherche de l'équipe de virologie



REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Cindy Morris, directrice de l'unité de pathologie végétale, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire pour ces six mois de stage de master 2.

Je remercie également Benoît Moury de m'avoir permis d'effectuer ce stage. Il a su m'apporter ses connaissances en virologie végétale qui m'était encore inconnue jusqu'alors, mais aussi en statistiques, en génétique évolutive et d'en plein d'autres domaines. Ton optimisme débordant nous a permis de réaliser un gros travail plutôt concluant avec de bonnes perspectives. Je te remercie de m'avoir soutenue (et supportée mes râleries) durant ces quelques mois en espérant continuer ce travail durant ces trois prochaines années de thèse.

Un grand merci à Vince (Vincent Simon) pour son aide précieuse durant les expériences, les nombreuses heures de notation de symptômes en serre et les dizaines de microplaques ELISA remplies. Merci à toi Vincent pour tes petites blagues !

Merci à Berenger Janzac d'avoir soutenu l'équipe en période difficile malgré ta rédaction de thèse. Bon courage pour la suite...

Je tiens à remercier Fred pour sa "mini" formation en programmation et en statistique. Promis, je lirai tous les livres de bio-statistique que tu m'as prêtés !!!

Je remercie aussi Cécile Desbiez, Alain Palloix, Véronique Lefèbvre et Carole Caranta de nous avoir apportés des petites informations, bien utiles, pour la réflexion des résultats.

Laurence, au plaisir de t'avoir rencontrée à Marseille et d'avoir passé 6 mois en ta compagnie, j'espère encore pour longtemps !

Un grand merci à "papa Bruno", mon masseur préféré, qui a été là quand j'en avais besoin, dans les bons comme les mauvais moments.

A vous techniciens et stagiaires, Laurent, Patrick, Catherine, Damien, Benoît J., Olivier S., Isabelle, Charlotte, Aurélie, Olivier R.... (et tous les autres), merci pour votre aide et votre soutien.

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS.....	- 4 -
A. INTRODUCTION.....	- 5 -
I. CARACTERISTIQUES DES INTERACTIONS PLANTES-PATHOGENES	- 5 -
I.1 <i>Résistance de l'hôte et fitness de l'agent pathogène.....</i>	- 5 -
I.2 <i>Tolérance de l'hôte et agressivité de l'agent pathogène.....</i>	- 7 -
II. CO-EVOLUTION ENTRE LES PLANTES ET LEURS AGENTS PATHOGENES	- 8 -
II.1 <i>Adaptation des agents pathogènes à leurs plantes hôtes</i>	- 8 -
II.2 <i>Adaptation des plantes aux agents pathogènes</i>	- 10 -
III. OBJECTIFS DU STAGE	- 11 -
B. MATERIEL ET METHODES.....	- 12 -
I. MATERIEL VEGETAL ET VIRAL	- 12 -
I.1 <i>Matériel viral</i>	- 12 -
I.2 <i>Matériel végétal</i>	- 12 -
II. METHODE D'INOCULATION DU PIMENT PAR LES CHIMERES DE PVY	- 12 -
II.1 <i>Obtention de virus infectieux.....</i>	- 12 -
II.2 <i>Inoculation mécanique des piments</i>	- 13 -
III. MESURE DES PARAMETRES QUANTITATIFS DU POUVOIR PATHOGENE	- 13 -
III.1 <i>Notation des symptômes.....</i>	- 13 -
III.2 <i>Masse de matière sèche relative des plantes inoculées.....</i>	- 13 -
III.3 <i>Concentration virale dans les plantes.....</i>	- 13 -
C. RESULTATS.....	- 14 -
I. ANALYSE DE LA VARIABILITE GENETIQUE DU POUVOIR PATHOGENE DU VIRUS ET DE LA RESISTANCE CHEZ LA PLANTE.....	- 14 -
I.1 <i>Choix d'un modèle d'analyse statistique</i>	- 14 -
I.2 <i>Comparaison entre génotypes viraux ou de plante pour les caractères quantitatifs du pouvoir pathogène</i>	- 16 -
I.3 <i>Capacité d'adaptation au gène de résistance pvr2³</i>	- 18 -
II. ANALYSE DES CORRELATIONS ENTRE VARIABLES	- 18 -
II.1 <i>Variabilité génétique de la tolérance des plantes</i>	- 18 -
II.2 <i>Corrélation entre la résistance et la tolérance chez les génotypes de plante.....</i>	- 19 -
II.3 <i>Corrélations entre fitness et agressivité chez les différents génotypes de virus.....</i>	- 20 -
D. DISCUSSION	- 20 -
I. CARTOGRAPHIE DES DETERMINANTS GENETIQUES DE VARIATION QUANTITATIVE DU POUVOIR PATHOGENE CHEZ LES VIRUS.....	- 20 -
II. LES TRANSGRESSIONS OBSERVEES PEUVENT REVELER L'HISTOIRE EVOLUTIVE DES VIRUS.....	- 22 -
III. MISE EN EVIDENCE DU ROLE DES DIFFERENTES REGIONS DU GENOME DU PVY DANS SON POUVOIR PATHOGENE.....	- 23 -

IV. LES CORRELATIONS ENTRE LES DIFFERENTES VARIABLES DU POUVOIR PATHOGENE CHEZ LE VIRUS ET DES MECANISMES DE DEFENSE CHEZ LA PLANTE	- 23 -
LISTE DES FIGURES.....	- 25 -
LISTE DES TABLEAUX	- 26 -
BIBLIOGRAPHIE	- 27 -

Abréviations

ADNc : Acide DésoxyriboNucléique complémentaire
ANOVA : ANalysis Of VAriance
ARNm : Acide RiboNucléique messenger
AUDPC : Area Under the Disease Progress Curve
Avr: gène d'avirulence
CI : Cylindrical Inclusion
CONC : CONCentration
CP : protéine de capsid (Capsid Protein)
DIECA : DIEthyl dithio CARbamate
ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
HcPro : Helper component Protease
HD : Haploïde Double
HR : réaction d'hypersensibilité (Hypersensitivity Reaction)
HSD : Honestly Significantly Different
LMV : *Lettuce mosaic virus*
Na₂HPO₄ : Phosphate de sodium
NBS-LRR : Nucleotide Binding Site-Leucine Rich Repeat
Nia : Nuclear Inclusion a
Nib : Nuclear Inclusion b
P1 : Protéine 1
P3 : Protéine 3
PCR : Polymerase Chain Reaction
PVY : *Potato virus Y*
QTL : Quantitative Trait Locus
RelMS : Matière Sèche Relative
TEV : *Tobacco etch virus*
UTR : UnTranslated Region ou région non-traduite des ARNs messagers
VPg : Viral Protein genome-linked
YW : Yolo Wonder
ZYMV : *Zucchini yellow mosaic virus*

A. Introduction

I. Caractéristiques des interactions plantes-pathogènes

Les maladies des plantes sont influencées par différents facteurs biologiques, notamment les génotypes de plante et d'agent pathogène, et environnementaux. Dans un environnement donné, les deux partenaires antagonistes, hôte et agent pathogène, vont tendre à maximiser leur valeur adaptative (ou fitness). Les bases génétiques de la fitness chez l'hôte et l'agent pathogène, leurs interactions et leurs relations avec la sévérité des symptômes chez l'hôte sont donc des connaissances clés pour comprendre la coévolution entre ces deux partenaires dans les milieux naturels, et pour limiter les pertes de rendement dues aux agents pathogènes dans les cultures.

I.1 Résistance de l'hôte et fitness de l'agent pathogène

a) Définitions

Pour la plante hôte, un phénomène qui permet de diminuer le niveau d'infection par un agent pathogène est appelé résistance (Rapilly, 1991, Van der Plank 1968). La résistance de l'hôte va donc diminuer la valeur adaptative de l'agent pathogène. La valeur adaptative d'un organisme vivant (nous utiliserons l'équivalent anglais « fitness » par la suite, comme il est d'usage dans la plupart des textes scientifiques en français) correspond à sa capacité à survivre et à transmettre son matériel génétique aux générations suivantes. Pour des parasites obligatoires comme les virus dont il sera question par la suite, elle inclut (1) le nombre de leurs hôtes potentiels, (2) leur capacité de reproduction au sein de ses hôtes et (3) leur capacité à être transmis d'un hôte à un autre.

La fitness de l'agent pathogène et la résistance de l'hôte varient globalement de façon inverse. C'est vrai, par définition, pour la capacité de reproduction de l'agent pathogène au sein de l'hôte considéré. Ce n'est pas toujours le cas pour les autres composantes de la fitness des agents pathogènes qui peuvent être difficilement conciliables entre elles ou avec la capacité de reproduction de l'agent pathogène (cf. II.1.b).

b) Cycle d'infection du virus dans la plante et mécanismes de résistance

Un cycle d'infection virale possède 4 étapes principales: (1) l'inoculation du virus, (2) la multiplication du virus dans les cellules inoculées, (3) la migration du virus dans la plante, tout d'abord entre cellules adjacentes par les plasmodesmes puis de façon systémique par les vaisseaux conducteurs de la sève, et enfin, dans le cas d'un virus transmis par un vecteur biologique, (4) l'acquisition du virus par ce vecteur qui pourra ensuite permettre d'initier l'infection d'une autre plante (figure 1). Chez la plante, des mécanismes de résistance (R) ont été développés, permettant

de réduire l'efficacité de chacune de ces étapes ou même de les empêcher totalement. De manière générale, les résistances agissant de façon quantitative sur ces étapes du cycle d'infection virale sont certainement les plus répandues dans la variabilité naturelle. Cependant, elles restent les moins connues à cause de la difficulté de leur étude.

La quasi-totalité des gènes de résistance caractérisés au niveau moléculaire appartiennent à la catégorie des résistances "qualitatives", c'est-à-dire, qui interrompent complètement le cycle d'infection virale à l'une de ses étapes (en général, la multiplication du virus dans les cellules de la plante hôte ou bien la migration au sein de celles-ci). Ces résistances sont la plupart du temps monogéniques et comprennent 2 catégories largement répandues.

➤ La première catégorie correspond à des gènes dominants de résistances codant pour différentes classes de protéines de type *Nucleotide Binding Site-Leucine Rich Repeat (NBS-LRR)*. Ces molécules "reconnaissent", de façon directe ou indirecte, des protéines des agents pathogènes appelées facteurs d'avirulence (Avr) selon le modèle "gène pour gène" (Flor, 1971). Ces gènes de résistance interviennent dans des interactions impliquant de nombreux types de parasites tels que des bactéries, des champignons, des virus, des insectes ou des nématodes. Lorsqu'il y a reconnaissance entre le produit du gène de résistance chez l'hôte et le produit du gène d'avirulence chez le virus, il y a résistance de l'hôte par inactivation de l'agent pathogène avirulent. L'interaction est dite "incompatible". Dans les autres cas, il n'y a pas de reconnaissance, l'agent pathogène peut infecter la plante. Les interactions sont dites "compatibles" (figure 2). Ce type de résistance se manifeste fréquemment par la mort des cellules de l'hôte autour des sites d'intrusion de l'agent pathogène et le confinement de celui-ci à proximité de ces lésions nécrotiques : c'est la réaction d'hypersensibilité (HR). Dans ce cas, le virus se multiplie dans les cellules inoculées de son hôte mais sa migration est inhibée au-delà de quelques rangs de cellules.

Lorsque la résistance de la plante est activée de façon très rapide et/ou très efficace, elle ne s'accompagne pas de mort cellulaire visible. Ce phénotype est appelé "résistance extrême" et peut être déterminé par le même type de gènes dominants que le précédent (Bendahmane et al., 1999). Dans ce cas, la résistance peut agir sur la multiplication intra-cellulaire du virus comme attesté lors d'expériences d'inoculation de cellules isolées (protoplastes).

➤ Il existe également des gènes récessifs de résistance aux virus, notamment aux *Potyvirus*, mais aussi à des *Sobemovirus* ou des *Bymovirus* (Robaglia et Caranta, 2006). Ces gènes récessifs codent pour des protéines appartenant au complexe d'initiation de la traduction des ARN messagers, protéines appartenant aux familles eIF4E ou eIF4G (figure 3). Ces protéines sont, en fait, des facteurs de sensibilité aux virus. Ainsi, une interaction physique directe entre les

protéines eIF4E de piment et une protéine structurale (protéine virale liée au génome ou VPg) du *Potato virus Y* (PVY) ou du *Tobacco etch virus* (TEV) est nécessaire pour que le virus puisse se multiplier dans son hôte (Charron et *al.*, 2008). Des mutations d'acides aminés chez ces protéines de plante peuvent abolir ou modifier leur interaction physique avec la protéine VPg virale et se traduire par une résistance de la plante en agissant soit sur la multiplication du virus, soit sur sa migration de cellule à cellule.

I.2 Tolérance de l'hôte et agressivité de l'agent pathogène

Certaines études montrent qu'il n'y a pas forcément une corrélation positive entre la reproduction de l'agent pathogène dans son hôte et la sévérité des symptômes qu'il cause chez celui-ci. Autrement dit, il peut n'y avoir aucune relation, ou même une corrélation positive entre la fitness de l'agent pathogène et celle de son hôte. Ceci met en évidence un autre mode d'adaptation des plantes aux agents pathogènes (la tolérance), distinct de la résistance. Plus précisément, la tolérance est définie comme étant la pente de la droite de régression entre la quantité de symptômes (ou d'autres mesures quantitatives de certaines composantes de la fitness de l'hôte) et la concentration de l'agent pathogène chez l'hôte (Raberg et *al.*, 2007; Simms, 2000).

La figure 4 illustre les relations possibles entre résistance et tolérance chez un hôte. Le comportement des deux génotypes d'hôtes (rouge et bleu) a été évalué après inoculation par plusieurs génotypes d'agent pathogène (différents points observés) en terme (i) de symptômes (ou fitness de l'hôte) et (ii) de concentration en agent pathogène, inversement corrélée avec la résistance de l'hôte. En (A), les 2 génotypes d'hôtes possèdent un même niveau de tolérance (pente de la droite de régression), mais le génotype rouge est plus résistant que le bleu. En (B), les deux génotypes ont la même résistance aux agents pathogènes mais le génotype rouge est plus tolérant que le bleu. En (C), les deux génotypes ont une résistance et une tolérance différentes. Enfin, en (D), les deux génotypes ont une résistance et une tolérance identiques. Cependant le génotype bleu possède une fitness supérieure à celle du génotype rouge. La tolérance a été mise en évidence essentiellement chez les plantes vis-à-vis des agents pathogènes ou des insectes herbivores (Pilson, 2001, Carr et *al.*, 2006). Elle a été récemment démontrée chez des lignées de souris inoculées avec *Plasmodium chabaudii*, agent pathogène de la malaria (Raberg et *al.*, 2007).

Généralement, la mesure de la tolérance de l'hôte se base sur celle de l'intensité des symptômes ou la cinétique de leur apparition (Area Under the Disease Progress Curve ou AUDPC; Matériel et méthodes III.1). Cependant, dans certains cas, la fitness de la plante n'est pas corrélée à l'intensité des symptômes (Salvaudon et *al.*, 2008). D'autres mesures de la fitness de l'hôte peuvent être utilisées. Idéalement, la fitness d'une plante se mesure par le nombre de graines produites capables de germer. Du fait de la difficulté expérimentale de cette mesure, d'autres

variables peuvent être employées telles que le nombre brut de graines (Salvaudon et *al.*, 2008) ou encore la masse de matière sèche ou la taille des plantes relatives à des plantes saines (Sacristán et García-Arenal, 2008).

Peu d'études portent sur les mécanismes de tolérance. Aucun gène de tolérance à un agent pathogène n'a été cloné à ce jour. Certaines caractéristiques du développement ou de l'architecture des plantes pourraient être impliquées dans la tolérance. En effet, les génotypes d'*Arabidopsis thaliana* tolérants ne montrent pas de perturbation des variables développementales et architecturales lors d'infection par oomycète parasite *Hyaloperonospora parasitica* par rapport à des plantes saines, ce qui révèle des mécanismes de compensation très efficaces vis-à-vis de l'infection par l'agent pathogène (Salvaudon, et *al.*, 2008, Stowe et *al.* 2000).

