

VIROLOGIE

Les virus des plantes et réaction des plantes

I. Les virus des plantes

1. Introduction
2. Transmission des virus
3. Infection totale de plante, ou limité ou inexistante
4. Les différents modes de transmission
 - a. Le mode non persistant
 - b. Le mode persistant
 - c. Le mode semi-persistant
5. Classement des maladies virales des végétaux

II. Réponses des plantes aux virus

1. Immunitaire à deux voix : système « zig-zag »
2. Phénomène de silencing post-transcriptionnel (PTGS)
3. Résistance : via « gène à gène » ou éliciteur-récepteur

I. Les virus des plantes

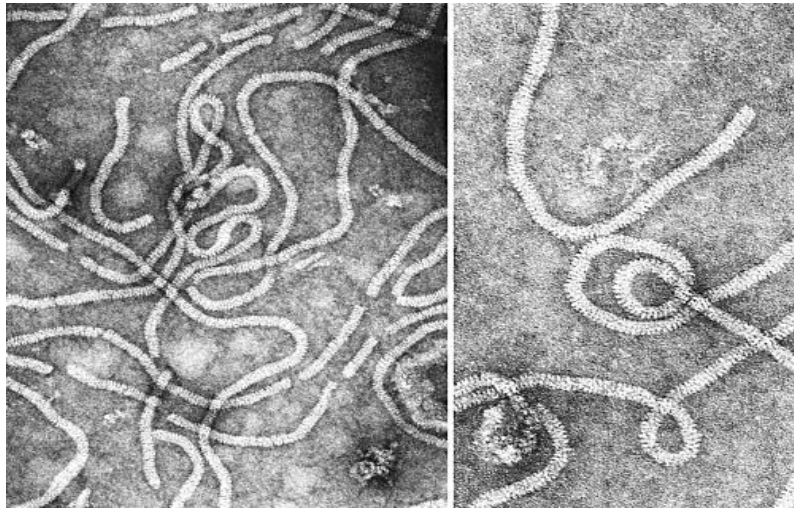
1. Introduction

Les virus provoquent de graves dommages sur les plantes cultivées et représentent une menace grave pour la sécurité alimentaire mondiale.

- **Structure des virus végétaux**

- ✓ ~identiques / virus bactériens, animaux
- ✓ beaucoup de virus à ARN...

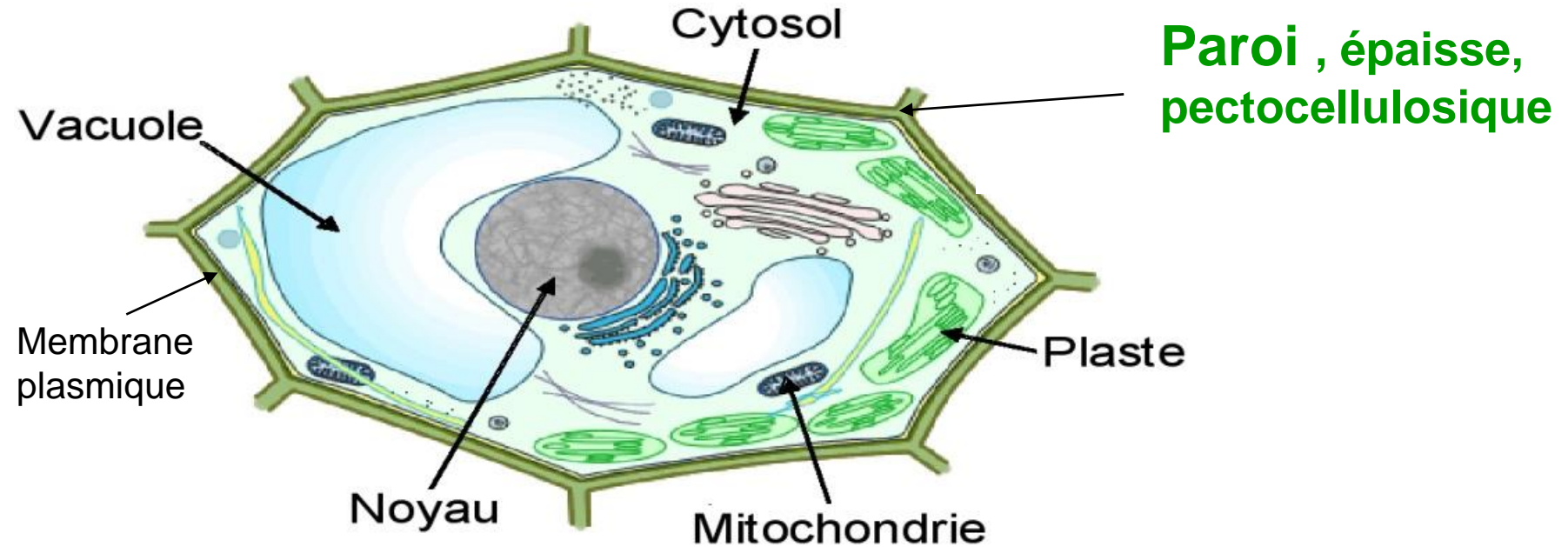
- **Souvent = longues hélices, flexibles**, très minces, avec **une capsid** (généralement un seul type de protéine)



