



HAL
open science

Comment les plantes se défendent-elles face aux virus ?

Sylvie German-Retana, Mikhail M. Pooggin, Jean-Luc Gallois, Diana Ortiz,
Benoît Moury

► To cite this version:

Sylvie German-Retana, Mikhail M. Pooggin, Jean-Luc Gallois, Diana Ortiz, Benoît Moury. Comment les plantes se défendent-elles face aux virus ?. L'immunité des plantes. Pour des cultures résistantes aux maladies, Editions Quae, pp.65-75, 2021, 9782759232338. hal-03131013

HAL Id: hal-03131013

<https://hal.inrae.fr/hal-03131013v1>

Submitted on 1 Oct 2024

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

Chapitre 4. Comment les plantes se défendent-elles face aux virus ?

Sylvie German-Retana¹, Mikhail Pooggin², Jean-Luc Gallois³, Diana Ortiz³ et Benoît Moury⁴

¹ UMR 1332 *Biologie du Fruit et Pathologie*, INRAE, Univ. Bordeaux, 71 Av. E. Bourlaux, CS 20032, 33882 Villenave d'Ornon Cedex, France ; sylvie.german-retana@inrae.fr

² INRAE, UMR-BGPI, *Campus International de Baillarguet*, 34398 Montpellier, France; mikhail.pooggin@inrae.fr

³ INRAE, GAFL, F-84140 Montfavet, France ; jean-luc.gallois@inrae.fr; diana.ortiz@inrae.fr

⁴ INRAE, *Pathologie Végétale*, F-84140, Montfavet, France ; benoit.moury@inrae.fr

INTRODUCTION

Les virus sont les agents pathogènes responsables de la majorité des maladies émergentes chez les plantes et ont une grande incidence économique, en particulier dans les pays en voie de développement (Hull, 2013). Ils provoquent des dommages considérables en réduisant la vigueur, le rendement mais aussi la qualité des produits végétaux. Ils peuvent également augmenter la sensibilité des plantes à d'autres agents pathogènes ou à des facteurs abiotiques. Chez les plantes cultivées, des stratégies de contrôle sont mises en œuvre pour prévenir ou atténuer l'impact des virus. Ainsi, les mesures de quarantaine et les programmes de certification de semences et de matériel de propagation végétative, jouent un rôle essentiel pour limiter l'introduction et la dissémination de maladies virales dans un pays ou une région. Par ailleurs, les pratiques culturales, le contrôle des vecteurs ainsi que la prémunition peuvent réduire la propagation des virus. Une fois les plantes infectées par un virus, il n'existe pas de méthode de lutte curative applicable dans les cultures. La lutte chimique contre les virus est indirecte car elle cible les vecteurs de transmission de ces agents pathogènes (insectes, nématodes...). Elle est plutôt inefficace dans le cas des virus transmis très rapidement par le vecteur. De plus, dans un contexte de réduction drastique de l'utilisation des pesticides, cette stratégie de lutte doit être évitée.

L'utilisation de variétés résistantes reste à ce jour la solution la plus respectueuse de l'environnement et la plus facilement intégrée dans les systèmes de production. Déjà utilisée avec succès, la lutte génétique comporte cependant deux limites principales, la disponibilité de sources naturelles de résistance et la durabilité des résistances dans le temps, compromise par la capacité des virus à évoluer pour contourner les résistances.

Les virus sont des entités infectieuses porteuses d'une quantité d'information génétique très limitée (une quinzaine de gènes au maximum chez les virus de plantes) et sont dépourvus de leur propre système de traduction du génome en protéines (et de transcription du génome en ARNm dans les cas de virus à ADN). Leur cycle infectieux dépend de la plante hôte pour la synthèse des protéines virales, la réplication du génome, le mouvement dans la plante et la

transmission par vecteur. Incapables de se multiplier à l'extérieur des cellules vivantes, ces parasites obligatoires instaurent un dialogue moléculaire très étroit avec leur plante hôte, leur permettant de détourner les fonctions cellulaires nécessaires à la réalisation de leur cycle infectieux et d'échapper aux défenses de la plante. Le développement de stratégies de contrôle des maladies virales chez les plantes nécessite donc d'approfondir nos connaissances sur ce dialogue moléculaire.

Dans ce chapitre, nous décrivons les principaux mécanismes de défense des plantes vis-à-vis des virus. Ces mécanismes peuvent être gouvernés par des gènes dominants de résistance qui contrôlent en général des processus actifs permettant de contrer l'infection par l'agent pathogène (cf. §1.1). D'autre part, l'absence ou la mutation d'un facteur essentiel au virus chez sa plante hôte peut entraîner une résistance passive de la plante qui se traduit par un déterminisme génétique récessif (cf. §1.2). La cellule végétale est également capable de surveiller les ARN présents en son sein et, par un phénomène dit d'extinction génique ou ARN silencing, de dégrader de façon ciblée les ARN viraux et, dans le cas des virus à ADN, de réprimer la transcription des gènes viraux dans le noyau (cf. §2). Au-delà de ces résistances, nous verrons comment des résistances quantitatives sont elles aussi efficaces pour contrôler les virus de plantes (cf. §3) et présenterons d'autres stratégies de contrôle basées sur la tolérance (cf. §4).

1. RESISTANCES QUALITATIVES

1.1 Résistances dominantes

La résistance dominante aux virus est déterminée par un ensemble de gènes qui codent pour des protéines qui perturbent activement les principaux processus du pouvoir pathogène. Un avantage des résistances dominantes est qu'une seule copie du gène suffit pour conférer la résistance vis-à-vis des virus, facilitant leur intégration dans les programmes de sélection. Une famille de gènes dominants de résistance code en particulier pour des protéines dites récepteurs, possédant un domaine de liaison à un nucléotide et des répétitions riches en leucine. Ces protéines NLR (Nucleotide-Binding Leucine-Rich Repeats) jouent un rôle très important dans la surveillance des attaques d'agents pathogènes dans l'espace intracellulaire (cf. Chapitre 1). Les virus étant des parasites intracellulaires, il n'est pas surprenant qu'à ce jour environ 20 protéines NLR conférant une résistance à différents genres viraux ont été identifiées dans différentes espèces de plantes. Bien que la plupart de ces protéines confèrent généralement une résistance vis-à-vis d'un virus donné, certains peuvent conférer une résistance à plus large spectre (Gouveia *et al.*, 2017) ; c'est le cas du gène *N* de *Nicotiana glutinosa* qui confère une résistance à plusieurs espèces de tobamovirus économiquement importantes. En outre, le déploiement du gène *Rx* depuis plusieurs décennies a été l'une des principales stratégies pour protéger les cultures commerciales de pomme de terre contre le *Potato virus X* (PVX), montrant que l'intégration des NLR peut, dans certains cas, être un moyen