Plusieurs définitions du terme de "virulence" d'un agent pathogène existent en phytopathologie (Sacristán et García-Arenal, 2008). Nous avons déjà vu celle qui correspond aux interactions qualitatives plante-agent pathogène (Introduction I.1.b) où "virulence" s'oppose à "avirulence" et correspond à l'aptitude de l'agent pathogène à infecter un génotype de plante porteur d'un allèle particulier de résistance. Cette définition du terme "virulence" sera ici restreinte aux interactions plante-agent pathogène obéissant au modèle "gène pour gène". Une autre définition du terme "virulence" existe : "l'intensité des dommages induits par un agent pathogène à son hôte" (Sacristán et García-Arenal, 2008). Ces dommages peuvent être mesurés par l'intensité et/ou la cinétique des symptômes (AUDPC) (Jeger et Viljanen-Rollinson, 2000) ou bien par la réduction de la fitness de l'hôte (nombre de graines, taille ou matière sèche relatifs aux plantes témoins saines). Comme nous nous intéressons à la fois à des interactions qualitatives et quantitatives dans la suite du rapport, nous préférons le terme d'"agressivité" d'un agent pathogène pour la seconde acception afin d'éviter toute confusion. Ce terme est fréquemment utilisé en pathologie végétale pour désigner l'intensité des dommages induits par un agent pathogène à son hôte.

II. Co-évolution entre les plantes et leurs agents pathogènes

II.1 Adaptation des agents pathogènes à leurs plantes hôtes

a) Adaptation aux résistances et tolérances des plantes

L'adaptation des agents pathogènes aux résistances des plantes a été étudiée essentiellement dans le cas de résistances qualitatives. Cette adaptation se fait en trois étapes. La première étape est l'apparition d'un variant virulent, au sein d'une population d'agents pathogènes avirulents chez une plante infectée. Ceci se fait grâce à l'apparition d'une ou plusieurs mutations dans le facteur d'avirulence. Chez les virus, il s'agit essentiellement de substitutions d'acides aminés. Il y a ensuite une compétition entre le variant virulent et le reste de la population

avirulente, pour leur reproduction dans la plante. Enfin, les variants virulents devront être transmis aux plantes environnantes. Chez les plantes dépourvues du gène de résistance, les variants viraux virulents sont, en général, moins compétitifs que les variants avirulents et ils s'accumulent moins efficacement (Jenner et *al.* 2002). Cette diminution de fitness due à la virulence est appelée "coût de virulence".

L'adaptation des agents pathogènes à la tolérance des plantes est moins connue. Indépendamment de la résistance, le fait pour une plante d'être ou non tolérante n'aura aucune incidence sur la fitness de l'agent pathogène (figure 5b). En conséquence, il est fréquemment supposé que la tolérance de l'hôte n'exerce aucune pression de sélection sur les populations d'agents pathogènes. Cependant, Desbiez et *al.* (2003) ont observé une évolution rapide du *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) (genre *Potyvirus*) due à la pression de sélection exercée par le gène de tolérance *Zym-1* chez la courgette. La mutation d'un seul acide aminé dans la protéine P3 du ZYMV est responsable de l'adaptation du virus. De plus, la fitness du mutant viral adapté est plus grande que celle du virus sauvage chez les plantes porteuses du gène *Zym-1*. Même si cette adaptation ne confère aucun bénéfice immédiat au virus en terme de fitness (il s'accumule autant que le virus sauvage chez les plantes porteuses du gène *Zym-1*), il se pourrait que sa transmission de plante à plante, autre composante essentielle de la fitness, soit modifiée. Un "coût de l'adaptation à la tolérance", équivalent du coût de virulence, existe dans ce cas. En effet, le variant viral adapté à *Zym-1* est nettement moins compétitif que le virus sauvage chez les plantes dépourvues du gène *Zym-1* (Desbiez et *al.*, 2003).

b) Relations entre agressivité et fitness des agents pathogènes

L'apparition de symptômes chez les plantes infectées par un agent pathogène est souvent considérée comme la conséquence inéluctable de la multiplication de cet agent pathogène chez la plante, cette multiplication étant une composante essentielle de la fitness de l'agent pathogène. Ceci devrait se traduire par une corrélation positive entre l'agressivité des agents pathogènes et leur reproduction, ce qui fait l'objet de très nombreuses études. Cependant, seuls quelques cas montrent une corrélation positive entre ces 2 caractères (Fargette et *al.* 2002), alors que beaucoup d'études montrent qu'elle peut être nulle ou même négative (Sacristán et *al.*, 2005, Sacristán et Garcia Aréñal, 2008). Ces situations mettent en évidence des mécanismes de tolérance chez la plante hôte. Cette difficulté à combiner agressivité élevée et forte capacité multiplicative par les agents pathogènes pourrait être due à des corrélations génétiques négatives entre ces deux caractères ou entre plusieurs composantes de la fitness des agents pathogènes. Aussi, si à court terme l'agent pathogène peut avoir intérêt à se multiplier efficacement chez son hôte pour se

disséminer, cette multiplication pourrait être défavorable à long terme si elle entraîne trop de dommages à l'hôte (Salvaudon et *al.*, 2008).

II.2 Adaptation des plantes aux agents pathogènes

Comme nous l'avons vu précédemment, résistance et tolérance sont deux mécanismes qui permettent à la plante de s'adapter aux agents pathogènes et d'en éviter les dommages. Ce ne sont pas des mécanismes de défense exclusifs l'un de l'autre mais les pressions de sélection favoriseraient l'apparition de l'un ou l'autre de ces deux mécanismes. Roy et Kirchner (2000) ont émis l'hypothèse de mécanismes évolutifs différents aboutissant à la résistance ou à la tolérance, alors que leur bénéfice est *a priori* semblable pour la plante. Dans le cas de l'apparition de gènes de résistance (figure 5a), la fréquence de ceux-ci va augmenter dans les populations de plantes du fait du bénéfice conféré lors de la présence de l'agent pathogène. La fréquence des infections va cependant diminuer du fait de ces gènes de résistance qui diminuent la taille des populations d'agents pathogènes. Cela va réduire le bénéfice conféré aux plantes par ces résistances. Selon les auteurs, les résistances ne se fixeront donc pas dans les populations de plantes. Dans le cas de gènes de tolérance (figure 5b), l'augmentation de leur fréquence chez les plantes ne va pas diminuer la taille des populations d'agents pathogènes et donc l'avantage conféré aux plantes par ces gènes de tolérance sera permanent. Ces gènes pourront donc se fixer dans les populations de plantes.

Ce modèle repose sur plusieurs hypothèses. D'une part, il suppose que l'agent pathogène ne s'adaptera pas aux mécanismes de résistance ou de tolérance. Or, nous avons vu que cette adaptation est fréquente. De plus, il suppose un "coût de résistance", c'est-à-dire que la présence des gènes de résistance chez la plante diminue la fitness de celle-ci en absence de l'agent pathogène. Bien que des coûts de résistance importants aient parfois été mesurés (Bergelson, 1995, Brown, 2003), nous ne savons pas s'ils sont systématiques. Les possibilités d'adaptation des agents pathogènes aux résistances et aux tolérances, ainsi que les "coûts" de celles-ci détermineraient l'avantage pour les plantes à acquérir des résistances ou des tolérances ou même à cumuler les deux types de mécanismes. Cependant, les possibilités de cumuler résistance et tolérance chez la plante dépendent également des corrélations génétiques entre elles et entre chacune d'elles et la fitness des plantes. L'existence de corrélations génétiques négatives entre résistance et tolérance a été mise en évidence (Raberg et *al.*, 2007), mais ne sont pas systématiques (Mauricio et *al.*, 1997, Kover et Schaal, 2002). L'existence de corrélations génétiques négatives entre mécanismes de défense (tolérance ou résistance) et fitness des plantes a été également montrée (Bergelson, 1995, Herms et Mattson, 1992, Brinkman et Frey, 1977, Gressel et Ben-Sinai, 1985). Ces corrélations génétiques négatives imposent aux plantes des

"compromis" évolutifs. Elles sont dues soit à une liaison génétique entre gènes différents contrôlant ces différents caractères soit à des effets de pléiotropie lorsque le même gène affecte positivement l'un des 2 caractères et négativement l'autre.

III. Objectifs du stage

Le premier objectif de mon stage est d'identifier, chez un virus de plante, les régions du génome impliquées dans les variations quantitatives de son pouvoir pathogène (fitness, agressivité, capacité à s'adapter à un gène de résistance à effet qualitatif). Le modèle d'étude concernera l'interaction PVY-piment. Le PVY (genre *Potyvirus*, famille *Potyviridae*) est un virus à ARN simple brin de 9,7kb et de polarité positive. Cet ARN est traduit en une seule polyprotéine qui est ensuite clivée en 10 protéines matures par 3 protéases virales. Récemment, l'expression d'une 11^{ème} protéine suite à un décalage de 2 nucléotides lors de la traduction de la protéine P3 a été suspectée (Chung et *al.*, 2008). Chez le piment, la transmission du PVY de plante à plante est assurée exclusivement par des pucerons. La construction de clone du génome du PVY sous forme d'ADN complémentaire a favorisé les analyses génétiques chez ce virus (Moury et *al.*, 2004). Chez le piment, des gènes à effets quantitatifs (QTL: Quantitative Trait Locus) modifiant la cinétique d'apparition des symptômes et leur intensité (AUDPC) après infection par le PVY ont été cartographiés dans une population de lignées haploïdes doublées (Caranta et *al.*, 1997). Le gène de résistance à effet qualitatif *pvr2*³, correspondant à un facteur eIF4E, est également présent chez certaines lignées de cette population de piment. Connaître les régions du génome du PVY qui interagissent avec ces différents facteurs de résistance ou de tolérance chez le piment permettrait de mieux connaître les possibilités d'adaptation du virus et les risques de contournement de ces mécanismes de défense.

Un second objectif du stage est de savoir comment sont reliés entre eux, au niveau génétique, les facteurs impliqués dans ces interactions chez le virus et chez la plante. Côté virus, il est important de connaître les risques d'émergence de variants de PVY cumulant forte fitness, forte agressivité et grande capacité d'adaptation aux gènes de résistance à effet qualitatif afin d'éviter leur apparition. Côté plante, il s'agit de savoir si l'on peut cumuler, dans une même variété, des mécanismes de résistance et de tolérance, ce qui serait souhaitable pour les agriculteurs.

B. Matériel et méthodes

I. Matériel végétal et viral

I.1 Matériel viral

Le matériel viral a été obtenu à partir de deux isolats parentaux SON41p et LYE84.2 pour lesquels des différences de pouvoir pathogène ont été observées chez le piment. Ces deux isolats de PVY ont été précédemment clonés sous forme d'ADN complémentaires. SON41p a été collecté sur une plante de piment en France en 1972 alors que LYE84.2 a été collecté sur plante de tomate dans les îles Canaries en 1984. Sept clones ADNc recombinants (ou chimères) ont été créés entre SON41p et LYE84.2. Ces chimères ont été réalisées par recombinaison homologue chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* YPH501 entre un vecteur possédant le génome de SON41p délété de la région à substituer et des produits de PCR (Polymerase Chain Reaction) de la région correspondante obtenus à partir de LYE84.2. Les régions substituées chez l'ensemble de ces chimères couvrent l'ensemble du génome de LYE84.2. Les points de recombinaison correspondent au début et à la fin de protéines du PVY afin d'éviter des effets potentiellement délétères dus à des protéines "hybrides" (figure 6).

I.2 Matériel végétal

Huit lignées de piment (*Capsicum annuum*) ont été utilisées. La variété Yolo Wonder possède deux QTL de résistance à effet mineur. Les sept autres lignées (haploïdes doublées) sont issues du croisement entre Yolo Wonder et la lignée Perennial, porteuse du gène de résistance à effet qualitatif *pvr2*³ (un allèle du gène *eIF4E*) et de trois QTL de résistance (Caranta et al., 1997). Six de ces lignées portent différentes combinaisons des cinq QTL de Yolo Wonder et Perennial (figure 7). La lignée HD285 porte uniquement le gène *pvr2*³ et est utilisée pour évaluer l'aptitude du PVY à s'adapter à la résistance qualitative qu'il confère.

II. Méthode d'inoculation du piment par les chimères de PVY

II.1 Obtention de virus infectieux

Chaque chimère, obtenue par des techniques de biologie moléculaire (Matériel et méthodes I.1), est intégrée dans un plasmide bactérien sous le contrôle d'un promoteur 35S permettant l'expression d'ARNm chez la plante. Le plasmide est adsorbé sur des billes de tungstène, puis bombardé dans des plantes de *Nicotiana clevelandii*. En effet, le bombardement direct des plantes de piment ne permet pas d'obtenir d'infections. 10 à 15 jours après bombardement, les chimères sont infectieuses comme attesté par l'apparition de mosaïques, de chlorose nervaire et de crispation des feuilles (figure 8).

II.2 Inoculation mécanique des piments

Pour réaliser l'inoculum, du matériel végétal frais (feuilles avec symptômes) est utilisé. Un gramme de feuille est broyé dans 4 mL de tampon phosphate (Na_2HPO_4 , 0,03M, pH 7,0) contenant 0,2% (masse/volume) de DIECA (Diéthyl dithio carbamate). 90 mg de charbon actif (qui adsorbe les inhibiteurs d'infection) et 90 mg de Carborundum (abrasif) sont ajoutés. Une pré-multiplication des virus a lieu chez *Nicotiana benthamiana*, permettant d'obtenir un inoculum plus concentré que dans *N. clevelandii*. Des inoculums correspondant aux 2 virus parentaux et aux 7 chimères ont été ensuite préparés à partir de feuilles symptomatiques de *N. benthamiana*, puis ramenés à la même concentration sur la base d'un test ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) quantitatif et ont permis d'inoculer les plantes de piment (inoculation par frottis manuel sur les 2 cotylédons, 25 jours après semis). Des plantes témoins ont été facticement "inoculées" avec du tampon phosphate contenant du charbon actif et du Carborundum.

III. Mesure des paramètres quantitatifs du pouvoir pathogène

III.1 Notation des symptômes

Des notations régulières ont été effectuées sur l'ensemble des plantes dès l'apparition des premiers symptômes. Une grille de notation de 0 à 4 a été établie (tableau 1 et figure 9) reflétant des symptômes d'intensité croissante. Dans l'expérience 1, j'ai effectué 8 notations de symptômes de 11 jours après inoculation jusqu'à 27 jours après inoculation. Pour la seconde expérience, j'ai effectué 6 notations de 11 jours à 22 jours après inoculation. Ces notations permettent de calculer l'aire sous la courbe de progression des symptômes (AUDPC) (figure 10), un critère souvent utilisé en phytopathologie du fait de sa bonne reproductibilité.

III.2 Masse de matière sèche relative des plantes inoculées

La partie aérienne de l'ensemble des plantes a été prélevée en sachets individuels 34 jours après inoculation pour l'expérience 1 et 27 jours après inoculation pour l'expérience 2. Les échantillons ont été déshydratés 72h à 75°C jusqu'à ce que la masse des échantillons soit constante. Chaque échantillon a été pesé individuellement et sa masse divisée par la masse de matière sèche moyenne obtenue pour l'ensemble des plantes saines témoins du génotype correspondant.