Closterovirus

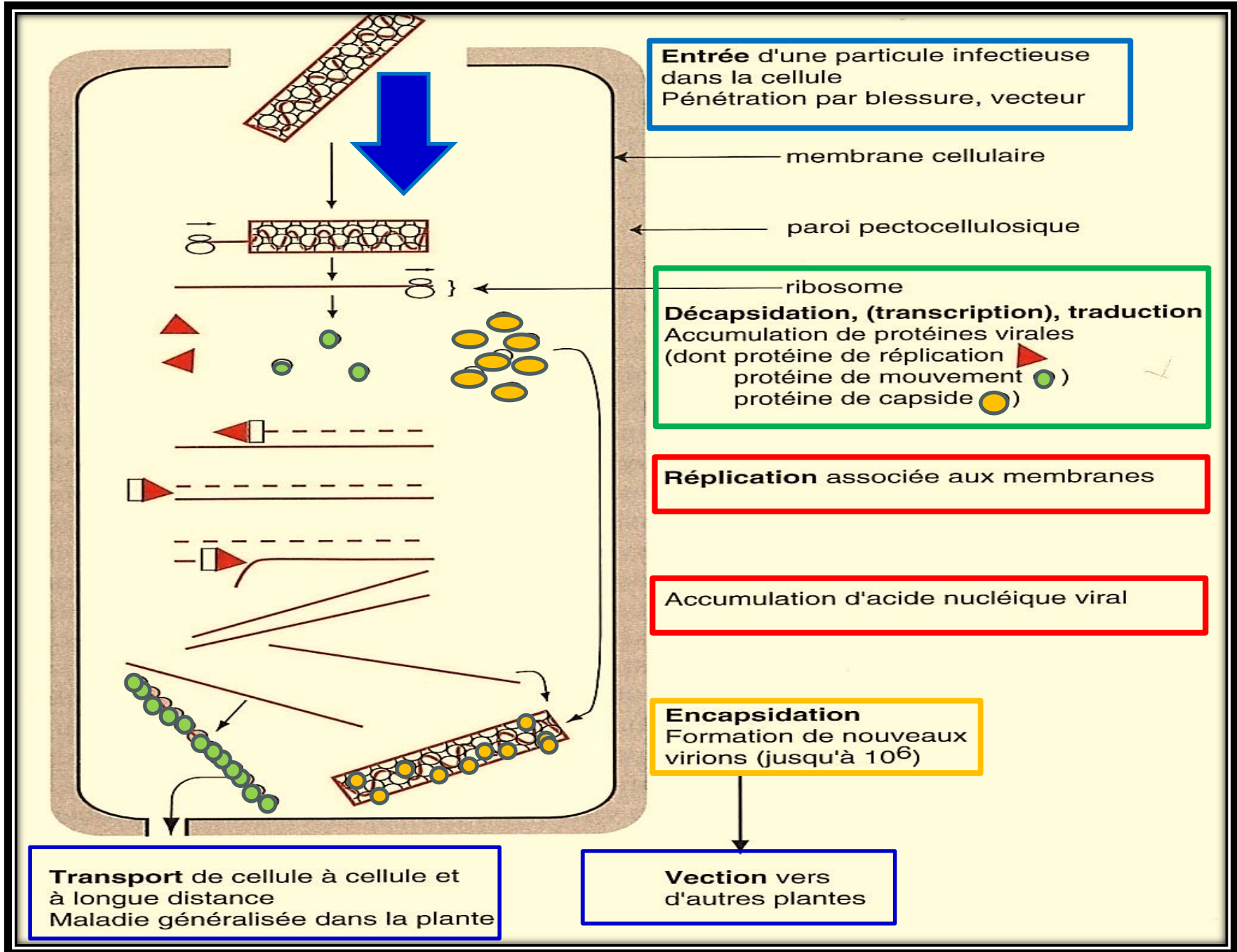
Jaunissement de betteraves

2. Transmission des virus



Transmission viral :

- L'existence de **récepteurs spécifiques non démontrée**
- **≠ endocytose, ≠ fusion** de membranes
- Entrée des virus par **effraction** (blessures, insectes, champignons, nématodes, protozoaires ...)
- Certains virus sont transmis par **voie végétative** (boutures, tubercules, ...), pollen ou semence.