efficace de combattre les attaques de virus à long terme (Gouveia *et al.*, 2017). Bien que possédant une structure conservée avec des domaines canoniques (cf. chapitre 1), les NLR présentent souvent une grande variabilité de séquence, ce qui suggère qu'ils sont soumis à une sélection diversifiante, en partie causée par le virus ciblé. Chez la tomate, les allèles *Tm-2* et *Tm-2²* qui codent pour des protéines NLR différant par 4 acides aminés, sont associés à des durabilités de résistance différentes vis-à-vis de tobamovirus. De même, les allèles *L¹*, *L²*, *L³* et *L⁴* du locus *L* chez le piment codent pour des protéines NLR qui ont différents spectres de reconnaissance de la protéine de capsid de nombreuses espèces de tobamovirus. Ces études montrent qu'un nombre réduit de variations au niveau de la séquence d'une protéine NLR peut affecter considérablement le spectre de résistance ou sa durabilité. D'autre part, la reconnaissance des virus médiée par les NLR semble reposer principalement sur la liaison directe ou indirecte à des protéines virales telles que la protéine de capsid, la réplicase ou la protéine de mouvement (Gouveia *et al.*, 2017) (Figure 1). Dans certains cas, la protéine NLR peut aussi cibler un fragment de protéine virale ou une structure conservée chez cette protéine. Par exemple, la protéine Rx confère la résistance à plusieurs souches de potexvirus en reconnaissant un fragment de 90 acides aminés de la protéine de capsid.

Les gènes dominants caractérisés à ce jour dans la résistance aux virus codent pour des protéines intracellulaires. Ceci est cohérent avec le cycle principalement intracellulaire des virus dans la plante. Cependant, plusieurs études récentes semblent indiquer un rôle de récepteurs extracellulaires dit PRR (« Pattern Recognition Receptor » ou récepteur capable de reconnaître un motif moléculaire particulier) dans l'immunité virale (cf. chapitre 1). Ainsi, des plantes d'*Arabidopsis thaliana* exprimant une version mutée de BAK-1, un récepteur de type PRR, présentent une sensibilité accrue à trois virus à ARN non apparentés. Une hypothèse est que les PRR participeraient à la perception d'une molécule dérivée de l'infection virale plutôt que d'une protéine constitutive des particules virales (Korner *et al.*, 2013). En outre, il a été démontré que des ARN double brins (ARNdb) purifiés à partir de plantes infectées par un tobamovirus sont capables d'induire des réponses de défense chez *A. thaliana* et *N. benthamiana* d'une manière dépendante du récepteur extracellulaire SERK1. Ceci suggère que les ARNdb peuvent être considérés comme des molécules de type PAMP (Pathogen-Associated Molecular Patterns ou motifs moléculaires associés aux agents pathogènes) reconnues par les PRR (Figure 1). Finalement, il a été observé que la protéine de capsid du *Plum pox virus* (PPV), la protéine de mouvement du *Cucumber mosaic virus* (CMV) et la protéine multifonctionnelle P6 du *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) sont capables de supprimer les réponses de résistance induites par des PRR, ce qui constitue une autre indication que la résistance induite par les récepteurs extracellulaires jouerait un rôle dans la résistance aux virus (pour revue voir Nicaise, 2017). Enfin, plusieurs gènes dominants de résistance totalement différents des récepteurs intra- ou extracellulaires décrits ci-dessus jouent un rôle important dans la résistance aux virus. Chez *A. thaliana*, trois gènes appelés *RTM* contrôlent le mouvement au sein de la plante de

plusieurs potyvirus et agiraient sous la forme d'un complexe multiprotéique (Cosson *et al.*, 2010), mais les mécanismes sous-jacents sont encore inconnus (Figure 1). Le gène *Tm-1* de la tomate, capable d'inhiber la multiplication du *Tomato mosaic virus* (ToMV) sans déclencher de réponse typique de défense des plantes telle que l'accumulation de ROS (reactive oxygen species ; espèces chimiques réactives de l'oxygène, à très forte activité oxydante) ou la signalisation hormonale, représente un autre type de gène dominant de résistance. Les analyses fonctionnelles ont montré que la protéine codée par *Tm-1* est capable d'inhiber la formation du complexe de réplication du ToMV en se liant directement au domaine hélicase de la réplicase, comme cela a été observé pour certaines protéines NLR (Ishibashi *et al.*, 2014).

1.2 Résistances récessives : des résistances par perte de sensibilité

Les résistances récessives sont fréquemment impliquées dans la résistance aux maladies virales. Il a été rapidement supposé que ces résistances reposeraient sur l'impossibilité pour l'agent pathogène de recruter un facteur de la plante hôte nécessaire à l'accomplissement de son cycle infectieux (Figure 1). Les virus ayant un génome très réduit, ils sont d'autant plus dépendants de leur plante hôte pour accomplir les grandes fonctions de leur cycle infectieux. Ceci explique que les résistances récessives soient plus fréquentes vis-à-vis des virus que vis-à-vis des autres agents pathogènes et qu'elles soient plus diverses et spécifiques du type d'agent pathogène considéré que les résistances dominantes.

Les résistances récessives ont initialement été sélectionnées chez les plantes d'intérêt agronomique ou au sein de plantes sauvages apparentées au cours des différents processus de domestication des plantes. Par exemple, de nombreux allèles de résistance aux virus à ARN tels que les potyvirus ont été identifiés parmi les accessions cultivées de piment. Ainsi, plus de 30 allèles au locus *pvr2* sont associés à des spectres de résistance plus aux moins larges vis à vis des isolats de *Potato virus Y* (PVY) et de *Tobacco etch virus* (TEV). Par la conjonction de plusieurs approches (interactions protéine-protéine, analyse de mutants chez la plante modèle *A. thaliana*, approche gène candidat), il a été montré depuis le début des années 2000 qu'un grand nombre de résistances aux virus à ARN intégrées dans les schémas de sélection d'espèces aussi diverses que la tomate, la laitue, le melon, l'orge ou le riz, reposait sur des gènes codant pour les facteurs d'initiation de la traduction eIF4E, eIFiso4E ou eIFiso4G (Robaglia and Caranta, 2006). Des mutations d'acides aminés dans des régions spécifiques de ces protéines permettent à la plante d'éviter leur recrutement par le virus sans affecter leur fonctionnement pour la synthèse des protéines végétales. Cependant, le fait que les facteurs d'initiation de la traduction soient codés par de petites familles multigéniques (de 2 à 5 gènes chez les plantes) a un impact sur les spectres d'action des résistances vis-à-vis des virus. En effet, ces derniers peuvent parfois recruter plusieurs facteurs de sensibilité, ce qui peut réduire le spectre de ces résistances et compromettre leur durabilité (cf. chapitre X). Les progrès biotechnologiques (recherche d'allèles dans des banques de données génomique,

mutagenèse, édition de génome) ont permis d'améliorer les stratégies d'utilisation des résistances par perte de sensibilité chez les plantes et d'en montrer les limites (Schmitt-Keichinger, 2019). Alors qu'il semble logique de générer de telles résistances en éliminant un facteur de la plante nécessaire au virus, cette approche peut se révéler peu efficace du fait de la présence de plusieurs facteurs dans les plantes et de l'importance de l'initiation de la traduction dans la physiologie de la cellule végétale. Ainsi, l'inactivation de facteurs eIF4E est parfois associée à des phénotypes défavorables en termes de développement voire à une létalité chez la plante. En conclusion, il semble que le meilleur moyen de générer des résistances efficaces, durables et compatibles avec l'amélioration des plantes soit en imitant des allèles *eIF4E* issues de la sélection naturelle et présentant des substitutions d'acides aminés (Bastet *et al.*, 2017) (voir chapitre 12).