III.3 Concentration virale dans les plantes

La concentration virale a été mesurée chez 10 plantes de chaque combinaison entre génotypes de plante et de virus. Sur chacune des plantes, nous avons prélevé 2 disques foliaires de 9 mm de diamètre sur chacune de deux feuilles apicales. Les prélèvements sont effectués 32 jours après inoculation pour la première expérience et 25 jours après inoculation pour la seconde expérience. Les disques foliaires sont plongés dans l'azote liquide, broyés puis dilués au 1/5^{ème}

(masse/volume) dans le tampon phosphate (composition identique à celle de la partie matériel et méthodes II.2). Les échantillons et un témoin positif commun sont ensuite dilués (1/25, 1/125, 1/625 et 1/3125) dans le tampon phosphate et déposés dans les microplaques ELISA. La concentration de chaque échantillon est déterminée relativement au témoin positif commun dans la zone où les courbes absorbance-dilution sont parallèles (figure 11).

Les virus SON41p et LYE84.2 possédant des protéines de capside différentes, leur réactivité vis-à-vis des anticorps anti-PVY pourrait être différente et biaiser l'estimation des concentrations virales correspondant à LYE84.2 et à la chimère CP (qui possèdent des protéines de capside identiques) d'une part et de SON41p et des autres chimères d'autre part. Cette réactivité différentielle a été évaluée à l'aide de purifications des virus SON41p et LYE84.2 dont les concentrations absolues ont été mesurées au spectrophotomètre et égalisées. LYE84.2 réagit 2,63 fois plus fortement que SON41p lors du test ELISA pratiqué. Ce facteur correctif a été appliqué aux concentrations virales obtenues lors des tests ELISA pour LYE84.2 et la chimère CP.

C. Résultats

I. Analyse de la variabilité génétique du pouvoir pathogène du virus et de la résistance chez la plante

I.1 Choix d'un modèle d'analyse statistique

Afin de caractériser les bases génétiques du pouvoir pathogène chez le PVY, nous avons inoculé neuf génotypes viraux (deux génotypes parentaux et sept chimères, figure 6) à sept génotypes de plantes lors de deux expériences indépendantes. Plusieurs mesures quantitatives ont été réalisées lors de l'infection que nous pouvons résumer par quatre variables:

- symptomatologie (AUDPC),
- concentration virale relative (CONC),
- impact sur la croissance des plantes (masse relative de matière sèche des plantes inoculées) (RelMS),
- fréquence d'adaptation au gène majeur de résistance *pvr2*³ (lors d'une seule expérience).

Lorsque certaines plantes n'ont pas été infectées par le virus (test ELISA négatif et absence de symptômes), elles ont été retirées des analyses sauf pour l'adaptation au gène *pvr2*³. Ces échecs d'inoculation ont concerné un petit nombre de plantes pour certains génotypes de plantes et de virus.

Pour les trois premières variables, il est indispensable de vérifier tout d'abord la reproductibilité de l'expérience. L'analyse de la variance (ANOVA) est une méthode classique pour étudier les liens entre une variable quantitative (variable à expliquer) et un ou plusieurs facteurs qualitatifs (explicatifs) à l'aide d'un modèle additif pouvant aussi inclure les interactions entre facteurs. Un premier modèle d'ANOVA a été testé, incluant comme facteurs le génotype de virus, le génotype de plante, le numéro de l'expérience et les interactions deux à deux entre ces facteurs. Le modèle d'ANOVA est le suivant:

$$C_{ijk} = \bar{m} + Virus_i + Plante_j + Exp_k + Virus_i * Plante_j + Virus_i * Exp_k + Plante_j * Exp_k + \varepsilon_{ijk}$$

C_{ijk} , représente la valeur de la variable à expliquer ; $\bar{m}$, la moyenne générale de la variable ; $Virus_i$, l'effet du génotype i de virus ; $Plante_j$, l'effet du génotype j de plante ; Exp_k , l'effet de l'expérience k ; $Virus_i * Plante_j$, $Virus_i * Exp_k$ et $Plante_j * Exp_k$ représentent les interactions entre les facteurs précédents et ε_{ijk} représente les résidus du modèle, c'est-à-dire la part de la variable C_{ijk} qui n'est pas expliquée par l'ensemble des termes précédents. Pour chacune des variables AUDPC, CONC et RelMS, les facteurs Virus, Plante, Exp et leurs interactions sont fortement significatifs. Les interactions $Virus_i * Exp_k$ et $Plante_j * Exp_k$ étant significatives, il n'est pas possible de regrouper l'ensemble des deux expériences en une seule ANOVA et chacune sera donc analysée séparément. Ces interactions peuvent être dues au fait que l'ordre entre génotypes (de plante et de virus) varie d'une expérience à l'autre (ce qui rendrait notre analyse génétique difficile) ou bien que l'ordre entre génotypes est largement respecté mais que les écarts relatifs entre eux varient (ce qui est moins gênant pour nos analyses).

L'ANOVA repose sur plusieurs hypothèses préalables (Azaïs et Bardet, 2005):

- Hypothèse 1 : Les résidus obtenus pour chaque génotype de plante et de virus doivent être centrés autour de zéro.
- Hypothèse 2 : La variance des résidus doit être similaire pour chaque génotype de plante et de virus.
- Hypothèse 3 : Les résidus doivent être indépendants entre-eux.

Afin de vérifier ces hypothèses, j'ai effectué plusieurs analyses graphiques des résidus du modèle ANOVA (figures 12 et 13). Pour toutes les variables, certaines hypothèses n'étaient pas respectées et une transformation classique des variables a permis de se conformer à ces hypothèses. Ainsi les variables AUDPC et CONC ont subi la transformation racine carrée et la

variable RelMS a subi la transformation logarithme avant l'ANOVA. Chaque variable a été analysée par ANOVA avec le modèle suivant pour chaque expérience.

$$C_{ij} = \bar{m} + Virus_i + Plante_j + Virus_i * Plante_j + \varepsilon_{ij}$$

Pour chaque variable, les effets des génotypes de virus et de plante et leur interaction sont très significatifs permettant des comparaisons entre les valeurs observées des variables pour les différents génotypes de virus et les différents génotypes de plante ainsi qu'une analyse de leurs interactions. Ces comparaisons entre virus ou entre plantes ont été réalisées à l'aide des résultats des ANOVA et de tests HSD de Tukey avec le logiciel R (Ihaka et Gentleman, 1996). Je vais présenter les résultats obtenus pour chaque variable.

I.2 Comparaison entre génotypes viraux ou de plante pour les caractères quantitatifs du pouvoir pathogène

a) Symptomatologie (variable $\sqrt{AUDPC}$)

Alors que les symptômes des virus parentaux sont intermédiaires (mosaïques sur les feuilles, et/ ou nécroses des feuilles et des tiges qui ne conduisent pas à la mort des plantes), des symptomatologies extrêmes ont été observées chez les virus chimères. Certains génotypes de plantes inoculés par certains virus chimères n'ont montré aucun symptôme bien qu'infectés par le virus alors que d'autres combinaisons plante-virus ont montré des nécroses très sévères conduisant à la mort des plantes un mois après inoculation. Les réactions de nécrose ou de mosaïque semblent dépendre essentiellement des génotypes de plante (figure 14). Ainsi les lignées Yolo Wonder (YW), HD2104 et HD223 n'ont quasiment jamais montré de nécrose contrairement aux autres lignées. Certains virus peu agressifs (chimères NIa, NIb et P3) n'ont parfois déclenché aucun symptôme chez certains génotypes de plante.

Les résultats de comparaisons de moyennes de la variable $\sqrt{AUDPC}$ pour les différents virus et pour chaque expérience sont donnés dans le tableau 2. Les lettres indiquent les groupes de virus significativement différents ou non en fonction des résultats des comparaisons 2 à 2 effectuées par des tests HSD de Tukey. Une même lettre partagée entre 2 virus indique qu'ils ne sont pas significativement différents. *A contrario*, si deux virus ne partagent aucune lettre, ils sont significativement différents pour la variable considérée. Afin de synthétiser les résultats des 2 expériences, je me suis basée sur les différences significatives qui vont dans le même sens entre virus comparés 2 à 2. La synthèse des résultats des deux expériences permet d'établir 5 groupes de virus (tableau 2) et montre donc que des différences significatives et reproductibles de symptomatologie existent parmi les génotypes de virus étudiés. Aucune comparaison de 2 virus n'a montré de résultats inversés entre les 2 expériences. Nous observons que la chimère CI

possède une agressivité supérieure à celle des 2 virus parentaux alors que les chimères NIa, NIb et P3 montrent une agressivité inférieure aux 2 parents. En plus des 4 chimères précédemment citées, une cinquième (HcPro) présente une agressivité significativement différente de celle de SON41p.

Les comparaisons de moyennes de la variable $\sqrt{AUDPC}$ ont également été réalisées pour les différents génotypes de plantes et pour chaque expérience (tableau 3). Le bilan établi sur les deux expériences permet de différencier 4 groupes de plantes reproductibles d'une expérience à l'autre. Deux comparaisons 2 à 2 de plantes sur un total de 21 comparaisons montrent des résultats inversés entre les 2 expériences : il s'agit des génotypes HD295 et HD2104 ainsi que des génotypes Yolo Wonder et HD207.

b) Concentration virale (variable $\sqrt{CONC}$)

Les valeurs moyennes de concentration virale relative chez les combinaisons plante-virus s'étendent de 1 à 150 (expérience 1) ce qui montre une grande disparité. Les résultats de comparaisons des moyennes de la racine carrée de la concentration relative pour les différents virus et les différentes plantes sont présentés dans les tableaux 4 et 5. La synthèse des deux expériences permet d'établir 3 groupes de virus (tableau 4). Nous en concluons qu'il y a des différences significatives reproductibles de fitness entre les différents génotypes de virus étudiés. Aucune incohérence n'est observée entre les expériences 1 et 2. Aucune chimère ne montre une fitness supérieure ou inférieure à l'ensemble des 2 parents viraux. Deux chimères HcPro et P3 ont une fitness significativement différente de celle du parent SON41p.

Côté plante, les comparaisons de moyennes ont permis de classer les génotypes de plantes en 4 groupes (tableau 5). Nous pouvons en conclure qu'il y a des différences significatives de résistance entre les différents génotypes de plante étudiés. Là encore, aucune incohérence n'est observée entre les résultats des deux expériences.

c) Impact de l'infection sur la croissance des plantes (variable $\ln RelMS$)

Parmi les différentes combinaisons plante-virus, les valeurs de masse de matière sèche relative s'étendent de 0 à 1,61 (expérience 1). Certaines combinaisons plante-virus montrent un rapport relatif supérieur à 1, indiquant une masse de matière sèche supérieur à celle des témoins sains. Les comparaisons de moyennes entre les différents virus sont présentées dans le tableau 6. La synthèse des 2 expériences permet d'établir 4 groupes de virus montrant des différences significatives et reproductibles d'impact sur la croissance des plantes (agressivité). Une seule comparaison de 2 virus a montré des résultats inversés entre les 2 expériences (NIa et P1). Nous

observons que la chimère CI est plus agressive que les 2 virus parents alors que les chimères P3, CP et HcPro sont moins agressives que les 2 parents.

Les comparaisons de moyennes entre les différents génotypes se sont révélées beaucoup moins reproductibles que précédemment (tableau 7). En synthétisant les résultats des 2 expériences, nous observons seulement 2 comparaisons de 2 plantes qui sont reproductibles. Le génotype HD223 est toujours supérieur au génotype HD295 et le génotype HD2104 est toujours supérieur au génotype HD207.

I.3 Capacité d'adaptation au gène de résistance *pvr2*³

L'adaptation à la résistance conférée par le gène *pvr2*³ est particulièrement facile à étudier en laboratoire car cette adaptation se fait assez rapidement et chez une grande proportion des plantes inoculées (Ayme et *al.*, 2006). Elle se traduit par l'apparition de symptômes de nécrose chez le génotype HD285 porteur de *pvr2*³. Chez les plantes montrant ces symptômes, des substitutions d'acides aminés dans la protéine VPg du PVY (signalant l'adaptation du virus) ont été observées. Au moins 5 substitutions différentes confèrent la virulence au clone viral SON41p (Ayme et *al.*, 2006). Dans ce cadre, nous avons comparé les fréquences des adaptations de SON41p et de 6 chimères ayant un facteur d'avirulence identique à SON41p. La comparaison avec les virus LYE84.2 et la chimère NIa, qui possèdent une VPg différente, ne répond pas aux questions que l'on se pose. Pour ces 2 virus, le facteur d'avirulence et le fond génétique du virus sont simultanément modifiés et nous ne pouvons pas étudier l'effet du fond génétique séparément. La détermination du nombre de plantes infectées a été effectuée 34 jours après inoculation des plantes. Des différences importantes d'infection existent selon le virus étudié (tableau 8). La chimère CI montre une fréquence d'adaptation significativement supérieure à SON41p et aux autres génotypes de virus. C'est le seul génotype viral dont l'adaptation au gène de résistance *pvr2*³ est significativement différente du virus parental SON41p.

II. Analyse des corrélations entre variables

Afin de savoir comment vont varier simultanément les différentes composantes du pouvoir pathogène du PVY ou des mécanismes de défense du piment lorsqu'ils sont soumis à des contraintes évolutives, il est important de connaître leurs corrélations génétiques.

II.1 Variabilité génétique de la tolérance des plantes

Afin d'étudier les variations génétiques de la tolérance des différents génotypes de piment, les pentes des droites de régression entre les variables AUDPC (ou ReIMS) et CONC sont déterminées pour chaque génotype de plante dans chacune des 2 expériences (Introduction I.2). La plupart des données étant proches de 0, dès qu'il y a des valeurs extrêmes, la corrélation est fortement influencée par ces points. Les valeurs de concentration ont donc subi une

transformation en logarithme afin de répartir les données de façon plus homogène pour calculer une droite de régression plus représentative de la corrélation entre deux variables. Pour chaque régression effectuée pour un génotype de piment, l'ensemble des valeurs mesurées pour chaque plante individuelle sont considérées plutôt que les valeurs moyennes par génotype de virus pour augmenter la puissance statistique des analyses. En étudiant la régression entre la variable AUDPC et le logarithme de la concentration (tableau 9), les génotypes de plante HD223 et HD295 sont les seuls qui montrent une pente de régression non significativement différente de 0. Nous en concluons qu'ils expriment un niveau élevé de tolérance vis-à-vis des virus: les symptômes ne sont pas aggravés par une augmentation de la concentration virale chez les plantes. Pour les autres génotypes de plante, les résultats sont hétérogènes entre les deux expériences. La pente de régression est significativement positive (symptômes aggravés quand la concentration virale augmente) pour une seule des expériences, sans que ce soit attribuable à une meilleure puissance d'analyse pour l'une d'entre-elles. Aucun génotype de plante n'a montré une pente de régression significativement différente de 0 pour les deux expériences. Les résultats de tolérance sont davantage reproductibles en étudiant les corrélations entre les variables de matière sèche relative et de logarithme de concentration virale (tableau 10). Deux groupes de plantes sont mis en évidence. Quatre génotypes de plantes (Yolo Wonder, HD223, HD2104 et HD207) montrent un fort niveau de tolérance (pente non significativement différente de 0). Au contraire, les génotypes HD203 et HD267 sont moins tolérants au PVY que les précédents : la croissance des plantes est significativement réduite (pente négative) lorsque la concentration virale augmente. Enfin, HD295 a montré des résultats hétérogènes selon les expériences. A noter que le génotype HD223 est le seul génotype qui montre un niveau de tolérance élevé pour les deux expériences, quel que soit le critère de dommage utilisé (AUDPC ou RelMS).

II.2 Corrélation entre la résistance et la tolérance chez les génotypes de plante

L'analyse de la corrélation entre la résistance et la tolérance des plantes de piment est basée sur la pente de régression entre la concentration virale (opposée à la résistance des plantes) et la pente de la régression mesurant la tolérance (Introduction II.1.a). Dans chacune des 2 expériences, les pentes de régression ne sont pas significativement différentes de 0 quelle que soit la variable utilisée (AUDPC ou RelMS). Les probabilités que les pentes de régression soient significativement différentes de 0 sont de 63% (expérience 1) et 37% (expérience 2) avec la variable AUDPC. En conséquent, il n'y a pas de relation significative entre tolérance et résistance chez les plantes étudiées.