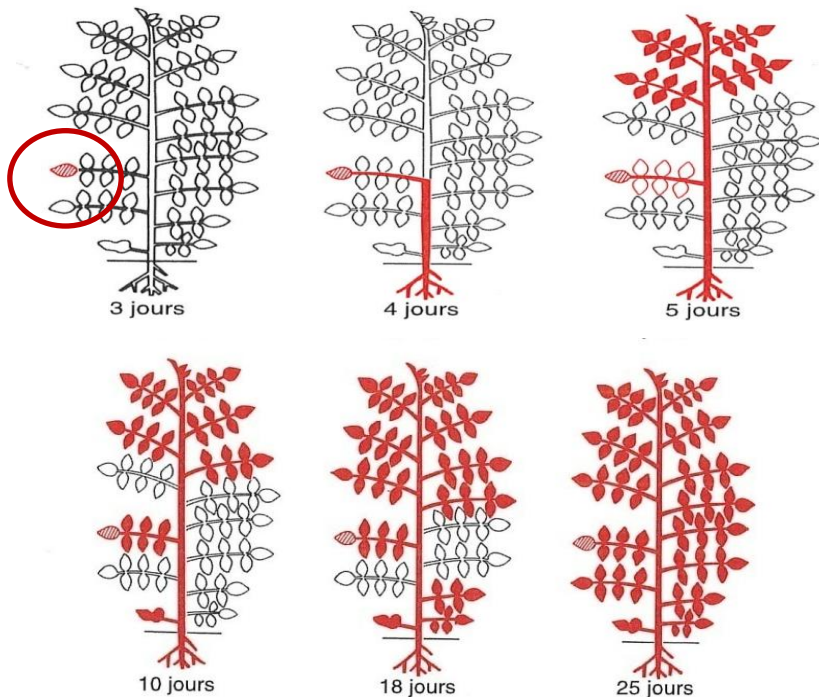


3. Infection totale de plante, ou limité ou inexistante

- Si phénomène d'infection s'arrête aux première cellule infectées → aucun symptôme de maladie = **Infection subliminale**

- Si phénomène d'infection se propage **vers différents organes** = **Infection systémique ou généralisée** → phénomène de transport ou mouvement des virus qui commence à être élucidés