En dehors des résistances médiées par les facteurs d'initiation de la traduction, peu de gènes de résistance récessive ont été identifiés par clonage positionnel dans la diversité naturelle des plantes cultivées. C'est le cas du gène *rym11* déployé depuis longtemps chez l'orge pour contrôler de nombreux isolats viraux du genre *Bymovirus*. Ce gène code pour un membre de la famille des Protéines Disulfure Isomérasés (PDI). Une mutation dans ce gène est responsable de la résistance dont le mécanisme exact est peu connu. Une hypothèse est que les PDI, des protéines chaperons, interviendraient dans la réplication et le mouvement de virus à ARN chez les plantes (Yang *et al.*, 2014). Chez le melon, le gène récessif *cmv1* confère la résistance à certains isolats de *Cucumber mosaic virus* (CMV) et code pour une protéine nommée « Vacuolar Protein Sorting 41 » (VPS41) impliquée dans le trafic intracellulaire. Dans les cultivars de melon résistants où la protéine VPS41 est mutée, le mouvement à longue distance du CMV est altéré : le virus n'est pas chargé dans le phloème et ne se propage pas dans le reste de la plante (Giner *et al.*, 2017). Enfin, chez le riz africain (*O. glaberrima*), le gène *rymv2* qui contrôle la résistance au *Rice yellow mottle virus* (RYMV) du genre *Sobemovirus* est le seul exemple à ce jour d'un gène récessif de résistance codant pour un inhibiteur de la défense des plantes vis-à-vis de virus (Orjuela *et al.*, 2013). Au-delà des plantes cultivées, parmi les gènes récessifs de résistance disponibles dans la diversité naturelle de la plante modèle *A. thaliana*, le gène *rwm1* code pour une protéine phosphoglycérate kinase chloroplastique (cPGK) qui interviendrait dans la réplication des virus à ARN (Ouibrahim *et al.*, 2014, Prasanth *et al.*, 2017).

Des gènes codant pour des facteurs de sensibilité aux virus ont également été identifiés après criblage de populations de plantes mutées d'*A. thaliana*. Cette méthode de génétique directe a permis d'identifier le gène *EXA1* (« *essential for potexvirus accumulation1* ») impliqué dans la traduction des protéines virales (Yusa *et al.*, 2019). La même approche a permis de montrer que des protéines transmembranaires (TOM1, TOM2 et TOM3) sont recrutées par des virus du genre *Tobamovirus* pour la formation des complexes de réplication virale (Ishibashi and Ishikawa, 2016).

D'autres gènes codant pour des facteurs de sensibilité ont été identifiés grâce à la recherche de partenaires protéiques interagissant avec des protéines virales appâts, ou après piégeage de complexes protéiques associés à une protéine virale étiquetée (« pull-down ») et identification des protéines précipitées par spectrométrie de masse. Pour conclure sur un rôle biologique des interactions observées, ces approches doivent être complétées par une validation fonctionnelle basée sur l'analyse du phénotype de l'infection de plantes mutées pour ces gènes candidats (mutants « perte de fonction ») ou au contraire qui surexpriment cette protéine (mutants « gain de fonction »). Ainsi, en utilisant comme appâts des protéines virales impliquées dans la réplication, des facteurs clés pour la traduction ou la réplication des potyvirus ont été identifiés, en particulier, des facteurs impliqués dans le trafic intracellulaire et/ou la formation de vésicules de réplication dérivées du réticulum endoplasmique (Hashimoto *et al.*, 2016). Pour passer de cellule à cellule puis gagner les vaisseaux conducteurs de la sève afin de se propager dans la plante entière (infection systémique), les virus exploitent les plasmodesmes (PD) des « canaux » qui relient les cellules entre elles et créent ainsi un continuum cytoplasmique. Ce mouvement nécessite des protéines virales de mouvement (MP) capables de modifier les PD et permettre le passage du virus sous forme encapsidée ou de complexes ribonucléoprotéiques. La recherche de partenaires protéiques interagissant avec des protéines virales de mouvement a permis d'identifier de nombreuses protéines dont certaines sont localisées au niveau des PD (Garcia-Ruiz, 2018). Ainsi la protéine Plasmodesmata localized protein 1 (PDLP1) interagit avec la MP du *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) et permet l'assemblage d'une structure tubulaire au niveau des PD permettant le passage de particules virales. Pour les potyvirus, la protéine membranaire Plasma membrane-associated Cation-Binding Protein 1 (PCaP1) permettrait l'adressage de MP virales aux PD. La synaptotagmine (SYTA) a été identifiée comme partenaire de la MP d'un tobamovirus et d'un begomovirus. Cette protéine est un « senseur calcique » qui régule le trafic des vésicules d'endo- et d'exocytose. Dans des mutants d'*A. thaliana* affectés dans l'expression de la protéine SYTA, non seulement l'infection systémique par les tobamovirus et begomovirus est retardée, mais aussi celle des potyvirus (Garcia-Ruiz, 2018). Les MP de plusieurs genres viraux seraient dirigées vers les vésicules intracellulaires via leur interaction avec la protéine SYTA et ces vésicules seraient ensuite acheminées vers les PD. Dans la plupart des études citées précédemment, les mutants d'*A. thaliana* ont un développement normal mais l'infection virale est fortement retardée. Bien que non exhaustive (pour revue, voir Garcia-Ruiz, 2018), la liste des facteurs de sensibilité donnée ci-dessus révèle la diversité des facteurs impliqués dans les différentes étapes du cycle viral et permet d'élargir le portefeuille de facteurs disponibles pour développer des résistances durables.