II.3 Corrélations entre fitness et agressivité chez les différents génotypes de virus

Les corrélations entre fitness et agressivité chez les agents pathogènes sont très étudiées de par leur intérêt théorique (Introduction II.1.b). Une corrélation non significativement différente de 0 a été mise en évidence en étudiant la régression de la variable d'AUDPC ou de matière sèche relative (agressivité) en fonction du logarithme de la concentration virale pour l'ensemble des génotypes de plante et de virus. J'ai également analysé la pente de régression entre l'agressivité (variable AUDPC et RelMS) et la fitness (variable CONC transformée en logarithme) pour chaque génotype de virus (tableaux 11 et 12). La chimère CI est la seule qui montre une corrélation significative entre la fitness et l'agressivité pour les 2 expériences et les 2 variables d'agressivité (AUDPC et RelMS). Cette corrélation est négative : plus les symptômes sont forts, moins la concentration virale est forte. La chimère CP ne montre aucune corrélation significative entre fitness et agressivité pour les 2 expériences et les 2 critères d'agressivité. Pour les autres génotypes viraux, différents résultats ont été obtenus en fonction des variables d'agressivité et/ou des expériences. Cependant, aucun génotype de virus n'a montré une corrélation positive entre agressivité (quel que soit le critère) et fitness pour les 2 expériences.

D. Discussion

I. Cartographie des déterminants génétiques de variation quantitative du pouvoir pathogène chez les virus

Deux conditions sont nécessaires pour cartographier les déterminants génétiques responsables de la variation quantitative du pouvoir pathogène du PVY: (i) des différences significatives entre génotypes de virus pour ces variables quantitatives et (ii) une conservation du même ordre de classement entre les différents génotypes viraux pour les variables quantitatives étudiées lorsque plusieurs expériences similaires sont réalisées. Nous observons des différences significatives entre génotypes de PVY et de piment en analysant les variables quantitatives d'AUDPC, de concentration virale (CONC) et de masse de matière sèche relative (RelMS) qui sont reproductibles pour la plupart des génotypes dans les deux expériences. La seule exception concerne les génotypes de piment pour la variable RelMS (tableau 7). Il existe donc des bases génétiques aux caractères quantitatifs étudiés. Les différentes recombinaisons faites entre les génomes des clones de PVY SON41p et LYE84.2 sont donc responsables des changements du pouvoir pathogène du virus observés. Plusieurs recombinants ont des valeurs supérieures ou inférieures aux deux virus parentaux pour les deux variables AUDPC et RelMS. La chimère CI montre une agressivité supérieure aux deux virus parentaux SON41p et LYE84.2 pour les deux variables AUDPC et RelMS. A l'opposé, la chimère P3 montre une agressivité inférieure aux deux

parents pour ces deux variables (à confirmer car une seule expérience a été réalisée avec cette chimère). Les chimères NIa et NIb sont moins agressives que les deux parents pour la variable AUDPC alors que les chimères CP et HcPro sont moins agressives que les deux parents pour la variable RelMS. Lorsque des descendants issus de recombinaison entre deux génotypes parentaux montrent des valeurs phénotypiques extrêmes par rapport à ces parents, nous parlons de transgression ou de phénotypes transgressifs (Reiseberg et *al.*, 2003). Chez les virus étudiés, de telles transgressions ont été observées pour les variables AUDPC et RelMS mais pas pour la fitness virale (variable CONC). Des travaux précédents ont révélé des transgressions similaires chez des chimères d'un autre potyvirus, le *Potato virus A* (PVA) (Paalme et *al.*, 2004). Ces cas de transgression concernaient l'intensité des symptômes et la fitness virale (concentration virale chez une plante hôte).

Sept causes génétiques différentes sont proposées par Rieseberg et *al.* (1999) pour expliquer l'apparition de phénotypes transgressifs chez des populations recombinantes de plantes ou d'animaux. Cependant, trois d'entre-elles seulement peuvent être appliquées aux virus : (i) une augmentation du taux de mutation chez les chimères ; ce taux de mutation supérieur pourrait faire apparaître de nouveaux allèles, absents chez les parents, chez les descendants qui pourraient ainsi exprimer des phénotypes extrêmes; (ii) une non-additivité des effets alléliques entre locus (régions du génome) différents (épistasie) et (iii) une action complémentaire d'allèles additifs dispersés entre les parents (tableaux 13 et 14). Dans le cas d'une épistasie, l'effet phénotypique d'un gène (ou d'un QTL) varie en fonction de la présence d'autres gènes. Ce n'est donc pas un modèle additif et l'effet du gène en question est difficilement prédictible. Dans notre cas, il n'est possible d'exclure aucune des trois explications. Deux arguments peuvent être apportés à propos de la première hypothèse. Des mutations, même en petit nombre, peuvent changer le pouvoir pathogène des virus (par exemple en permettant le contournement de gènes majeurs, Ayme et *al.* 2006). De plus, les virus possèdent déjà des taux de mutation élevés de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-5} erreurs par nucléotide et par génération (ou réplication). En conséquence, une augmentation, même faible, du taux de mutation chez les virus chimères étudiés, pourrait modifier leur pouvoir pathogène même lors d'expériences conduites sur une période limitée comme celle que j'ai réalisées (inférieur à 1 mois). Cependant, ces mutations plus nombreuses chez les chimères ne seraient *a priori* pas reproductibles d'une expérience à l'autre. Les transgressions n'iraient donc pas forcément dans le même sens dans les deux expériences alors que j'observe le contraire (bonne reproductibilité des résultats concernant les différents virus). Il a été montré chez les plantes et les animaux que l'hypothèse (iii) était fréquemment vérifiée (Rieseberg et *al.*, 1999, 2003) alors que l'hypothèse (ii) était plus rare. Afin de différencier ces deux hypothèses, nous pourrions construire artificiellement

de nouvelles chimères "intégrant" une région du génome du virus SON41p dans le virus LYE84.2 et analyser leur pouvoir pathogène. Le tableau 13 présente les différents résultats attendus dans le cas d'un effet additif ou d'un effet d'épistasie avec comme exemple l'échange de la région codant pour la protéine CI entre les deux virus parentaux.

II. Les transgressions observées peuvent révéler l'histoire évolutive des virus

Si nous confirmons que les transgressions sont dues à des effets additifs (hypothèse (iii)), le fait que des allèles additifs avantageux et défavorables pour un caractère donné soient simultanément présents chez un individu (sur lequel repose l'hypothèse (iii), tableau 14), pourrait avoir des causes dans l'histoire évolutive de cet individu (Rieseberg et *al.*, 1999). Un individu, ayant subi une sélection directionnelle en faveur d'un caractère donné aura tendance à accumuler des allèles favorables pour ce caractère et à éliminer les autres (figure 15). Ainsi, les descendants de cet individu auront moins de chance d'exprimer des phénotypes transgressifs. Au contraire, un individu n'ayant pas subi de pression de sélection constante cumulera plus probablement des allèles favorables et défavorables pour le caractère considéré. Des transgressions pourront se révéler plus facilement chez ses descendants. Ce cadre théorique peut nous permettre d'interpréter nos résultats. En effet, la variable "concentration virale" étudiée est une composante essentielle de la fitness du PVY et est, par excellence, un caractère soumis à une pression de sélection constante. Il est peu probable que les virus parentaux étudiés ici aient conservé des allèles défavorables en termes de fitness chez les plantes respectives où ils se sont propagés. L'isolat SON41p, isolé de piment, a donc pu accumuler des allèles favorables à sa fitness chez cette plante alors que l'isolat LYE84.2, isolé de tomate, n'a pas accumulé ces allèles-là (figure 15). C'est cohérent avec les résultats que j'ai obtenus (absence de transgression pour la variable $\sqrt{CONC}$, tableau 4). Les variables d'agressivité "AUDPC" et "ReIMS" doivent par contre avoir un "optimum". Effectivement, une trop forte agressivité virale peut entraîner des dommages importants dans l'hôte, limitant la multiplication et la dissémination du virus (fitness). Il est donc tout à fait plausible que les virus parentaux SON41p et LYE84.2 aient conservé des allèles défavorables en terme d'agressivité. De plus, certains compromis sont nécessaires chez le virus entre différentes composantes de sa fitness, par exemple entre une forte multiplication à court terme chez la plante (mais qui peut entraîner des dommages importants) et une transmission par les vecteurs de plante à plante sur une période plus longue. Les parents viraux ayant des allèles favorables et défavorables descendants pourront donc exprimer des phénotypes transgressifs (tableau 14 dans le cas d'un modèle additif). Là encore, c'est cohérent avec mes résultats qui montrent 4 phénotypes

transgressifs (sur 7 chimères) pour la variable AUDPC et 3 phénotypes transgressifs pour la variable RelMS.

III. Mise en évidence du rôle des différentes régions du génome du PVY dans son pouvoir pathogène

Toutes les régions du génome de SON41p échangées par celles de LYE84.2 chez les chimères ont modifié significativement son pouvoir pathogène pour au moins un caractère étudié (sauf pour la chimère P1) (tableaux 2, 4, 6). L'information génétique est très "compacte" chez les virus et tous leurs gènes jouent des rôles importants vis-à-vis du pouvoir pathogène. En conséquence, il est difficile d'expliquer pour l'instant les causes mécanistiques des changements observés du pouvoir pathogène. Je discuterai ici plus particulièrement le cas de la chimère CI. Cette chimère entraîne de nombreux dégâts (forte nécrose, chute de feuilles) sur la plupart des génotypes de plantes étudiés. Ainsi, cette chimère a révélé un phénotype transgressif pour les variables d'AUDPC et de RelMS. L'implication de la protéine CI dans la symptomatologie des Potyvirus a été suspectée par Chu et *al.* (1997). La chimère CI possède également une capacité d'adaptation à la résistance due à *pvr2*³ significativement supérieure à celle du parent SON41p. Des travaux très récents ont mis en évidence une interaction protéique entre les protéines CI et VPg du *Potato virus A* (genre *Potyvirus*) par co-purification (Hafrén et Mäkinen, 2008) ainsi qu'entre les protéines CI du *Lettuce mosaic virus* (LMV, genre *Potyvirus*) et eIF4E de la laitue (Olivier Le Gall, INRA Bordeaux, communication personnelle). La protéine CI pourrait donc jouer un rôle dans l'interaction physique entre l'eIF4E de la plante et la protéine VPg des potyvirus permettant au virus de s'adapter efficacement à cette résistance. Pour l'interaction LMV-laitue, les régions codant pour les protéines CI et VPg semblent toutes les deux impliquées dans la virulence sans que leur rôle respectif ait été précisé. Nos résultats suggèrent que la VPg serait le facteur d'avirulence mais que la CI pourrait modifier la capacité d'adaptation du virus. Afin de vérifier ces hypothèses, il serait intéressant de voir s'il y a apparition ou non de mutations chez la VPg et la protéine CI pour le parent viral SON41p et la chimère CI lors de l'adaptation à la résistance due au gène *pvr2*³. Si les VPg sont différentes, la protéine CI permettrait peut être d'augmenter son taux de mutation.

IV. Les corrélations entre les différentes variables du pouvoir pathogène chez le virus et des mécanismes de défense chez la plante

Les relations entre capacité de reproduction des virus et agressivité ne montrent pas de tendance universelle. De nombreuses études montrent qu'il y a une corrélation nulle, négative ou positive entre ces deux paramètres (Sacristán et García-Arenal, 2008). Dans mes résultats, une corrélation négative entre fitness et agressivité n'est observée, de façon reproductible, pour aucun

autre virus que la chimère CI. Il est probable que les symptômes très sévères, accompagnés de nécrose dus à la chimère CI en soient la raison : plus les symptômes sont forts, plus ils s'accompagnent de nécrose et de mort cellulaire, ce qui diminuerait la concentration virale. Pour les autres génotypes viraux étudiés, aucune corrélation significative et reproductible entre fitness et agressivité n'est observée (tableaux 9 et 10).

Des modèles théoriques suggèrent que les mécanismes de tolérance et de résistance sont redondants. Il y aurait donc des pressions de sélections agissant en faveur de l'un ou l'autre des deux mécanismes de façon exclusive (Mauricio et *al.*, 1997). Mais des études ont cependant montré que cette corrélation négative entre tolérance et résistance n'était pas toujours observée (Mauricio et *al.*, 1997, Carr et *al.*, 2006), ce qui correspond aussi à mes résultats.

Ainsi, il est intéressant de noter que le génotype HD223 présente un fort niveau de résistance quantitative et une forte tolérance reproductives d'une expérience à l'autre avec les deux variables d'agressivité (AUDPC et RelMS). Ceci démontre la possibilité de créer des variétés de piment possédant à la fois de bons niveaux de résistance et de tolérance au PVY.

Liste des figures

Figure 1: Cycle d'infection d'une plante par un virus dans le cas d'une transmission par un insecte vecteur.

Figure 2: Relation "gène pour gène" entre un agent pathogène et sa plante hôte dans le cas d'une résistance contrôlée par un gène dominant.

Figure 3: Complexe d'initiation de la traduction des ARN messagers chez les plantes et interaction avec le *Potato virus Y* (PVY) via la protéine eIF4E.

Figure 4: Illustration théorique des possibilités de combinaison de différents niveaux de résistance et de tolérance chez deux génotypes hôtes (bleu et rouge) vis-à-vis de différents génotypes d'agents pathogènes (différents points) (d'après Raberg et *al.*, 2007).

Figure 5: Mécanismes de rétro-contrôle qui orientent la fixation des mécanismes de résistance et de tolérance chez une population d'hôtes. (a) Résistance, (b) Tolérance (d'après Roy et Kirchner, 2000).

Figure 6: Schéma des différents virus chimères obtenus par recombinaison homologue chez la levure à partir des deux clones ADNc parentaux SON41p et LYE84.2.

Figure 7: Répartition du gène majeur (*pvr2*³) et des QTL de résistance chez les lignées de piment étudiées.

Figure 8: Avec un clone d'ADNc de la chimère P3 (cf. figure 6), symptômes observés 15 jours après bombardement avec *N. clevelandii*. Noter la crispation des jeunes feuilles et la chlorose nervaire.

Figure 9: Grille de notation (cf. tableau 1) des symptômes observés chez les piments infectés par le PVY. La notation "1" n'est pas montrée car les symptômes sont peu visibles.

Figure 10: Evolution des symptômes observés sur une plante au cours du temps permettant la détermination de l'AUDPC (Area under the disease progress curve) représentée en jaune sur le graphique.

Figure 11: Détermination de la concentration virale relative chez une plante individuelle (courbe bleue) par rapport au témoin positif (courbe rouge).

Figure 12: Validation des hypothèses 1 et 3 du modèle d'analyse de variance.

Figure 13: Validation des hypothèses 1 et 2 du modèle d'analyse de la variance.

Figure 14 : Répartition des symptômes en fonction des combinaisons entre génotypes de plante et des génotypes de virus.

Figure 15: L'effet de la sélection directionnelle sur la transgression.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Grille d'annotation des symptômes

Tableau 2 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{AUDPC}$ pour les différents génotypes de virus et pour chaque expérience.

Tableau 3 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{AUDPC}$ pour les différents génotypes de plantes et pour chaque expérience.

Tableau 4 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{CONC}$ pour les différents génotypes de virus et pour chaque expérience.

Tableau 5 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{CONC}$ pour les différents génotypes de plante et pour chaque expérience.

Tableau 6 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\ln(RelMS)$ pour les différents génotypes de virus et pour chaque expérience.

Tableau 7 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\ln(RelMS)$ pour les différents génotypes de plante et pour chaque expérience.

Tableau 8 : Comparaison des fréquences d'adaptation de SON41p et de 6 chimères ayant la même VPg (cf. figure) à un gène majeur de résistance *pvr2*³.

Tableau 9 : Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) et la variable AUDPC représentant l'agressivité virale.