Σ racinaire Feuilles jeunes



Inoculation sur foliole →

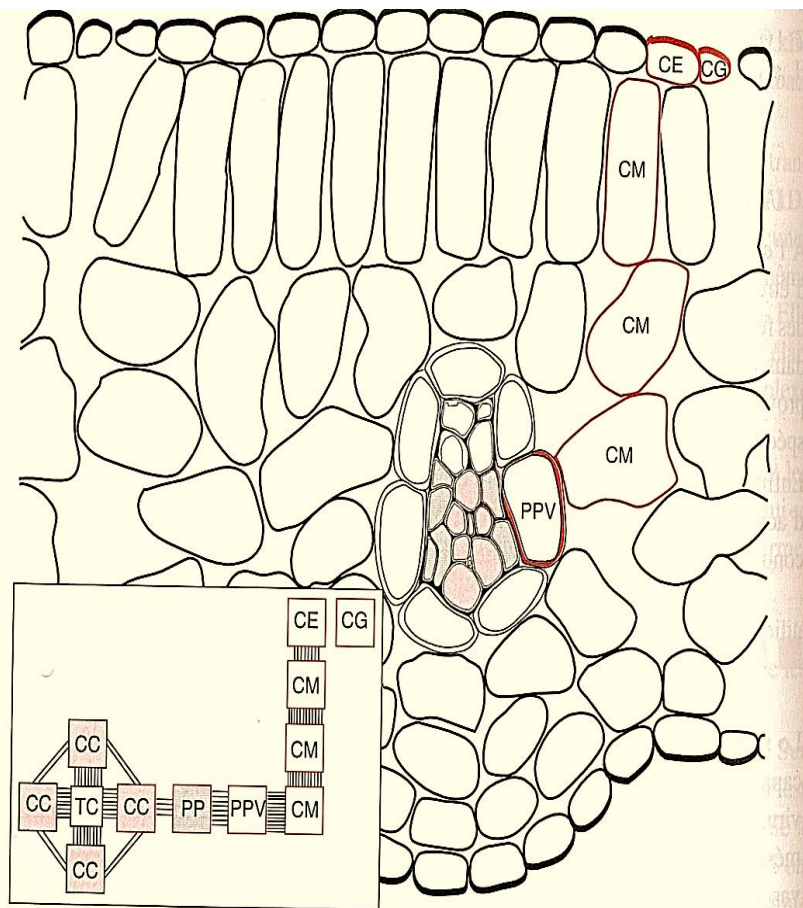
Visualisation de nécroses 3j (nb de lésions f° de [inoculum])

Puis vont vers racines et jeunes feuilles après 4-5j et ensuite dans tt la plante

Figure 4.1 – Schéma du mouvement du TMV dans la tomate (d'après Samuel, 1934). La foliole inoculée est représentée en rouge hachuré et les organes infectés en rouge.

→ Distribution du virus dans toute plante via le symplaste :

- Sur des courtes distances via **plasmodesmes du mésophylle**
- Sur longues distances via **plasmodesmes vasculaires et phloème**



→ Passage dans cellules successives : **épiderme, parenchyme, compagne et tube criblé**

→ Existence de **protéine de mouvement** permettant les déplacements à travers les plasmodesmes