2. LE RNA SILENCING : VOIE DE DEFENSE ANTIVIRALE MAJEURE

Le mécanisme du RNA silencing ou interférence par l'ARN (RNAi), joue un rôle majeur dans la régulation épigénétique de l'expression des gènes ainsi que dans l'inactivation de séquences

mobiles du génome (transposons) et des séquences virales intégrées. Ce mécanisme joue aussi un rôle clef dans la défense antivirale chez les plantes, champignons, nématodes et insectes (Pooggin 2018). Le mécanisme de RNAi est déclenché suite à la reconnaissance d'ARNdb par la plante, qui initie des réactions aboutissant à la dégradation de toutes les molécules d'ARN dont la séquence est suffisamment proche de celle de ces ARNdb. Les ARNdb sont tout d'abord reconnus par une RNase de type III (membre de la famille des protéines Dicer-like ou DCL) qui les clive en petits ARN double-brin appelés siRNA (small interfering RNA) de 21-24 nucléotides. Ces siRNAs sont ensuite pris en charge par un complexe enzymatique dénommé RISC (RNA-Induced Silencing Complex) porteur d'une activité endonucléase appartenant à la famille des protéines Argonaute (AGO). Un seul des deux brins des siRNAs (le brin guide) reste associé au complexe et va s'hybrider à l'ARN cible possédant une séquence complémentaire. Selon la nature du complexe RISC impliqué, cette reconnaissance entraîne soit une répression post-transcriptionnelle de l'expression du gène (par clivage et dégradation de l'ARN), soit une répression transcriptionnelle par méthylation de l'ADN (Borges and Martienssen, 2015) (Figure 1).

Au cours d'une infection virale, des molécules d'ARNdb sont produites et proviennent soit des formes de réplication des virus à ARN simple brin, soit d'ARNdb formés par l'appariement intermoléculaire entre les transcrits sens et antisens produits durant la transcription du génome des virus à ADN. Les siRNA de 21, 22 et 24 nucléotides qui sont produits après le clivage de ces ARNdb par les DCL (DCL4, DCL2 et DCL3, respectivement) sont appelés siRNA primaires. Le mécanisme de RNAi induit au départ par les siRNA primaires est maintenu et amplifié grâce à l'action de polymérases de plantes capables de synthétiser de nouveaux ARNdb à partir de l'ARN ciblé par les siRNA primaires. Ces nouveaux ARNdb sont les précurseurs des siRNA dits secondaires. Ces derniers, moins abondants que les siRNA primaires, jouent un rôle clef dans la propagation du RNA silencing, qui une fois activé localement, se généralise à la plante entière au moyen des siRNA qui ont la capacité de se propager en systémique en empruntant les plasmodesmes et les vaisseaux conducteurs de la sève (Pooggin, 2018). Dans une stratégie de contre-attaque, la majorité des virus codent pour des suppresseurs du RNA silencing, des protéines très variées en termes de séquence, de structure et de stratégie permettant d'inhiber le RNA silencing (Csorba *et al.*, 2015). Ainsi la protéine P19 des tombusvirus et la protéine HC-Pro (helper component proteinase) des potyvirus sont capables de séquestrer les siRNAs, empêchant leur incorporation dans le complexe RISC. D'autres inhibiteurs de RNA silencing telles que la protéine P25 des potexvirus ou la protéine P0 des polerovirus entraînent directement la dégradation de la protéine AGO1 via les voies du protéasome ou de l'autophagie. D'autres virus sont capables d'interférer avec l'activité des protéines DCL ou RISC. Cette grande diversité de stratégies d'inhibition du RNA silencing par les virus illustre un phénomène de convergence évolutive. Les protéines virales inhibitrices du RNA silencing (par exemple, la

P6 du CaMV) peuvent également contrecarrer des réactions de défense de la plante (cf. §1.1) (Pooggin and Ryabova, 2018). Au-delà des siRNAs, une autre classe de petits ARNs non codants a été identifiée chez les plantes : il s'agit des microRNA (miRNA) qui sont produits par DCL1 à partir des structures d'ARNdb de transcrits endogènes, qui guident le clivage et/ou la répression traductionnelle d'ARNm endogènes. Les miRNA régulent ainsi le développement des plantes et sont impliqués dans la réponse des plantes aux stress biotiques et abiotiques. De manière intéressante, de nombreux gènes NLR sont également régulés par des miRNA, afin de limiter les coûts associés à des mécanismes de défense excessifs. Ces mécanismes de régulation peuvent être également inhibés par des effecteurs viraux (Pooggin, 2017).

3. LES RESISTANCES QUANTITATIVES

De nombreuses résistances aux virus sont quantitatives, c'est-à-dire qu'elles réduisent seulement partiellement l'infection des plantes par le virus. De plus, les descendances de plantes issues du croisement entre le géniteur de résistance et une variété sensible présentent une distribution continue du phénotype s'étalant d'une forte sensibilité à une forte résistance au virus. Cette distribution continue témoigne du caractère polygénique de telles résistances. Ces résistances peuvent correspondre à un taux réduit d'infection chez les plantes inoculées, à un temps de latence ou d'incubation prolongé, à une charge virale réduite dans la plante ou à des symptômes moins intenses ou retardés. Dans le cas où les symptômes sont réduits, il est important de distinguer résistance quantitative et tolérance (cf. §4). Des méthodes de quantification du virus dans les plantes par test ELISA ou PCR sont fréquemment nécessaires pour révéler ces résistances. Du fait de leur caractère polygénique et partiel, ces résistances sont plus difficiles à exploiter par les sélectionneurs que les résistances qualitatives. De ce fait, elles ont été surtout étudiées dans les cas où aucune résistance qualitative n'était disponible. Par exemple, en combinant chez le piment plusieurs sources de résistance partielle au CMV agissant à différentes étapes du cycle infectieux (inoculation, multiplication, migration dans la plante), un programme de sélection récurrente a permis d'obtenir une résistance de très haut niveau. Les cartes de marqueurs génétiques développées chez de nombreuses espèces de plantes et les méthodes de cartographie de QTL (Quantitative Trait Loci ou loci à effet quantitatif) ont permis d'identifier les bases génétiques de ce type de résistance et de développer des méthodes efficaces de sélection assistée par marqueurs, facilitant leur exploitation pour la création variétale. Les premières cartographies de QTL ont utilisé des populations biparentales de plantes : populations F₂, RIL (Recombinant Inbred Lines ou lignées recombinantes) ou lignées HD (haploïdes doublées). Depuis 2014, l'obtention de cartes à haute densité de marqueurs a été rendue possible par le développement des méthodes de séquençage à haut débit. Grâce à ces cartes, des cartographies de QTL par GWAS (Genome-Wide Association Studies ou études d'association sur l'ensemble du génome) sont réalisables à partir de collections diversifiées de génotypes de plantes. La méthode de GWAS permet en