Tableau 10 : Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) et la variable RelMS représentant l'agressivité virale.

Tableau 11 : Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) représentant la fitness et la variable AUDPC représentant l'agressivité virale.

Tableau 12 : Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) représentant la fitness et la variable RelMS représentant l'agressivité virale.

Tableau 13 : Résultats hypothétiques pour différencier l'hypothèse d'un effet additif ou d'un effet d'épistasie d'un génotype viral transgressif (exemple de la chimère CI).

Tableau 14 : Exemple hypothétique de ségrégation transgressive basée sur l'action complémentaire de gènes avec des effets additifs chez SON41p et LYE84.2 représentant les deux virus parents.

Bibliographie

- AYME V., SOUCHE S., CARANTA C., JACQUEMOND M., CHADOEUF J., PALLOIX A., MOURY B., 2006. Different mutations in the genome-linked protein VPg of *Potato virus Y* confer virulence on the *pvr2³* resistance in pepper. *MPMI*, vol. 19, n°5, p. 557-563
- AZAÏS L. M., BARDET J. M., 2005. Le modèle linéaire par exemple : régression, analyse de la variance et plans d'expériences illustrés avec R, SAS et Splus. Dunod, ISBN 2100495593
- BENDAHDANE A., KANYUKA K., BAULCOME D. C., 1999, The Rx gene from potato controls separate virus resistance and cell death response. *The plant cell*, vol. 11, p. 781-791
- BERGELSON J., PURRINGTON C. B., 1996. Surveying patterns in the cost of resistance in plants. *The American Naturalist*, vol. 148, n°3, p. 536-558
- BROWN J. K. M., 2003. A cost of disease resistance: paradigm or peculiarity? *Trends in genetics*, vol. 19, n°12, p. 667-671
- CARANTA C., LEFEBVRE V., PALLOIX A., 1997. Polygenic resistance of pepper to potyviruses consists of a combination of isolate-specific and broad-spectrum quantitative trait loci. *The American Phytopathological Society*, vol. 10, n°7, p. 872-878.
- CARR D.E., MURPHY J.F., EUBANKS M.D., 2006. Genetic variation and covariation for resistance and tolerance to *Cucumber mosaic virus* in *Mimulus guttatus* (Phrymaceae): a test for cost and constraints. *Heredity*, vol. 96, p. 29-38
- CHARRON C., NICOLAÏ M., GALLOIS J. L., ROBAGLIA C., MOURY B., PALLOIX A., CARANTA C., 2008. Natural variation and functional analyses provide evidence for coevolution plant eIF4E and potyviral VPg. *The Plant Journal*, vol. 54, n° 1, p. 56-68
- CHUNG B., ALLEN MILLER W., ATKINS J. F., FIRTH A. E., 2008. An overlapping essential gene in the Potyviridae. *PNAS*, vol. 105, n° 15, p. 5897-5902
- DESBIEZ C., GAL-ON A., GIRARD M., WIPF-SCHIEBEL C., LECOQ H., 2003. Increase in *Zucchini yellow mosaic virus* symptom severity in tolerant zucchini cultivars is related to a point mutation in P3 protein and is associated with a loss of relative fitness on susceptible plants. *Phytopathology*, vol. 93, n°12, p. 1478-1484
- FARGETTE D., PINEL A., TRAORÉ O., GHESQUIÈRE A., KONATÉ G., 2002. Emergence of resistance-breaking isolates of *Rice Yellow Mottle virus* during serial inoculations. *European Journal of Plant Pathology*, vol. 108, n° 6, p. 585-591
- FLOR, H. H., 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of phytopathology*, vol. 9, p. 275-296

GRESSEL J., BEN-SINAI G., 1985. Low intraspecific competitive fitness in a triazine-resistante, nearly nuclear-isogenic line of *Brassica napus*. Plant physiology and biochemistry, vol. 38, n°1, p. 29-32

HAFRÉN A., MÄKINEN K., 2008. Purification of viral genome-linked protein VPg from *potato virus A*-infected plants reveals several post-translationally modified forms of the protein. Journal of general virology, vol. 89, p. 1509-1518

HERMS D. A., MATTSON W. J., 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. The quarterly Review of Biology, vol. 67, n°3

IHAKA, R., GENTLEMAN, R., 1996. R: A language for data analysis and graphics. Journal of Computational and Graphical Statistics, vol. 5, p. 299-314

JEGER M. J., VILJANEN-ROLLINSON S. L. H., 2001. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. Theoretical and applied genetics, vol. 102, n°1, p. 32-40

JENNER C. E., WANG X., PONZ F., WALSH J. A., 2002. A fitness cost for *Turnip mosaic virus* to overcome host resistance. Virus Research, vol. 86, p. 1-6

KOVER P. X., SCHAAL B. A., 2002. Genetic variation for disease resistance and tolerance among *Arabidopsis thaliana* accessions. PNAS, vol. 99, n° 17, p. 11270-11274

MAURICIO R., RAUSHER M. D., BURDICK D. S., 1997. Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? Ecology, vol. 78, n°5, p. 1301-1311

MOURY B., MOREL C., JOHANSEN E., GUILBAUD L., SOUCHE S., AYME V., CARANTA C., PALLOIX A., JACQUEMOND M., 2004. Mutation in Potato virus Y genome-linked protein determine virulence toward recessive resistances in *Capsicum annuum* and *Lycopersicon hirsutum*. Molecular plant-Microbe interaction, vol. 17, n°3, p. 322-329

PAALME V., GAMMELGÅRD E., JÄRVEKÜLG L., VALKONEN J. P. T., 2004. *In vitro* recombinants of two nearly identical potyviral isolates express noval virulence and symptom phenotypes in plants. Journal of general virology, vol. 85, p. 739-747

PILSON D., 2001. The evolution of plant response to herbivory : simultaneously considering resistance and tolerance in *Brassica rapa*. Evolutionary Ecology, vol. 14, p. 457-489

RABERG L., SIM D., READ A. F., 2007. Disentangling genetic variation for resistance and tolerance to infectious diseases in animals. Science, vol. 318, n° 5861, p. 812-814

RAPILLY F., 1991. L'épidémiologie en pathologie végétale, Mieux Comprendre, INRA. Chapitre IV Résistance génétique de l'hôte et du peuplement, p. 40-64

RIESEBERG L. H., ARCHER M. A., WAYNE R. K., 1999 Transgressive segregation, adaptation and speciation. Heredity, vol. 83, p. 363-372

RIESEBERG L. H., WIDMER A., ARNTZ A. M., BURKE J. M., 2003. The genetic architecture necessary for transgressive segregation is common in both natural and domesticated populations. *The royal society*, p.1-7

ROBAGLIA C, CARANTA C, 2006. Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection. *Trends in Plant Science*, vol. 11, p. 40-45

ROY B. A., KIRCHNER J. W., 2000. Evolutionary dynamics of pathogen resistance and tolerance. *Evolution*, vol. 54, n° 1, p. 51-63

SACRISTÁN S., FRAILE A., MALPICA J. M., GARCÍA-ARENAL F., 2005. An analysis of host adaptation and its relationship with virulence in *Cucumber Mosaic virus*. *Virology*, vol. 95, n°7, p. 827-833

SACRISTÁN S., GARCÍA-ARENAL F., 2008. The evolution of virulence and pathogenicity in plant pathogen populations. *Molecular plant pathology*, vol. 9, n° 2, p.1-15

SALVAUDON L., GIRAUD T., SHYKOFF J. A., 2008. Genetic diversity in natural populations : A fundamental component of plant-microbe interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 11, n° 2, p. 135-143

SIMMS E. L., 2000. Defining tolerance as a norm of reaction. *Evolutionary Ecology*, vol. 14, p. 563-570

STOWE K. A., MARQUIS R. J., HOCHWENDER C. G., SIMMS E. L., 2000. The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. *Annual Review of Ecology and Systematics*, vol. 31, p. 565-595

VAN DER PLANK J.E., 1986. Disease resistance in plants. *Academy Press*, New York and London

WINTERHALTER A. C., 2003. potyvirus: Genome structure, organisation, processing and possible functions of mature proteins. <http://www.uq.edu.au/vdu/VDUPotyvirus.htm> (page consultée le 4 juin 2008)

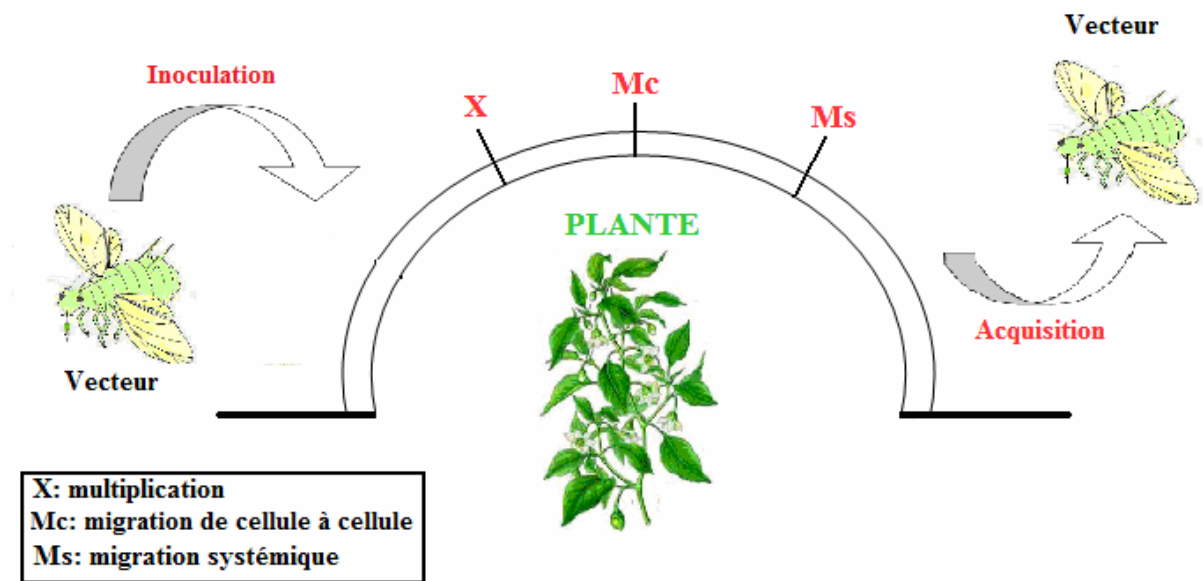


Figure 1: Cycle d'infection d'une plante par un virus dans le cas d'une transmission par un insecte vecteur.

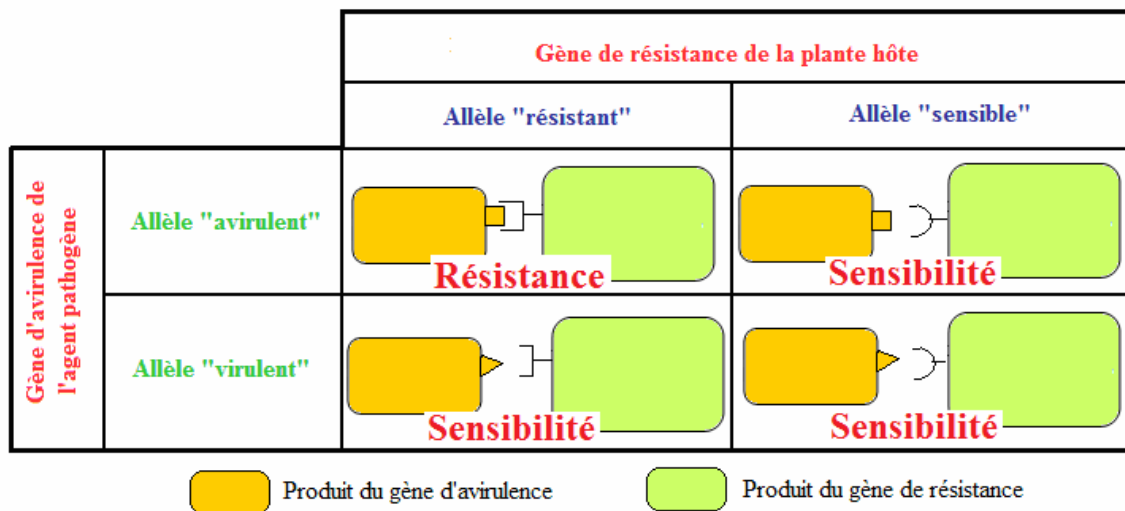
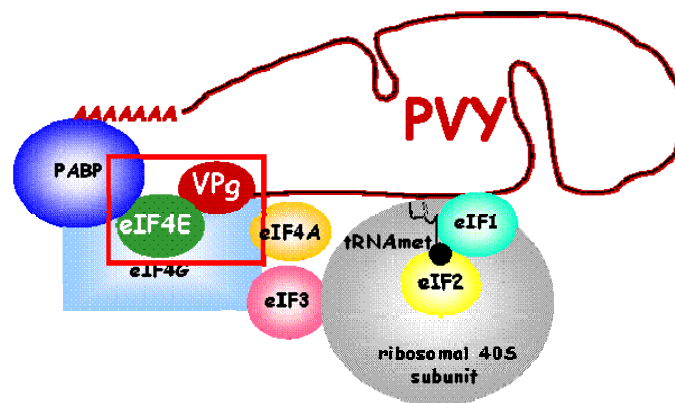


Figure 2: Relation "gène pour gène" entre un agent pathogène et sa plante hôte dans le cas d'une résistance contrôlée par un gène dominant.



eIF: Facteur eucaryote d'initiation de la traduction
 VPg: Protéine virale liée au génome
 PABP: protéine liée à l'extrémité poly-adénylée

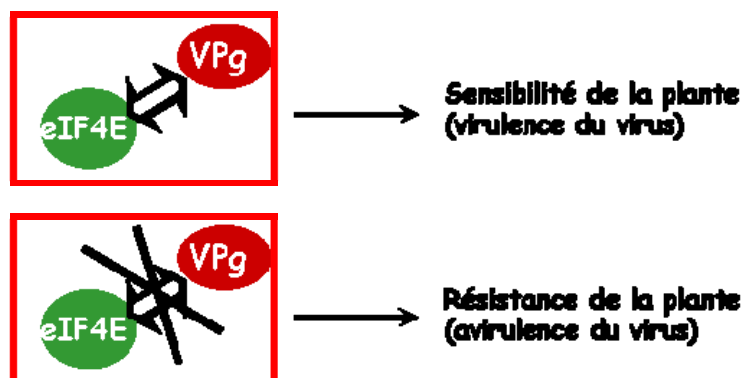


Figure 3: Complexe d'initiation de la traduction des ARN messagers chez les plantes et interaction avec le *Potato virus Y* (PVY) via la protéine eIF4E.

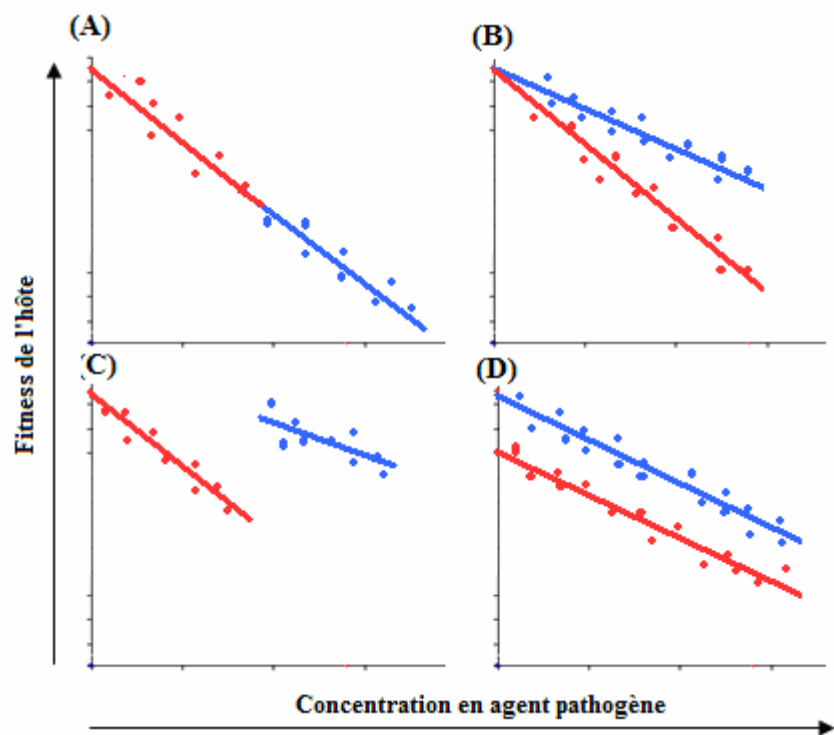


Figure 4: Illustration théorique des possibilités de combinaison de différents niveaux de résistance et de tolérance chez deux génotypes hôtes (bleu et rouge) vis-à-vis de différents génotypes d'agents pathogènes (différents points) (d'après Raberg et *al.*, 2007).