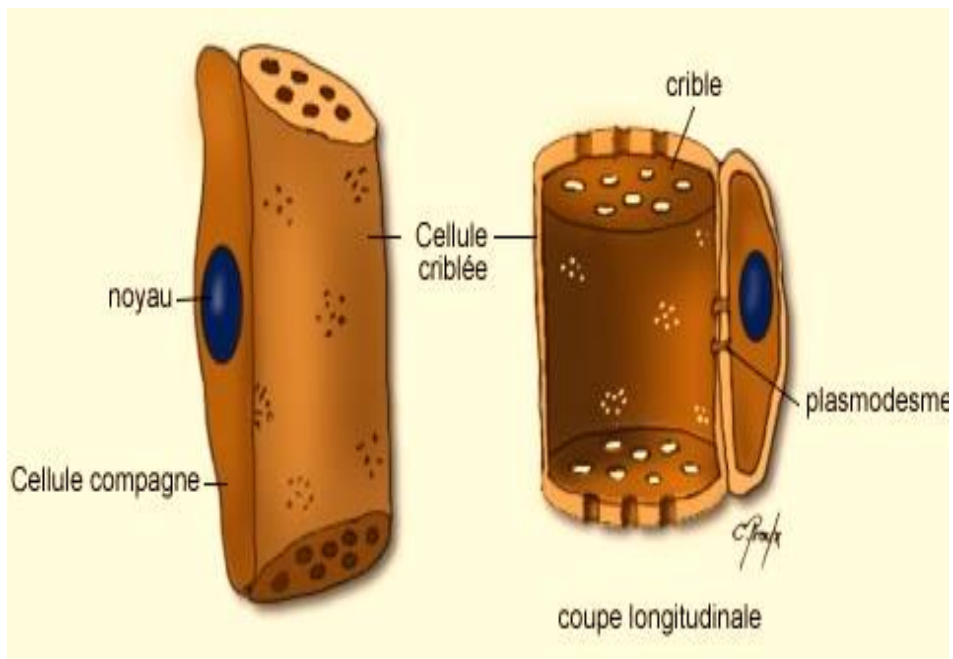
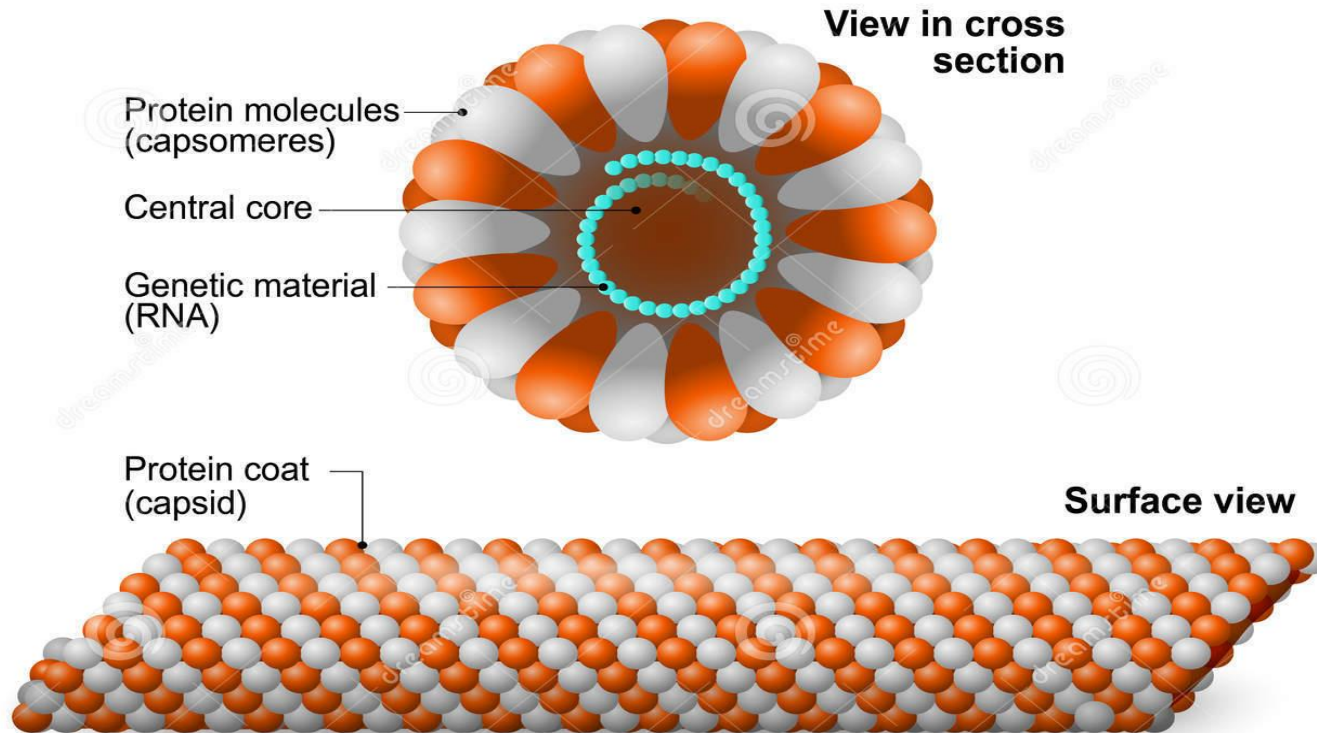