général d'obtenir une meilleure précision de cartographie des QTL que les populations biparentales. Ces études ont révélé (i) que la plupart des résistances partielles étudiées impliquaient de 2 à 10 QTL, (ii) que la majorité des QTL de résistance avaient des effets additifs sur le phénotype de résistance, (iii) que les effets d'épistasie entre QTL étaient fréquents bien que plus rares que les effets additifs et (iv) que le parent sensible utilisé pour générer les descendances étudiées était fréquemment porteur d'allèles bénéfiques pour la résistance au niveau de certains QTL. Ce dernier constat explique pourquoi les transgressions phénotypiques, c'est-à-dire l'existence d'individus plus sensibles ou plus résistants que les parents croisés pour réaliser les descendances étudiées, sont fréquentes. Ces individus peuvent en effet combiner les allèles favorables (ou défavorables) de QTL issus des deux plantes parentales. En termes de mécanisme, très peu de QTL de résistance aux virus ont pu être identifiés, notamment du fait de l'imprécision de leur localisation dans le génome de la plante et de leur effet individuel relativement faible sur le phénotype de résistance. Dans certains cas, il peut s'agir d'allèles particuliers de gènes majeurs de résistance ayant un effet partiel ou bien étant facilement contournés, comme l'allèle *pvr2³* qui code pour un facteur eIF4E et confère une résistance à plusieurs potyvirus chez le piment (Caranta *et al.*, 1997). Fréquemment observée, la colocalisation dans le génome de la plante entre QTL et gènes majeurs de résistance suggère que ces QTL correspondent à des allèles particuliers de gènes majeurs. Ceci a été observé dans le cas du gène *RTM3* impliqué dans le mouvement à longue distance de plusieurs potyvirus chez *A. thaliana* et l'abricotier (Cosson *et al.*, 2010; Pagny *et al.*, 2012; Rubio *et al.*, 2019) ou du gène *pvr6* codant pour eIFiso4E (isoforme d'eIF4E) chez le piment (Quenouille *et al.*, 2014; Ruffel *et al.*, 2006). Enfin, certains QTL appartiennent à de nouveaux types de gènes de résistance pour lesquels aucun équivalent n'a été trouvé dans le cas de gènes majeurs de résistance, comme le gène *STV11* chez le riz qui code pour une sulfotransférase qui catalyse la conversion de l'acide salicylique (AS) en AS sulfoné, ce dernier étant plus efficace pour réduire l'accumulation du RSV (*Rice stripe virus*) dans les plantes (Wang *et al.*, 2014).

4. LA TOLERANCE

Alors que la résistance (complète ou quantitative) se traduit en général par une diminution de la quantité de parasites dans son hôte, la tolérance réduit les dommages infligés par le parasite à son hôte, indépendamment de sa charge en parasite (Råberg *et al.*, 2007). La tolérance aux virus est fréquente chez les plantes. En effet, les plantes infectées par des virus meurent rarement du fait de ces infections. De plus, il n'y a souvent pas de lien entre la concentration en virus chez les plantes virosées et les dommages induits aux plantes par ces virus (Froissart *et al.*, 2010). Cependant, ce type de mécanisme a été très peu étudié et très peu exploité par les sélectionneurs pour lutter contre les maladies virales ou autres. Seul le gène *Zym* de tolérance de la courgette au ZYMV (*Zucchini yellow mosaic virus*) est exploité

agronomiquement. Chez les variétés porteuses du gène *Zym*, le virus s'accumule autant que dans les autres variétés mais les symptômes sont très faibles et ni la production ni la qualité des courgettes ne sont affectées. Ce gène n'a pas été identifié au niveau moléculaire. En conditions contrôlées, le ZYMV peut évoluer très rapidement pour "contourner" cette tolérance, induisant des symptômes sévères chez les variétés porteuses de *Zym*. Cependant, ces souches mutantes de ZYMV sont moins compétitives, ce qui rend ce gène durable en conditions de culture. Certaines résistances s'exprimant par des réactions d'hypersensibilité, souvent dues à des gènes codant pour des NLR, peuvent ne pas suffire à empêcher l'infection systémique des plantes par le virus, ce qui se traduit par une nécrose généralisée et parfois la mort de la plante. Des allèles non fonctionnels de ces gènes, empêchant l'expression de la nécrose mais pas l'infection de la plante par le virus, peuvent également être considérés comme des allèles de tolérance (Michel *et al.*, 2018). Néanmoins, le principal reproche fait aux plantes tolérantes est qu'elles peuvent héberger de fortes quantités de virus et être sources d'épidémies graves chez des variétés qui ne sont pas tolérantes.

Conclusion : comment obtenir des résistances aux virus qui soient plus durables ?

L'intérêt comparé des QTL et des gènes majeurs de résistance en termes de durabilité reste une question ouverte du fait de la rareté des études consacrées à l'adaptation des virus aux résistances quantitatives. Cependant, l'ajout de QTL à un gène majeur de résistance au sein d'une même variété cultivée semble une voie prometteuse pour prolonger la durabilité de ce dernier (Palloix *et al.* 2009). De plus, la combinaison de gènes de résistances dominants et récessifs peut aboutir à une plus forte durabilité (Gallois *et al.*, 2018; Miyashita *et al.*, 2016). Des niveaux élevés de résistance et même une immunité antivirale complète peuvent également être atteints grâce à la surexpression des siRNA apparentés à un génome viral (Pooggin 2017). Enfin, pour limiter l'apparition et la sélection de mutants viraux capables de contourner les résistances basées sur une perte de sensibilité, une stratégie consiste à modifier au sein d'une même plante des facteurs qui sont exploités par le virus pour accomplir différentes étapes de son cycle (réplication/traduction, mouvement dans la plante, transmission par vecteur..), accumulant ainsi les obstacles opposés à l'infection virale (Figure 2).