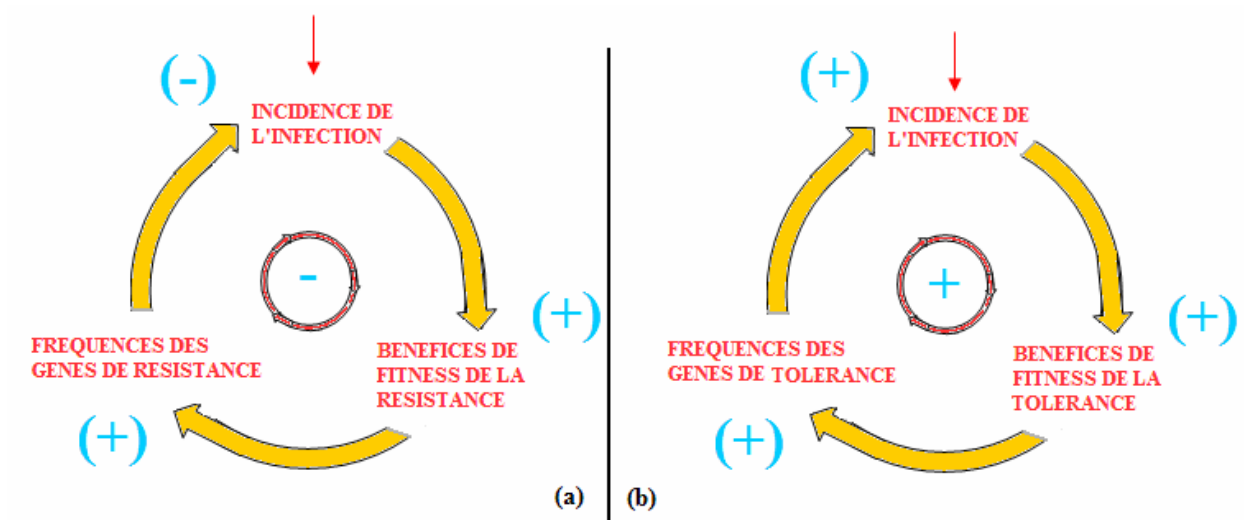


Figure 5: Mécanismes de rétro-contrôle qui orientent la fixation des mécanismes de résistance et de tolérance chez une population d'hôtes. (a) Résistance, (b) Tolérance (d'après Roy et Kirchner, 2000).

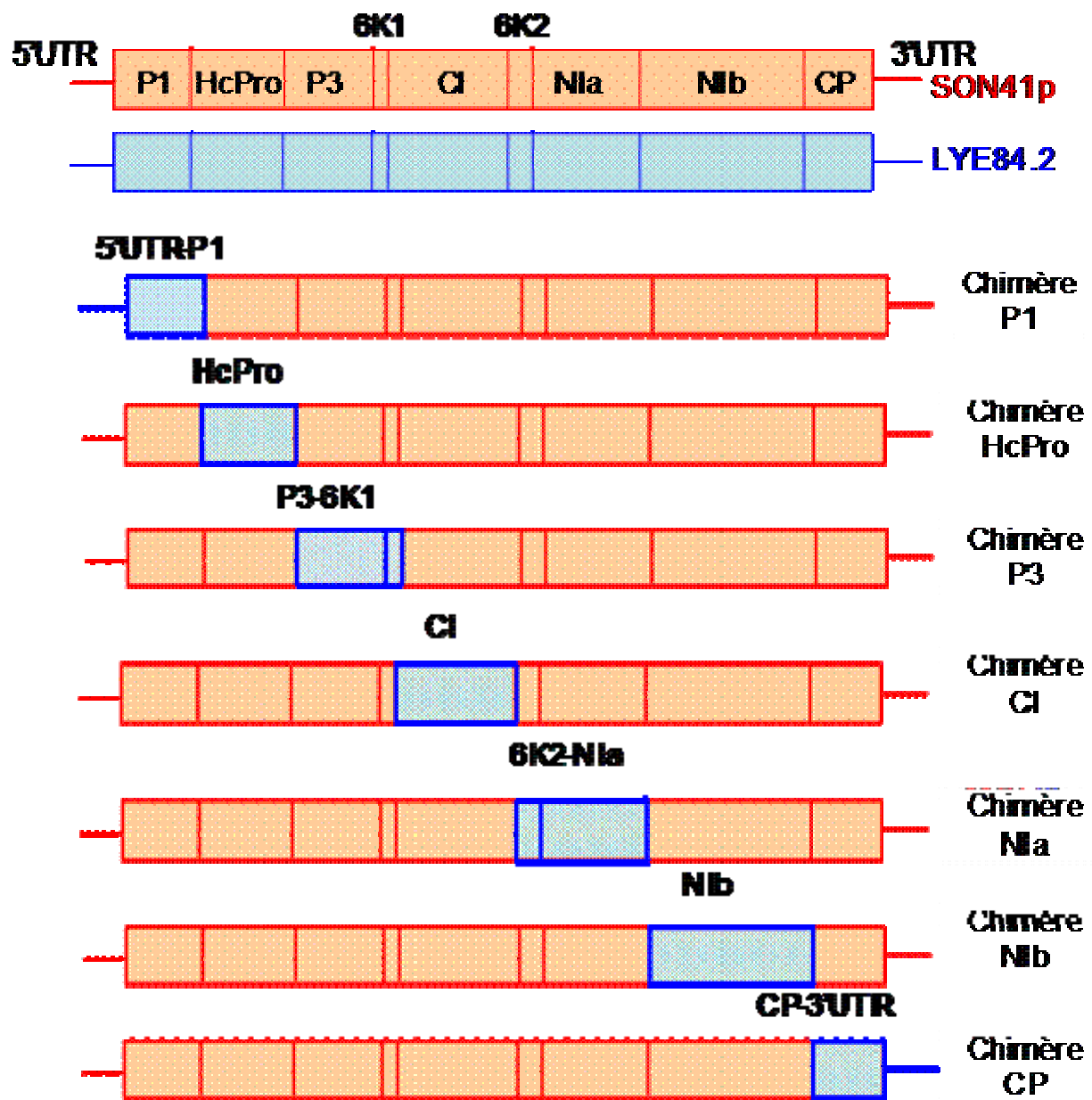


Figure 6: Schéma des différent virus chimères obtenus par recombinaison homologue chez la levure à partir des deux clones ADNc parentaux SON41p et LYE84.2.

Abréviations: 5'UTR : région non traduite en 5' (5' untranslated region); P1 : Protéine 1 (protéase); HcPro: Helper component protease (protéine permettant la transmission par puceron et ayant une fonction protéase); P3 : Protéine 3 (fonction inconnue); CI : Cylindrical inclusion (hélicase); 6K1 et 6K2 : protéines de 6 kDa 1 et 2 (fonctions inconnues); NIa : Nuclear Inclusion a (possède un domaine VPg, protéine virale liée au génome et un domaine protéase); Nib : Nuclear Inclusion b (ARN polymérase ARN dépendante); CP : Protéine de capsid; 3'UTR : région non traduite en 3' (3' untranslated region) (d'après Winterhalter, 2003)

Gènes ou QTL	Yolo Wonder	Perennial	HD223	HD2104	HD203	HD295	HD267	HD207	HD285
<i>pvr2</i> ³	S	R	S	S	S	S	S	S	R
QTL 1	S	R	R	R	R	S	R	S	S
QTL 2	S	R	R	S	R	R	S	R	S
QTL 3	S	R	R	R	S	R	S	S	S
QTL 4	R	S	R	R	R	S	S	S	S
QTL 5	R	S	R	R	R	S	S	S	S

Figure 7: Répartition du gène majeur (*pvr2*³) et des QTL de résistance chez les lignées de piment étudiées. Les lignées haploïdes doublées (HD) sont issues de l'hybride F1 entre les lignées Yolo Wonder et Perennial. Bien que je n'aie pas utilisé Perennial dans mes expériences, les allèles de résistances présents chez cette lignée sont également indiqués. (R) présence de l'allèle de résistance du gène ou du QTL, (S) présence de l'allèle de sensibilité du gène ou QTL

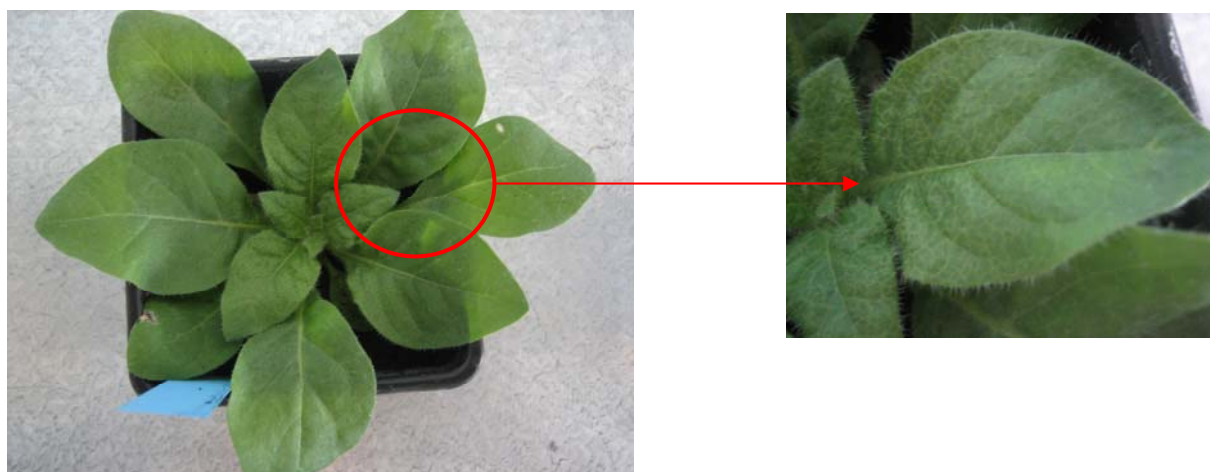


Figure 8: Avec un clone d'ADNc de la chimère P3 (figure 6), symptômes observés 15 jours après bombardement avec *N. clevelandii*. Noter la crispation des jeunes feuilles et la chlorose nervaire.

Tableau 1: Grille d'annotation des symptômes

Notation	Observations
"0"	Aucun symptôme observé
"1"	Mosaïque faible, début de chlorose nervaire
"2"	Mosaïque forte
"3"	Début de nécrose sur les feuilles
"4"	Nécrose totale d'au moins une feuille de la plante

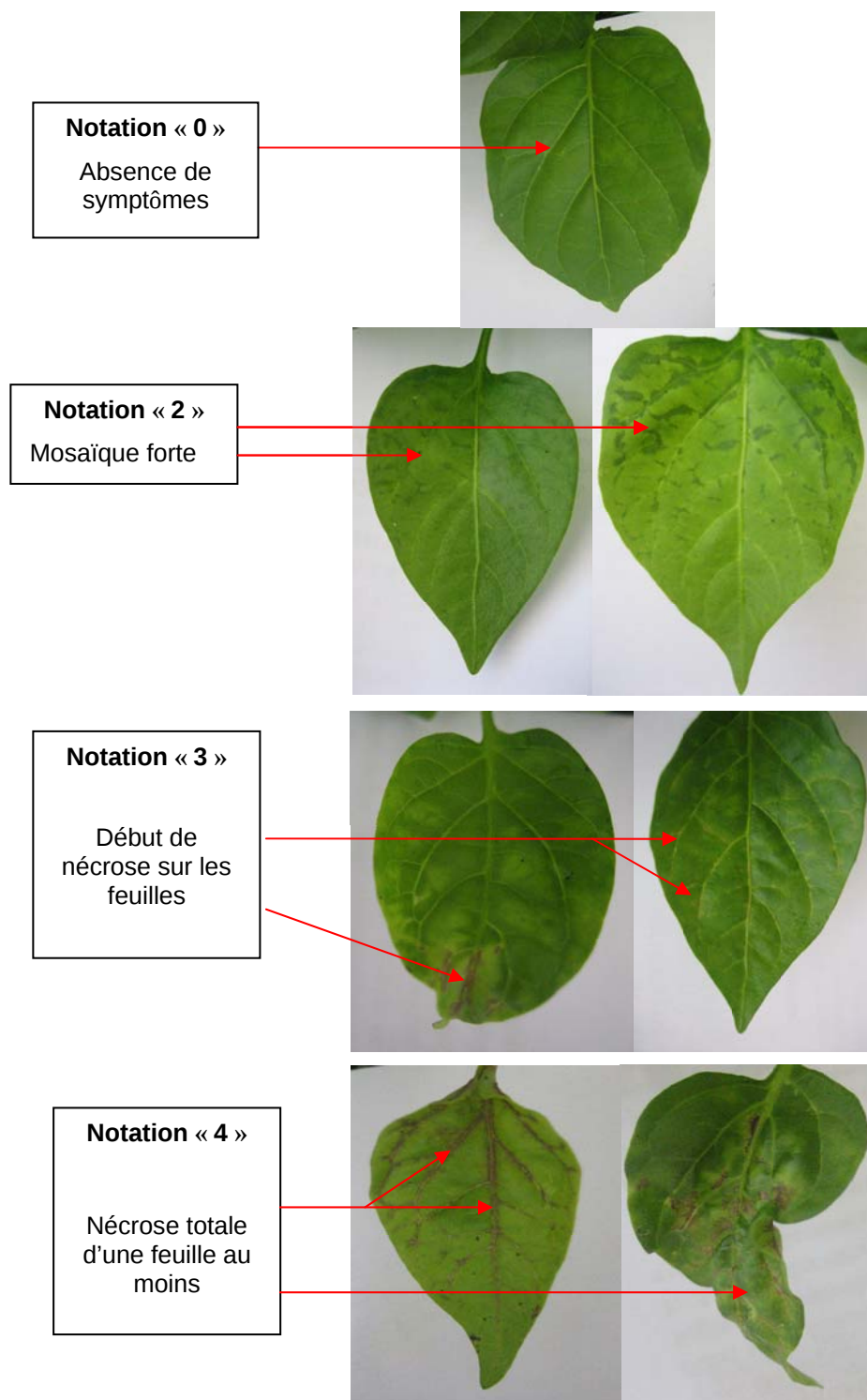


Figure 9: Grille de notation (tableau 1) des symptômes observés chez les piments infectés par le PVY. La notation "1" n'est pas montrée car les symptômes sont peu visibles.