Figure 4.6 – Différents types cellulaires infectés par le virus au niveau de la feuille: CG = cellule de garde des stomates; CE = cellule épidermique; CM = cellule de mésophylle; PPV = cellule de parenchyme périvasculaire; PP = cellule de parenchyme phoémien; CC = cellule compagne; TC = tube criblé. En bas à gauche, les nombres relatifs des plasmodesmes reliant les différents types cellulaires sont figurés par les traits.

Le virus de la mosaïque du tabac provoque une mosaïque sur cette plante, et affecte **plusieurs solanacées** comme la tomate ou le poivron. Ubiquiste, le virus est trouvé partout dans le monde où le tabac est cultivé.

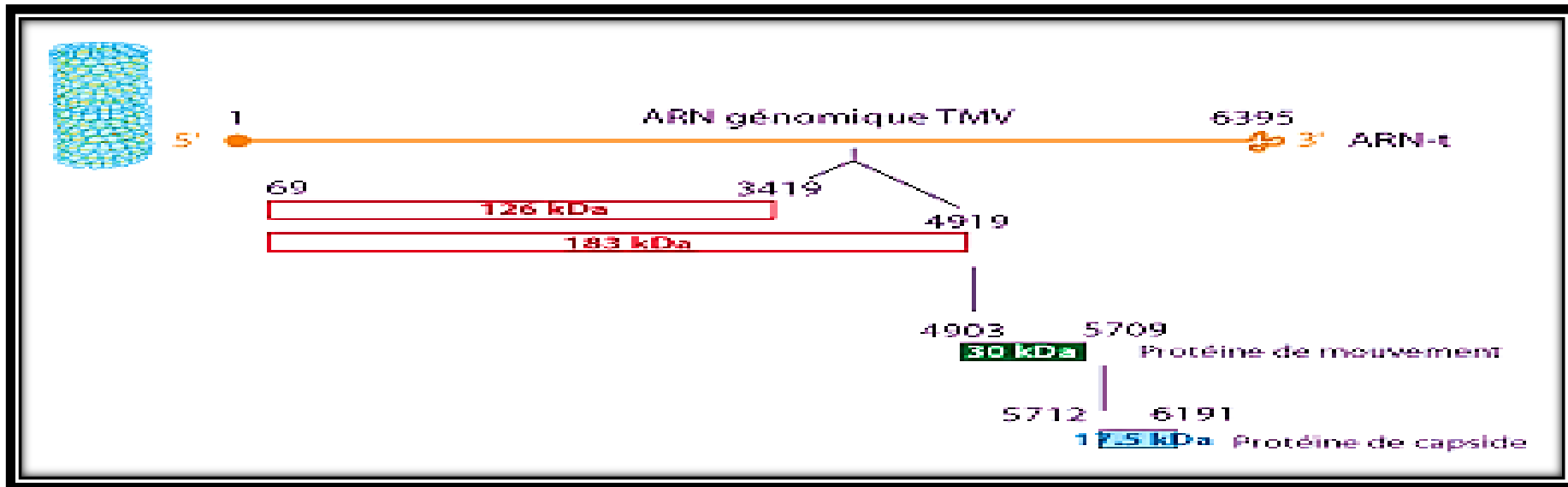
Tobacco mosaic virus



Ex: la protéine de mouvement (MP) du virus de la mosaïque du tabac (TMV), virus à ARN, réplication cytoplasmique