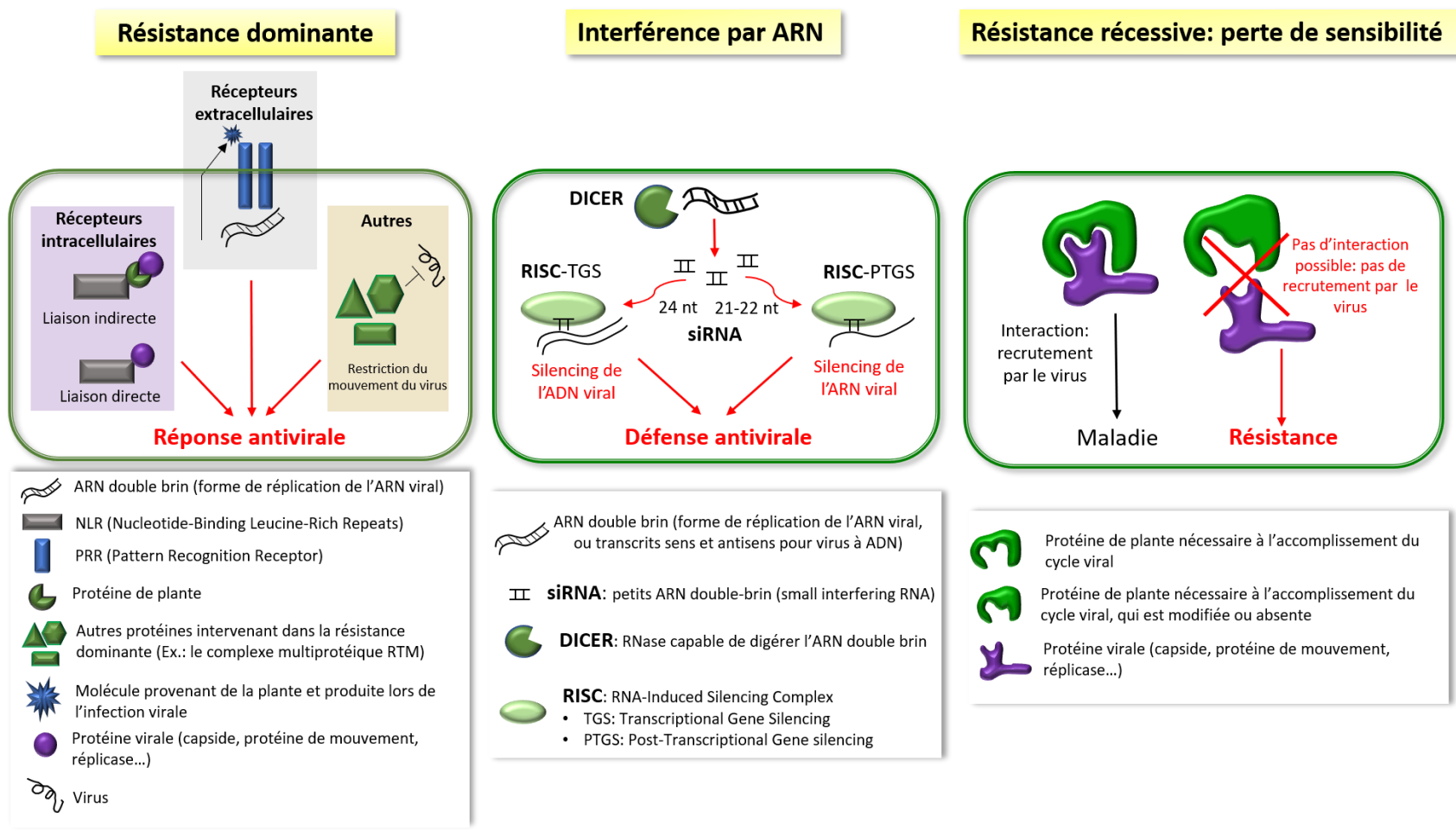


Figure 1

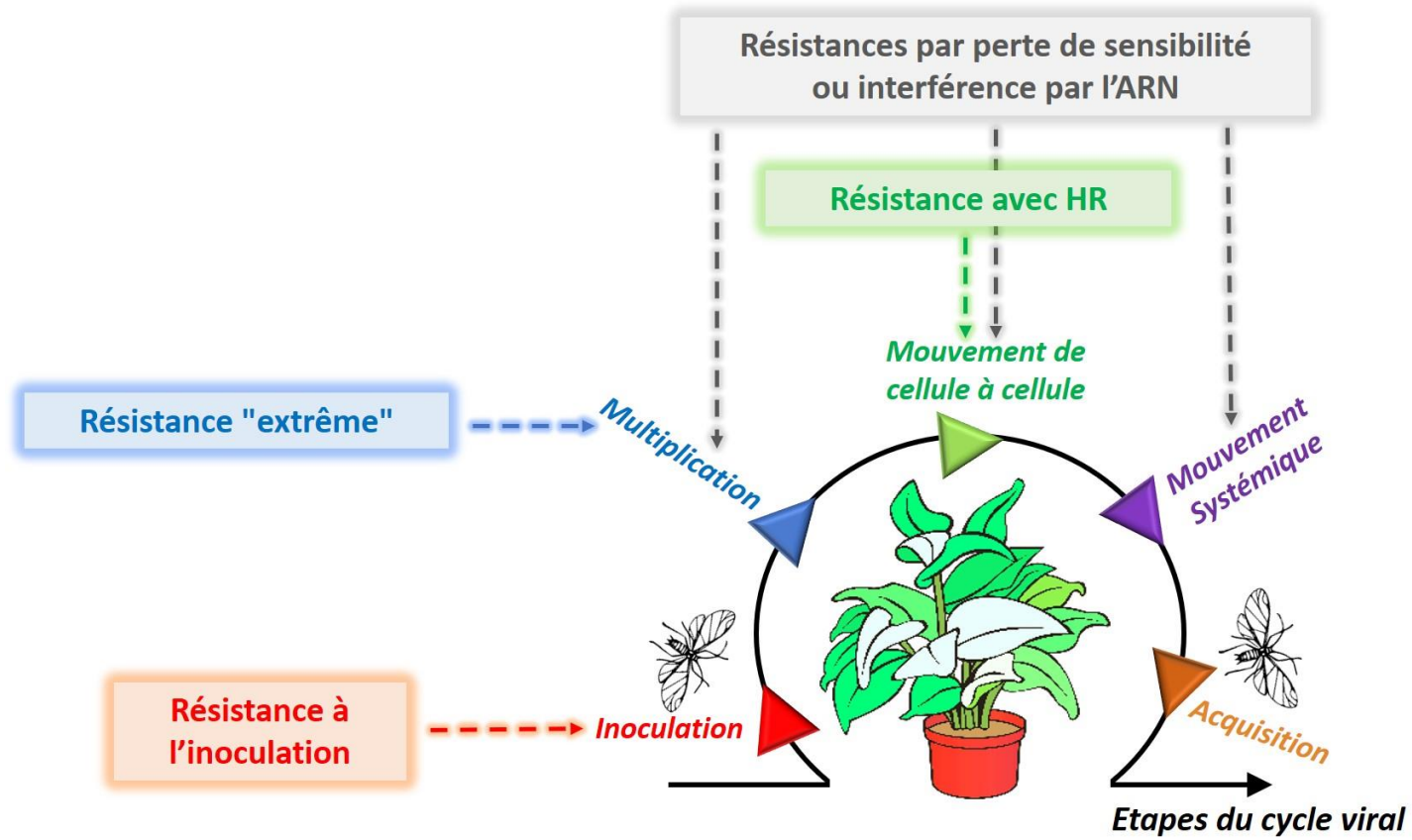


Figure 2

Légendes des Figures

Figure 1. Principaux mécanismes moléculaires de défense des plantes vis-à-vis des virus. Panel de gauche : mécanismes gouvernés par des gènes dominants de résistance. Il s'agit d'un processus actif basé sur la reconnaissance de protéines virales soit par des récepteurs induisant des réactions de défense soit par des protéines de plantes qui inactivent les protéines virales. Panel central : mécanisme de RNA-silencing déclenché par la présence d'ARN double-brin (ARNdb) d'origine virale (intermédiaires de réplication pour les virus à ARN, structures secondaires intramoléculaires en forme de tige-boucle ou encore d'appariements entre transcrits sens et antisens pour les virus à ADN). Les protéines Dicer-like (DCL) coupent les ARNdb en siRNA de 21-24 nucléotides de longueur. Seul l'un des deux brins des siRNA est incorporé au complexe RISC où il sert de guide pour diriger le clivage séquence-spécifique des ARN viraux. Panel de droite : l'absence ou la mutation d'un facteur essentiel au virus entraîne une résistance passive de la plante correspondant à une perte de sensibilité qui se traduit par une résistance à déterminisme génétique récessif.