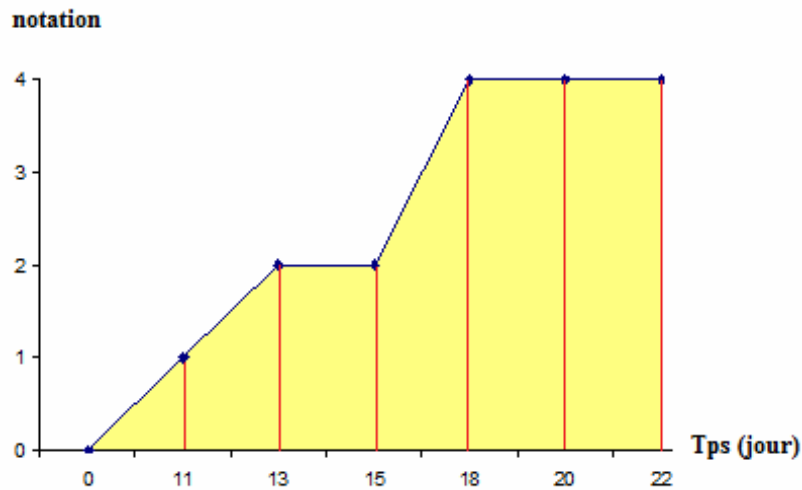


Figure 10: Evolution des symptômes observés sur une plante au cours du temps permettant la détermination de l'AUDPC (Area under the disease progress curve) représentée en jaune sur le graphique.

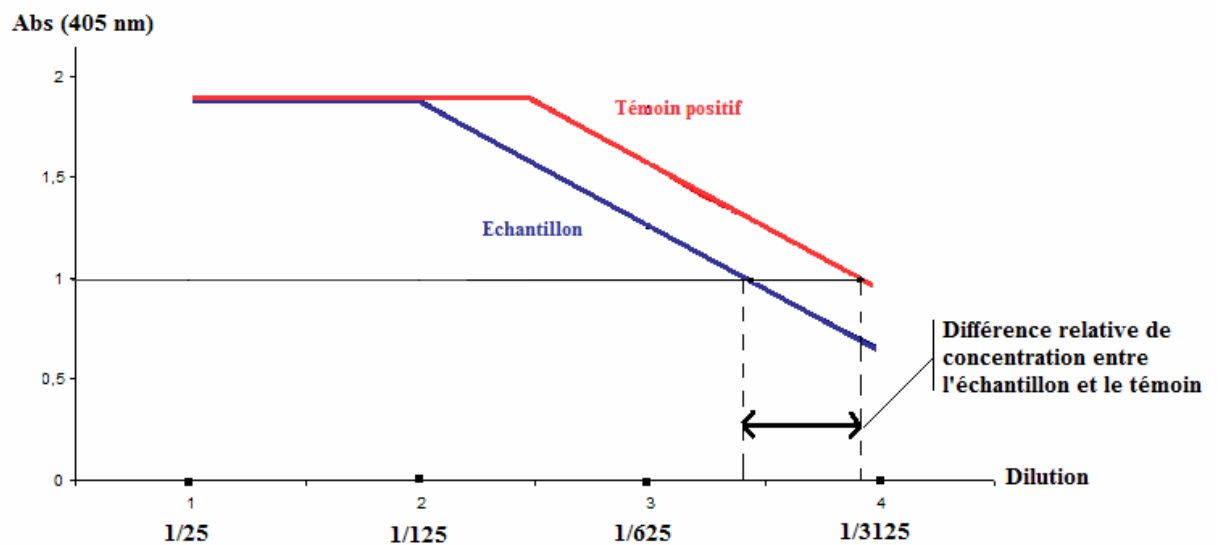


Figure 11: Détermination de la concentration virale relative chez une plante individuelle (courbe bleue) par rapport au témoin positif (courbe rouge).

En abscisse : facteur de dilution (échelle logarithmique). En ordonnée: intensité de la réaction enzymatique colorée du test ELISA (absorbance de l'échantillon mesurée à 405 nm). Dans la zone où les courbes sont parallèles (Abs = 1 par exemple), l'écart entre ces courbes est proportionnel à l'écart de concentration virale entre les deux échantillons.

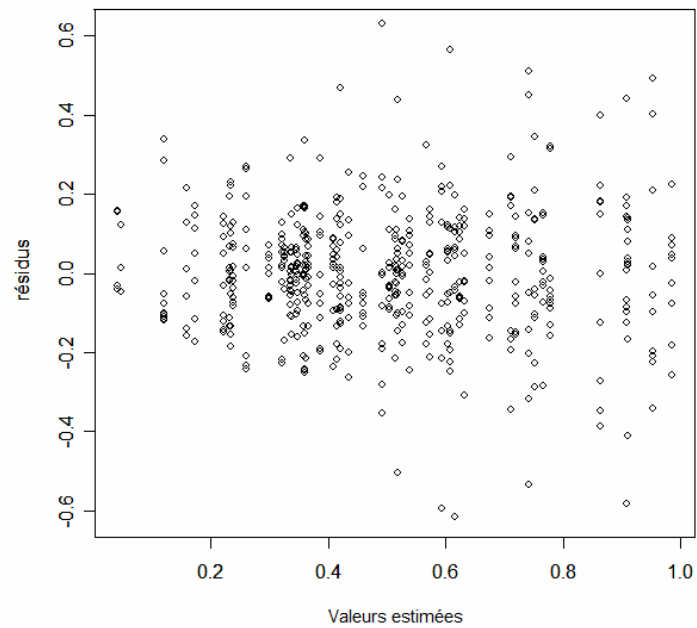


Figure 12: Validation des hypothèses 1 et 2 du modèle d'analyse de variance.

Pour valider l'hypothèse 1 (résidus centrés), il faut vérifier si les données se situent équitablement autour de la valeur 0 selon l'axe des résidus. Pour valider l'hypothèse 2, il faut vérifier que les valeurs de résidus n'augmentent ou ne diminuent pas avec les valeurs estimées ($C_{ij}-\epsilon_{ij}$). Exemple de la variable $\sqrt{AUDPC}$. Malgré une très légère augmentation des résidus avec les valeurs estimées, les points sont bien répartis autour de la valeur 0. Les deux hypothèses sont donc validées.

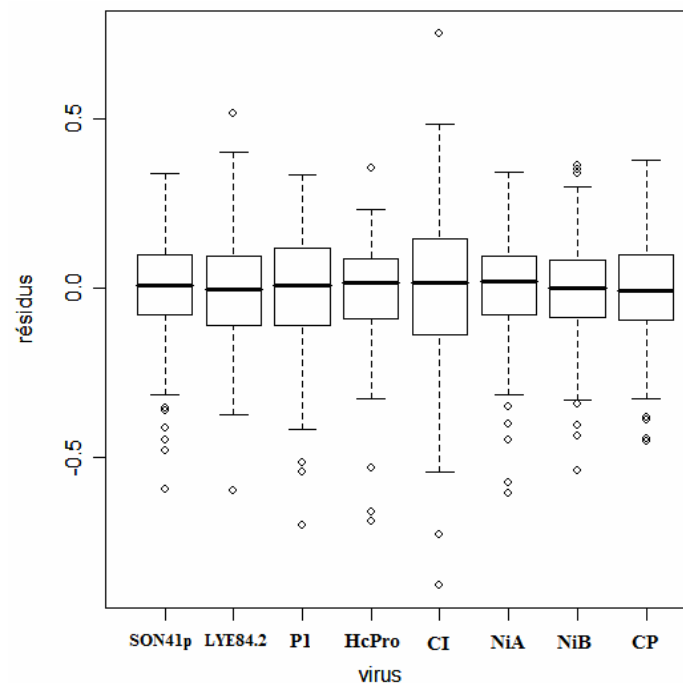


Figure 13: Validation des hypothèses 1 et 2 du modèle d'analyse de la variance.

Nous devons avoir une médiane au niveau de la valeur 0 de l'axe des résidus (trait horizontal noir et épais) et une répartition semblable pour tous les génotypes viraux des points autour de cette médiane (rectangle blanc qui indique les bornes contenant 50% des résidus). Les médianes sont très proches de la valeur 0 avec une répartition assez similaire des points autour de ces médianes. Les deux hypothèses sont donc validées. Le même type de résultat a été obtenu pour les génotypes de plantes.

	CI	CP	SON41p	P1	HcPro	LYE84.2	P3	Nlb	Nla
HD207									
HD267									
Yolo Wonder									
HD295									
HD203									
HD2104									
HD 223									

Figure 14 : Répartition des symptômes en fonction des combinaisons entre génotypes de plante et des génotypes de virus.

Orange : présence de nécrose, bleu : absence de nécrose (mosaïque) et blanc: absence de symptômes. Les cases divisées en deux couleurs indiquent les résultats différents obtenus d'une expérience à l'autre.

Tableau 2 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{AUDPC}$ pour les différents génotypes de virus et pour chaque expérience.

Dans les expériences 1 et 2, les lettres indiquent les groupes de virus significativement différents après comparaison des moyennes 2 à 2 ($p < 5\%$). Les lettres du bilan font un récapitulatif des deux expériences et permettent d'obtenir un classement des génotypes montrant les différences significatives de l'agressivité des virus étudiés reproductibles d'une expérience à l'autre.

Expérience 1			Expérience 2			Bilan	
Génotype de virus	Moyenne $\sqrt{AUDPC}$	Groupe	Génotype de virus	Moyenne $\sqrt{AUDPC}$	Groupe	Génotype de virus	Groupe
CI	6,343	A	CI	5,841	A	CI	A
CP	5,983	B	P1	4,143	B	CP	B
SON41p	5,715	B	SON41p	3,908	B	SON41p	B
HCPRO	5,413	C	CP	3,888	B	P1	BC
P1	5,264	C	HcPro	3,449	C	HcPro	C
LYE84.2	4,798	D	LYE84.2	2,403	D	LYE84.2	D
Nlb	4,072	E	P3	1,578	E	Nlb	E
Nla	0,550	F	Nlb	1,432	EF	Nla	E
			Nla	1,414	F	P3	E

Tableau 3 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{AUDPC}$ pour les différents génotypes de plantes et pour chaque expérience.

Dans les expériences 1 et 2, les lettres indiquent les groupes de plantes significativement différents après comparaison des moyennes 2 à 2 ($p < 5\%$). Les lettres du bilan font un récapitulatif des deux expériences et permettent d'obtenir un classement des génotypes montrant des différences significatives de symptomatologie chez les génotypes de piments reproductibles d'une expérience à l'autre.

Expérience 1			Expérience 2			Bilan	
Génotype de plante	Moyenne $\sqrt{AUDPC}$	Groupe	Génotype de plante	Moyenne $\sqrt{AUDPC}$	Groupe	Génotype de plante	Groupe
HD207	6,305	A	HD267	4,758	A	HD267	A
HD267	6,260	A	YW	4,206	B	HD207	AB
YW	5,482	B	HD207	3,552	C	YW	B
HD295	4,511	C	HD2104	3,168	D	HD2104	C
HD2104	4,096	D	HD203	2,496	E	HD203	C
HD203	4,057	D	HD295	2,331	E	HD295	C
HD223	2,622	E	HD223	1,312	F	HD223	D

Tableau 4 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{CONC}$ pour les différents génotypes de virus et pour chaque expérience.

Dans les expériences 1 et 2, les lettres indiquent les groupes de virus significativement différents après comparaison des moyennes 2 à 2 ($p < 5\%$). Les lettres du bilan font un récapitulatif des deux expériences et permettent d'obtenir un classement des génotypes montrant des différences significatives de fitness des virus étudiés reproductible d'une expérience à l'autre.

Expérience 1		
Génotype de virus	Moyenne $\sqrt{CONC}$	Groupe
SON41p	0,702	A
CI	0,580	B
P1	0,475	C
CP	0,435	C
NIb	0,417	CD
NIb	0,355	DE
HcPro	0,323	E
LYE84.2	0,200	F

Expérience 2		
Génotype de virus	Moyenne $\sqrt{CONC}$	Groupe
NIb	1,417	A
CI	1,405	AB
P1	1,381	AB
CP	1,261	AB
SON41p	1,174	AB
NIa	1,157	B
LYE84.2	0,739	C
HcPro	0,678	C
P3	0,650	C

Bilan	
Génotype de virus	Groupe
SON41p	A
CI	A
P1	A
CP	A
NIb	A
NIa	AB
HcPro	BC
LYE84.2	C
P3	C

Tableau 5 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{CONC}$ pour les différents génotypes de plante et pour chaque expérience.

Dans les expériences 1 et 2, les lettres indiquent les groupes de plantes significativement différents après comparaison des moyennes 2 à 2 ($p < 5\%$). Les lettres du bilan font un récapitulatif des deux expériences et permettent d'obtenir un classement des génotypes montrant des différences de résistance quantitative entre les génotypes de piments reproductible d'une expérience à l'autre.

Expérience 1		
Génotype de plante	Moyenne $\sqrt{CONC}$	Groupe
YW	0,609	A
HD2104	0,580	A
HD203	0,500	B
HD267	0,381	C
HD207	0,370	C
HD223	0,355	C
HD295	0,211	D

Expérience 2		
Génotype de plante	Moyenne $\sqrt{CONC}$	Groupe
YW	1,595	A
HD2104	1,392	A
HD203	1,221	AB
HD223	1,104	BC
HD207	0,909	CD
HD295	0,754	D
HD267	0,662	D

Bilan	
Génotype de plante	Groupe
YW	A
HD2104	A
HD203	AB
HD223	BC
HD207	CD
HD267	CD
HD295	D

Tableau 6 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable ln(RelMS) pour les différents génotypes de virus et pour chaque expérience.

Dans les expériences 1 et 2, les lettres indiquent les groupes de virus significativement différents après comparaison des moyennes 2 à 2 ($p < 5\%$). Les lettres du bilan font un récapitulatif des deux expériences et permettent d'obtenir un classement des génotypes montrant des différences significatives d'agressivité des virus étudiés reproductible d'une expérience à l'autre.

Expérience 1			Expérience 2			Bilan	
Génotype de virus	Moyenne ln (RelMS)	Groupe	Génotype de virus	Moyenne ln (RelMS)	Groupe	Génotype de virus	Groupe
CP	0,674	A	P3	0,693	A	P3	A
HcPro	0,580	B	CP	0,601	B	CP	B
NIa	0,547	B	HcPro	0,590	B	HcPro	B
SON41p	0,437	C	P1	0,570	B	P1	BC
NIb	0,428	C	SON41p	0,515	C	NIa	BC
P1	0,422	C	NIb	0,478	C	SON41p	C
LYE84.2	0,402	C	LYE84.2	0,470	C	NIb	C
CI	0,255	D	NIa	0,470	C	LYE84.2	C
			CI	0,299	D	CI	D

Tableau 7 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable ln(RelMS) pour les différents génotypes de plante et pour chaque expérience.

Dans les expériences 1 et 2, les lettres indiquent les groupes de plantes significativement différents après comparaison des moyennes 2 à 2 ($p < 5\%$). Les lettres du bilan font un récapitulatif des deux expériences et permettent d'obtenir un classement des génotypes montrant des différences de résistance quantitative entre les génotypes de piments reproductible d'une expérience à l'autre.

Expérience 1			Expérience 2		
Génotype de plante	Moyenne ln(RelMS)	Groupe	Génotype de plante	Moyenne ln(RelMS)	Groupe
HD223	0,535	A	HD2104	0,586	A
YW	0,529	A	HD203	0,550	AB
HD267	0,476	AB	HD223	0,516	BC
HD203	0,475	AB	HD207	0,516	BC
HD2104	0,417	B	HD267	0,507	BC
HD295	0,417	B	YW	0,486	CD
HD207	0,224	C	HD295	0,428	D

Tableau 8 : Comparaison des fréquences d'adaptation de SON41p et de 6 chimères ayant la même VPg (cf. figure) à un gène majeur de résistance *pvr2*³.

Les lettres indiquent les groupes significativement différents par comparaison du nombre de plante HD285 infectées (nécroses) par virus 2 à 2 (tests exacts de Fisher, $p < 5\%$).

Génotype de virus	% infection	Groupe
CI	54	A
P1	39	B
SON41p	18	BC
CP	13	C
HcPro	8	C
NIb	0	C
P3	0	C

Tableau 9: Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) et la variable AUDPC représentant l'agressivité virale.