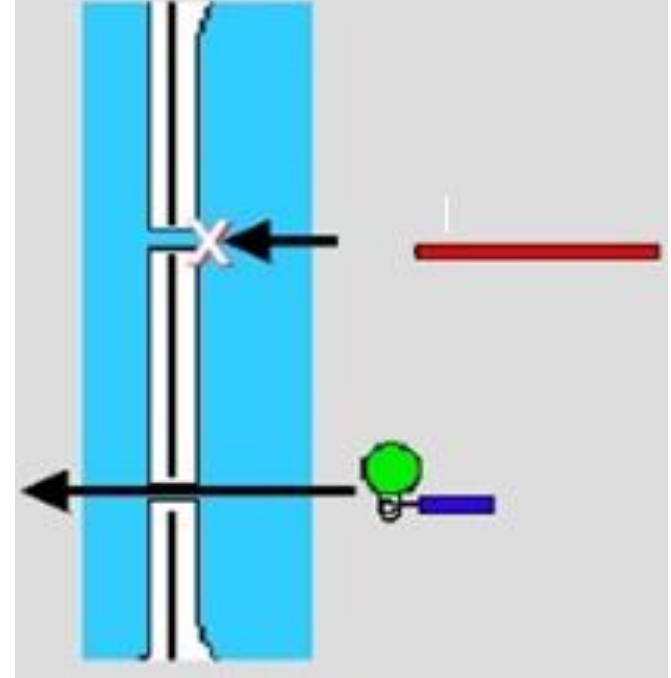
Génome du virus de la mosaïque du tabac: brin d'ARN de polarité positive:

- Une région 5' non codante (5'NC ou 5'UTR),
- Trois cadres de lecture codant pour le **complexe réplisome**, suivi de deux cadres de lecture permettant la production de la **protéine de mouvement** et de la protéine de **capside**. Le génome viral se termine par une extrémité 3'NC: en forme d'ARN-T qui comporte cinq pseudo-noeuds.



- Protéine de mouvement (MP) qui prend en charge l'ARN (ou ADN) **monocaténaire** → condensation de l'acide nucléique pour passage des plasmodesmes

-MP possèdent des **domaines de liaison aux acides nucléiques** et un **signal de ciblage des plasmodesmes** dont la perméabilité sera augmentée