Figure 2. Etapes principales du cycle infectieux d'un virus dans une plante hôte et types de résistances ciblant ces étapes. Les résistances à l'inoculation par un insecte vecteur, "extrêmes" ou associées à des HR, peuvent être basées sur des protéines NLR. Chaque étape peut être ciblée par des résistances quantitatives. Mouvement en systémie : après mouvement de cellule à cellule via les plasmodesmes dans la feuille inoculée, les virus sont chargés dans les vaisseaux conducteurs de la plante, puis sont transportés dans la sève élaborée jusqu'aux feuilles non inoculées.

Glossaire

RNA silencing : Appelé aussi « interférence par l'ARN », mécanisme de défense vis-à-vis d'ARN exogène opéré par de petites molécules d'ARN qui inhibent l'expression de gènes via des interactions séquence-spécifiques.

Autophagie : Forme de nettoyage cellulaire qui permet de dégrader des protéines et des organites (mitochondries par exemple) pour protéger la cellule en cas de stress.

Effets d'épistasie : Cas où l'effet individuel des allèles de plusieurs gènes sur le phénotype ne s'additionne pas lorsque ces allèles sont combinés. Autrement dit, l'effet d'un allèle dépend de la présence ou de l'absence d'allèles présents à d'autres locus.

Effets additifs : Cas où l'effet individuel des allèles de plusieurs gènes sur le phénotype s'additionne lorsque ces allèles sont combinés. Autrement dit, l'effet d'un allèle ne dépend pas de la présence ou de l'absence des allèles présents à d'autres locus.

Gène majeur de résistance : Gène qui a un effet majeur sur le phénotype.

Genome-Wide Association Studies (GWAS) : Etudes d'association génétique « génome entier », basées sur l'analyse de nombreuses variations génétiques chez de nombreux individus, afin d'étudier leurs corrélations avec des traits phénotypiques (caractères étudiés).

Lignées haploïdes doublées : Lignées dérivées d'une plante haploïde (ne possédant qu'une copie de chaque chromosome) dont le stock de chromosomes a été doublé par traitement chimique. De ce fait, elle est parfaitement homozygote.

Lignées recombinantes : Collections de lignées fortement consanguines, obtenues après croisement de deux lignées pures génétiquement différentes puis en effectuant une série d'autofécondations (single seed descent) afin d'atteindre un fort niveau d'homozygotie.

Marqueur génétique : Séquence d'ADN variable selon les individus mais dont la localisation est connue.

Plasmodesmes (PD) : Canaux intercellulaires reliant deux cellules voisines.

Polygénique : Caractère qui dépend de plusieurs gènes.

Protéasome : Machinerie cellulaire sophistiquée qui joue un rôle clef dans l'élimination des protéines, dont les protéines mal conformées ou non fonctionnelles.

Protéine chaperon : Aide au repliement moléculaire correct d'autres protéines, ce qui permet d'éviter la formation d'agrégats

Protéine de mouvement (MP) : Ni les particules virales, ni les acides nucléiques viraux natifs ne peuvent passer passivement d'une cellule à l'autre à travers les plasmodesmes. Ce mouvement implique la participation d'une ou plusieurs protéines spécialisées (protéines de

mouvement ou MP) qui sont en particulier capables de se fixer à l'acide nucléique viral et de dilater les plasmodesmes.

Protéines de capsid (CP) : Protéines virales capables de s'auto-assembler pour former la structure des capsides qui protègent l'acide nucléique viral à l'intérieur du virion (particule virale).

QTL : Quantitative Trait Locus : région chromosomique où sont localisés un ou plusieurs gènes à l'origine d'un caractère phénotypique.

Réaction d'hypersensibilité (HR) : phénomène rapide de mort cellulaire liée à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), d'acide salicylique (SA) et à l'expression de gènes de défense.

Réplicase : protéine virale essentielle, dont le rôle est de copier le génome du virus. Pour les virus dont le génome est un ARN, la réplicase est une ARN polymérase ARN dépendante.

Résistance dominante : Résistance fonctionnelle lorsque le(s) gène(s) responsable(s) est (sont) à l'état hétérozygote suite au croisement avec une variété sensible.

Résistance récessive : Résistance fonctionnelle uniquement lorsque le(s) gène(s) responsable(s) est (sont) à l'état homozygote suite au croisement avec une variété sensible.

Résistance partielle : nommée résistance quantitative, elle conduit à une réduction de la maladie ciblée.

Résistance qualitative : ou résistance totale, elle engendre une absence de maladie.