Pr(>|t|) indique la probabilité que la pente de régression ne soit pas significativement différente de 0. Les probabilités en rouge sont non significatives au seuil de 5%. Les génotypes de plante en jaune montrent une tolérance (pente non différente de 0) et reproductible d'une expérience à l'autre.

	Expérience 1		Expérience 2	
Génotypes de plante	Pente de la droite de régression	Pr(> t)	Pente de la droite de régression	Pr(> t)
YW	8,504	0,0126	0,538	0,782
HD223	1,723	0,198	0,8928	0,0755
HD2104	2,383	0,283	5,4253	0,00224
HD203	7,692	0,00545	1,145	0,456
HD295	-0,2628	0,957	6,113	0,0605
HD267	7,692	0,00545	2,089	0,597
HD207	4,071	0,541	12,160	0,00306

Tableau 10: Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) et la variable ReIMS représentant l'agressivité virale.

Pr(>|t|) indique la probabilité que la pente de régression ne soit pas significativement différente de 0. Les probabilités en rouge sont non significatives. Les génotypes de plante en jaune montrent une tolérance (pente non différente de 0) et reproductible d'une expérience à l'autre. Les génotypes de plante en vert montrent une pente de régression significativement différente de 0 et reproductible dans les deux expériences.

	Expérience 1		Expérience 2	
Génotypes de plante	Pente de la droite de régression	Pr(> t)	Pente de la droite de régression	Pr(> t)
YW	-0,08352	0,366	-0,04040	0,497
HD223	0,05482	0,619	-0,04415	0,311
HD2104	0,06099	0,544	-0,05876	0,455
HD203	-0,24101	0,00350	-0,10563	0,0387
HD295	-0,25884	0,000134	-0,06569	0,147
HD267	-0,24101	0,00350	-0,14302	0,0372
HD207	-0,12584	0,1291	-0,02256	0,818

Tableau 11 : Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) représentant la fitness et la variable AUDPC représentant l'agressivité virale.

Pr(>|t|) indique la probabilité que la pente de régression ne soit pas significativement différente de 0. Les probabilités en rouge sont significatives. Les génotypes de plante en jaune montrent une tolérance (pente non différente de 0) et reproductible d'une expérience à l'autre. Les génotypes de plante en vert montrent une pente de régression significativement différente de 0 et reproductible dans les deux expériences. (+) indique une corrélation positive entre agressivité et fitness. (-) indique une corrélation négative entre agressivité et fitness.

	Expérience 1		Expérience 2	
Génotypes de virus	Pente de la droite de régression	Pr(> t)	Pente de la droite de régression	Pr(> t)
SON41p	-9,56	0,15	-2,7	0,28
LYE84.2	7,52 (+)	0,02	-0,60	0,76
P1	-9,27 (-)	0,001	2,00	0,55
HcPro	-1,71	0,51	-2,58	0,13
CI	-23,56 (-)	0,027	-16,35 (-)	0,0002
NIa	2,09 (+)	0,0027	1,30	0,16
NIb	1,34	0,88	3,06 (+)	0,049
CP	0,24	0,97	0,58	0,79
P3			1,43	0,50

Tableau 12 : Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) représentant la fitness et la variable RelMS représentant l'agressivité virale.

Pr(>|t|) indique la probabilité que la pente de régression ne soit pas significativement différente de 0. Les probabilités en rouge sont significatives. Les génotypes de plante en jaune montrent une tolérance (pente non différente de 0) et reproductible d'une expérience à l'autre. Les génotypes de plante en vert montrent une pente de régression significativement différente de 0 et reproductible dans les deux expériences. (+) indique une corrélation positive entre agressivité et fitness. (-) indique une corrélation négative entre agressivité et fitness.

	Expérience 1		Expérience 2	
Génotypes de virus	Pente de la droite de régression	Pr(> t)	Pente de la droite de régression	Pr(> t)
SON41p	-0,39 (+)	0,0088	0,074	0,12
LYE84.2	-0,065	0,37	-0,052	0,49
P1	-0,017	0,75	0,115	0,070
HcPro	-0,12 (+)	0,023	-0,063	0,077
CI	0,37 (-)	0,007	0,115 (-)	0,039
NIa	-0,61 (+)	8.10⁻⁵	-0,011	0,87
NIb	0,013	0,88	-0,002	0,96
CP	-0,067	0,66	0,033	0,69
P3			-0,23 (+)	0,016

Tableau 13 : Résultats hypothétiques pour différencier l'hypothèse d'un effet additif ou d'un effet d'épistasie d'un génotype viral transgressif (exemple de la chimère CI).

Effet positif (+) ou négatif (-) d'un locus pour les deux virus parentaux SON41p et LYE84.2. La partie CI du génome se situe au centre. Dans un modèle additif, les deux chimères CI et CI' provoquent des effets plus forts que les deux virus parents. Dans un modèle d'épistasie, la chimère réciproque provoque un effet inattendu. Dans cet exemple, le modèle épistatique ne prédit pas de différences phénotypiques significatives entre LYE84.2 et la chimère réciproque CI'.

Génotype de virus	Valeur phénotypique observée							
	Modèle additif				Modèle épistatique			
SON41p	+1	-1	+1	+1	+2	+1	0	+1
LYE84.2	-1	+1	-1	-1	-2	-1	0	-1
Chimère CI	+1	+1	+1	+3	+3	+1	+1	+1
Chimère réciproque CI'	-1	-1	-1	-3	-2	-1	0	-1

Tableau 14 : Exemple hypothétique de ségrégation transgressive basée sur l'action complémentaire de gènes avec des effets additifs chez SON41p et LYE84.2 représentant les deux virus parents.

(+1) indique un effet positif (relatif) du QTL sur la variable analysée et (-1) indique un effet négatif (relatif) du QTL sur la variable analysée (d'après Rieseberg et al., 1999). Deux chimères entre SON41p et LYE84.2 montrant des phénotypes transgressifs (supérieurs et inférieurs à l'ensemble des 2 parents) sont représentées parmi de nombreuses possibilités.

	Effets phénotypiques			
QTL	SON41p	LYE84.2	Chimère 1	Chimère 2
1	+1	-1	+1	-1
2	+1	-1	+1	-1
3	+1	-1	+1	-1
4	-1	+1	+1	-1
5	-1	+1	+1	-1
Total	+1	-1	+5	-5

Figure 15: L'effet de la sélection directionnelle sur la transgression.

Le PVY "ancestral" évolue au cours du temps en s'adaptant à son hôte. Les virus SON41 et LYE84.2 sélectionnent ainsi des QTL de la fitness. Lorsque la sélection directionnelle est présente, la transgression est beaucoup moins favorisée (d'après Rieseberg et al., 1999).

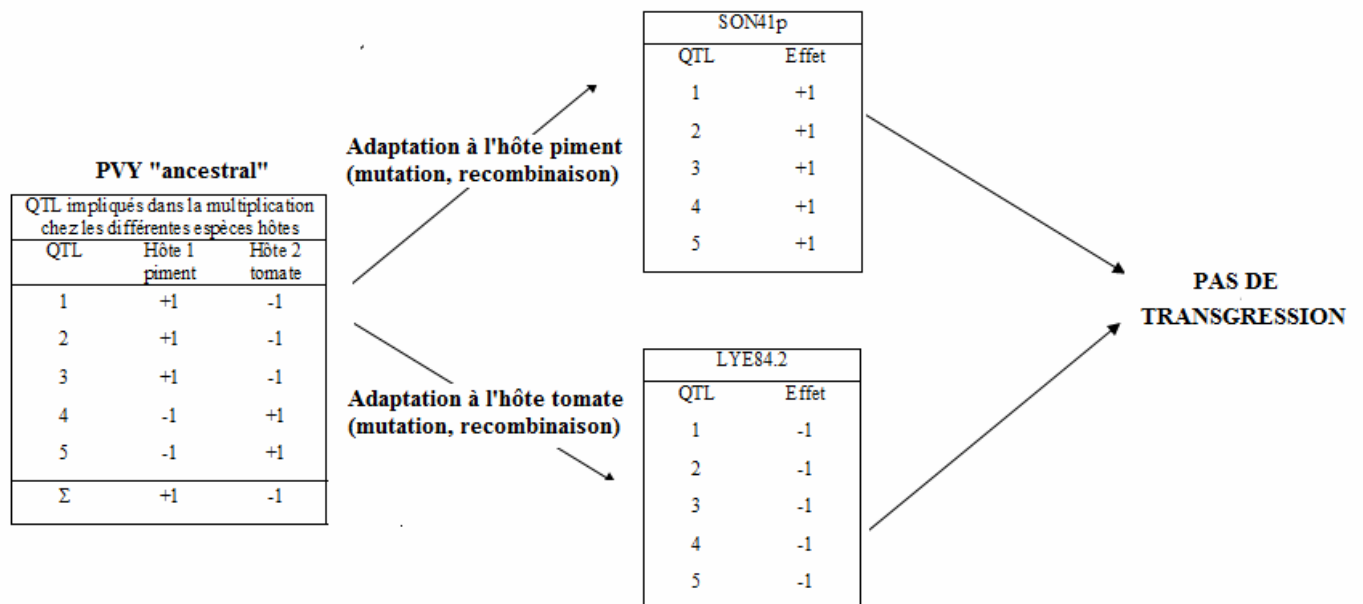


Figure 1: Cycle d'infection d'une plante par un virus dans le cas d'une transmission par un insecte vecteur.

Figure 2: Relation "gène pour gène" entre un agent pathogène et sa plante hôte dans le cas d'une résistance contrôlée par un gène dominant.

Figure 3: Complexe d'initiation de la traduction des ARN messagers chez les plantes et interaction avec le *Potato virus Y* (PVY) via la protéine eIF4E.

Figure 4: Illustration théorique des possibilités de combinaison de différents niveaux de résistance et de tolérance chez deux génotypes hôtes (bleu et rouge) vis-à-vis de différents génotypes d'agents pathogènes (différents points) (d'après Raberg et al., 2007).

Figure 5: Mécanismes de rétro-contrôle qui orientent la fixation des mécanismes de résistance et de tolérance chez une population d'hôtes. (a) Résistance, (b) Tolérance (d'après Roy et Kirchner, 2000).

Figure 6: Schéma des différents virus chimères obtenus par recombinaison homologue chez la levure à partir des deux clones ADNc parentaux SON41p et LYE84.2.

Figure 7: Répartition du gène majeur (*pvr2*³) et des QTL de résistance chez les lignées de piment étudiées.

Figure 8: Avec un clone d'ADNc de la chimère P3 (cf. figure 6), symptômes observés 15 jours après bombardement avec *N. clevelandii*. Noter la crispation des jeunes feuilles et la chlorose nervaire.

Figure 9: Grille de notation (cf. tableau 1) des symptômes observés chez les piments infectés par le PVY. La notation "1" n'est pas montrée car les symptômes sont peu visibles.

Figure 10: Evolution des symptômes observés sur une plante au cours du temps permettant la détermination de l'AUDPC (Area under the disease progress curve) représentée en jaune sur le graphique.

Figure 11: Détermination de la concentration virale relative chez une plante individuelle (courbe bleue) par rapport au témoin positif (courbe rouge).

Figure 12: Validation des hypothèses 1 et 3 du modèle d'analyse de variance.

Figure 13: Validation des hypothèses 1 et 2 du modèle d'analyse de la variance.

Figure 14 : Répartition des symptômes en fonction des combinaisons entre génotypes de plante et des génotypes de virus.

Figure 15: L'effet de la sélection directionnelle sur la transgression.

Tableau 1: Grille d'annotation des symptômes

Tableau 2 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{AUDPC}$ pour les différents génotypes de virus et pour chaque expérience.

Tableau 3 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{AUDPC}$ pour les différents génotypes de plantes et pour chaque expérience.

Tableau 4 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{CONC}$ pour les différents génotypes de virus et pour chaque expérience.

Tableau 5 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\sqrt{CONC}$ pour les différents génotypes de plante et pour chaque expérience.

Tableau 6 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\ln(\text{RelMS})$ pour les différents génotypes de virus et pour chaque expérience.

Tableau 7 : Résultats de comparaisons des moyennes de la variable $\ln(\text{RelMS})$ pour les différents génotypes de plante et pour chaque expérience.

Tableau 8 : Comparaison des fréquences d'adaptation de SON41p et de 6 chimères ayant la même VPg (cf. figure) à un gène majeur de résistance *pvr2*³.

Tableau 9: Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) et la variable AUDPC représentant l'agressivité virale.

Tableau 10: Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) et la variable RelMS représentant l'agressivité virale.

Tableau 11 : Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) représentant la fitness et la variable AUDPC représentant l'agressivité virale.

Tableau 12 : Corrélation entre la concentration virale (exprimée sous forme logarithmique) représentant la fitness et la variable RelMS représentant l'agressivité virale.

Tableau 13 : Résultats hypothétiques pour différencier l'hypothèse d'un effet additif ou d'un effet d'épistasie d'un génotype viral transgressif (exemple de la chimère CI).

Tableau 14 : Exemple hypothétique de ségrégation transgressive basée sur l'action complémentaire de gènes avec des effets additifs chez SON41p et LYE84.2 représentant les deux virus parents.

RESUME

L'objectif de mon stage était d'identifier chez un virus de plante, le *Potato virus Y* (PVY, genre *Potyvirus*), les régions du génome impliquées dans les variations quantitatives de son pouvoir pathogène (fitness virale (reproduction), agressivité et capacité à s'adapter à un gène de résistance à effet qualitatif *pvr2*³) lorsqu'il infecte différents génotypes de piment (*Capsicum annuum*). Des différences significatives et reproductibles d'une expérience à l'autre entre génotypes de plante et de virus ont été mises en évidence pour les différents caractères étudiés, permettant d'impliquer différentes régions du génome de PVY dans les variations de ces caractères. Plusieurs de ces génotypes de virus utilisés, issus de recombinaisons entre les génomes de deux souches parentales de PVY, ont montré des phénotypes transgressifs (extrêmes par rapport aux virus parentaux) pour les caractères d'agressivité alors que ce n'est pas le cas pour le caractère de fitness. Aucune corrélation reproductible n'a été montrée entre fitness et agressivité chez la quasi-totalité des virus. De même, aucune corrélation n'a été révélée entre résistance (aptitude à réduire le niveau d'infection par le virus) et tolérance (aptitude à réduire les dommages quel que soit le niveau d'infection). Ces résultats permettent de mieux connaître les mécanismes de co-évolution entre le PVY et le piment, les fonctions des différentes régions du génome du PVY et d'aider à la création de variétés de piment cumulant des mécanismes de résistance et de tolérance au PVY.

Mot clé: *Potato virus Y*, pouvoir pathogène, phénotype transgressif, *Capsicum annuum*, résistance quantitative, tolérance, corrélation génétique

ABSTRACT

The goal of my internship was to identify in the plant virus *Potato virus Y* (PVY), the regions of the genome involved in quantitative variations of viral pathogenicity (viral fitness (reproduction), aggressiveness, ability to adapt to the qualitative resistance gene *pvr2*³) on different pepper (*Capsicum annuum*) genotypes. Differences between plant and virus genotypes were revealed for the studied traits and were shown to be significant and reproducible from an experiment to another. This allowed to involve different regions of the PVY genome in the variation of these traits. Several virus genotypes obtained from recombinations between two parental PVY strains, showed transgressive phenotypes (extreme phenotypes compared to the parental viruses) for aggressiveness traits but not for the fitness trait. No reproducible correlations were shown between fitness and aggressiveness for almost all viruses. Similarly, there were no correlations between resistance (ability to reduce the infection level by the virus) and tolerance (ability to reduce damages whatever the infection level) in the plants. These results allow to understand better the co-evolution mechanisms between PVY and pepper, the functions of the different genome regions of PVY and to allow creation of pepper varieties which cumulate PVY resistance and tolerance mechanisms.

Key words: *Potato virus Y*, pathogenicity, transgressive phenotype, *Capsicum annuum*, quantitative resistance, tolerance genetic correlation