Références

- Bastet, A., Robaglia, C. and Gallois, J.-L.** (2017) eIF4E Resistance: Natural Variation Should Guide Gene Editing. *Trends Plant Sci.* **22**, 411–419.
- Borges, F. and Martienssen, R.A.** (2015) The expanding world of small RNAs in plants. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **16**, 727–741.
- Caranta, C., Lefebvre, V. and Palloix, A.** (1997) Polygenic Resistance of Pepper to Potyviruses Consists of a Combination of Isolate-Specific and Broad-Spectrum Quantitative Trait Loci. *Mol. Plant. Microbe Interact.* **10**, 872–878.
- Cosson, P., Sofer, L., Hien Le, Q., et al.** (2010) RTM3, Which Controls Long-Distance Movement of Potyviruses, Is a Member of a New Plant Gene Family Encoding a Meprin and TRAF Homology Domain-Containing Protein. *PLANT Physiol.* **154**, 222–232.
- Csorba, T., Kontra, L. and Burgyán, J.** (2015) viral silencing suppressors: Tools forged to fine-tune host-pathogen coexistence. *Virology* **479–480**, 85–103.
- Froissart, R., Doumayrou, J., Vuillaume, F., Alizon, S. and Michalakakis, Y.** (2010) The virulence–transmission trade-off in vector-borne plant viruses: a review of (non-)existing studies. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **365**, 1907–1918.
- Gallois, J.-L., Moury, B. and German-Retana, S.** (2018) Role of the Genetic Background in Resistance to Plant Viruses. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 2856.
- Garcia-Ruiz, H.** (2018) Susceptibility Genes to Plant Viruses. *Viruses* **10**, 484.
- Giner, A., Pascual, L., Bourgeois, M., et al.** (2017) A mutation in the melon Vacuolar Protein Sorting 41 prevents systemic infection of Cucumber mosaic virus. *Sci. Rep.* **7**, 10471.
- Gouveia, B.C., Calil, I.P., Machado, J.P.B., Santos, A.A. and Fontes, E.P.B.** (2017) Immune Receptors and Co-receptors in Antiviral Innate Immunity in Plants. *Front. Microbiol.* **7**.
- Hashimoto, M., Neriya, Y., Yamaji, Y. and Namba, S.** (2016) Recessive Resistance to Plant Viruses: Potential Resistance Genes Beyond Translation Initiation Factors. *Front. Microbiol.* **7**.
- Hull, Roger** (2013) *Plant Virology*, Academic Press. New York, NY, USA.
- Ishibashi, K. and Ishikawa, M.** (2016) Replication of Tobamovirus RNA. *Annu. Rev. Phytopathol.* **54**, 55–78.
- Ishibashi, K., Kezuka, Y., Kobayashi, C., Kato, M., Inoue, T., Nonaka, T., Ishikawa, M., Matsumura, H. and Katoh, E.** (2014) Structural basis for the recognition-evasion arms race between Tomato mosaic virus and the resistance gene Tm-1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **111**, E3486–E3495.
- Korner, J.C., Klauser, D., Niehl, A., Domínguez-Ferreras, A., Chinchilla, D., Boller, T., Heinlein, M. and Hann, D.R.** (2013) The immunity regulator BAK1 contributes to resistance against diverse RNA viruses. *Mol. Plant. Microbe Interact.* **26**, 1271–1280.
- Michel, V., Julio, E., Candresse, T., Cotucheau, J. Decorps, C., Volpatti, R., Moury, B., Glais, L., Jacquot, E., Dorlhac de Borne, F., Decroocq, V., Gallois, J. and German**

- Retana, S.** (2018) *NtTPN1*: a *RPP8*-like *R* gene required for *Potato virus Y*-induced veinal necrosis in tobacco. *Plant J.* **95**, 700–714.
- Miyashita, Y., Atsumi, G. and Nakahara, K.S.** (2016) Trade-Offs for Viruses in Overcoming Innate Immunities in Plants. *Mol. Plant. Microbe Interact.* **29**, 595–598.
- Nicaise, V.** (2017) Boosting innate immunity to sustainably control diseases in crops. *Curr. Opin. Virol.* **26**, 112–119.
- Orjuela, J., Deless, E.F.T., Kolade, O., Chéron, S., Ghesquière, A. and Albar, L.** (2013) A Recessive Resistance to *Rice yellow mottle virus* Is Associated with a Rice Homolog of the *CPR5* Gene, a Regulator of Active Defense Mechanisms. *Mol. Plant. Microbe Interact.* **26**, 1455–1463.
- Ouibrahim, L., Mazier, M., Estevan, J., Pagny, G., Decroocq, V., Desbiez, C., Moretti, A., Gallois, J.-L. and Caranta, C.** (2014) Cloning of the *Arabidopsis rwm1* gene for resistance to *Watermelon mosaic virus* points to a new function for natural virus resistance genes. *Plant J.* **79**, 705–716.
- Pagny, G., Paulstephenraj, P.S., Poque, S., et al.** (2012) Family-based linkage and association mapping reveals novel genes affecting *Plum pox virus* infection in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.* **196**, 873–886.
- Pooggin, M.M.** (2017) RNAi-mediated resistance to viruses: a critical assessment of methodologies. *Curr. Opin. Virol.* **26**, 28–35.
- Pooggin, M.M.** (2018) Small RNA-Omics for Plant Virus Identification, Virome Reconstruction, and Antiviral Defense Characterization. *Front. Microbiol.* **9**, 2779.
- Pooggin, M.M. and Ryabova, L.A.** (2018) Ribosome Shunting, Polycistronic Translation, and Evasion of Antiviral Defenses in Plant Pararetroviruses and Beyond. *Front. Microbiol.* **9**, 644.
- Prasanth, K.R., Chuang, C. and Nagy, P.D.** (2017) Co-opting ATP-generating glycolytic enzyme PGK1 phosphoglycerate kinase facilitates the assembly of viral replicase complexes Dinesh-Kumar, S.P., ed. *PLOS Pathog.* **13**, e1006689.
- Quenouille, J., Paulhiac, E., Moury, B. and Palloix, A.** (2014) Quantitative trait loci from the host genetic background modulate the durability of a resistance gene: a rational basis for sustainable resistance breeding in plants. *Heredity* **112**, 579–587.
- Robaglia, C. and Caranta, C.** (2006) Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection. *Trends Plant Sci.* **11**, 40–45.
- Råberg, L., Sim, D. and Read, A.F.** (2007) Disentangling Genetic Variation for Resistance and Tolerance to Infectious Diseases in Animals. *Science* **318**, 812–814.
- Rubio, B., Cosson, P., Caballero, M., Revers, F., Bergelson, J., Roux, F. and Schurdi-Levraud, V.** (2019) Genome-wide association study reveals new loci involved in *Arabidopsis thaliana* and *Turnip mosaic virus* (Tu MV) interactions in the field. *New Phytol.* **221**, 2026–2038.
- Ruffel, S., Gallois, J.-L., Moury, B., Robaglia, C., Palloix, A. and Caranta, C.** (2006) Simultaneous mutations in translation initiation factors eIF4E and eIF(iso)4E are required to prevent pepper veinal mottle virus infection of pepper. *J Gen Virol* **87**, 2089–2098.

- Schmitt-Keichinger, C.** (2019) Manipulating Cellular Factors to Combat Viruses: A Case Study From the Plant Eukaryotic Translation Initiation Factors eIF4. *Front. Microbiol.* **10**, 17.
- Wang, Q., Liu, Yuqiang, He, J., et al.** (2014) STV11 encodes a sulphotransferase and confers durable resistance to rice stripe virus. *Nat. Commun.* **5**, 4768.
- Yang, P., Lüpken, T., Habekuss, A., et al.** (2014) *PROTEIN DISULFIDE ISOMERASE LIKE 5-1* is a susceptibility factor to plant viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **111**, 2104–2109.
- Yusa, A., Neriya, Y., Hashimoto, M., et al.** (2019) Functional conservation of EXA1 among diverse plant species for the infection by a family of plant viruses. *Sci. Rep.* **9**, 5958.