Sites d'origine d'encapsidation

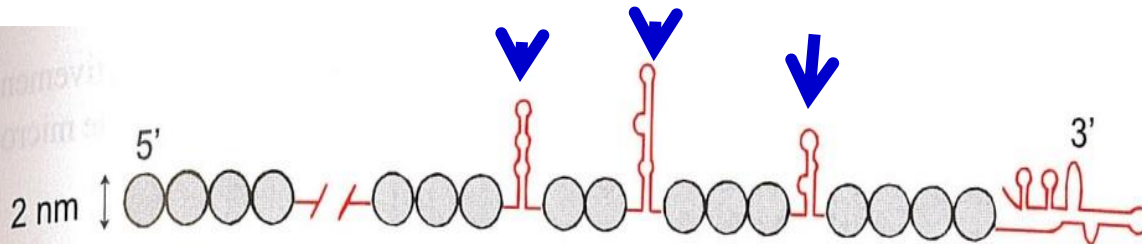
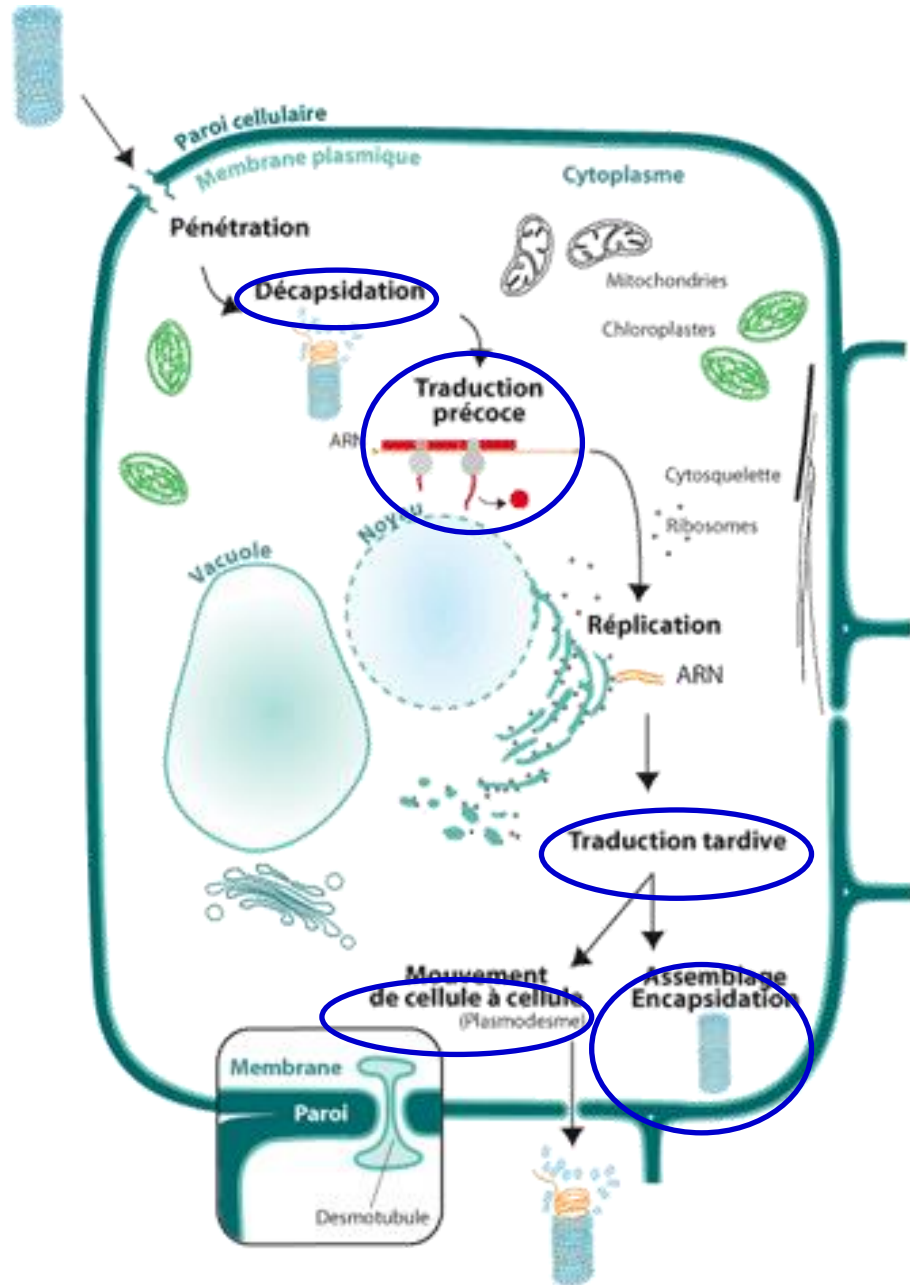


Figure 4.4 – Structure schématique du complexe MP-ARN TMV (d'après Citovsky *et al.*, 1990 ; © Cell Press, Cambridge, Mass.). Les molécules de MP sont représentées par des cercles gris. Elles protègent de façon continue les 5 400 premiers nucléotides de l'ARN. Dans la séquence restante de 1 000 nucléotides, MP ne peut se lier aux structures secondaires de l'origine d'encapsidation et du pseudo ARNt 3' terminal.

Le cycle du virus dans la plante



Le virus est transmis mécaniquement

- Dans la cellule, **des ribosomes** s'associent avec l'extrémité **5'** de l'**ARN** viral et facilitent **la décapsidation**,
- Le **complexe réplicase** → synthèse des ARNs subgénomiques → synthèse de **la PM**, qui permet au virus de bouger de cellules à cellules sous la forme d'un complexe **nucléo-protéinique**.
- La PM : associée avec le cytosquelette cellulaire, pour diriger le virus vers les **plasmodesmes**
- Plus tard, le virus va produire la protéine de **capside** en abondance et le **virion** sera assemblé.
- On a montré que la **réplication** virale était efficace dans les cellules épidermiques, dans le mésophylle ainsi qu'au niveau de poils racinaires.

4. Les différents modes de transmission

Ex. pucerons transmettent phytovirus aux plantes sur lesquelles ils se nourrissent (60 % des phytovirus connus à ce jour)

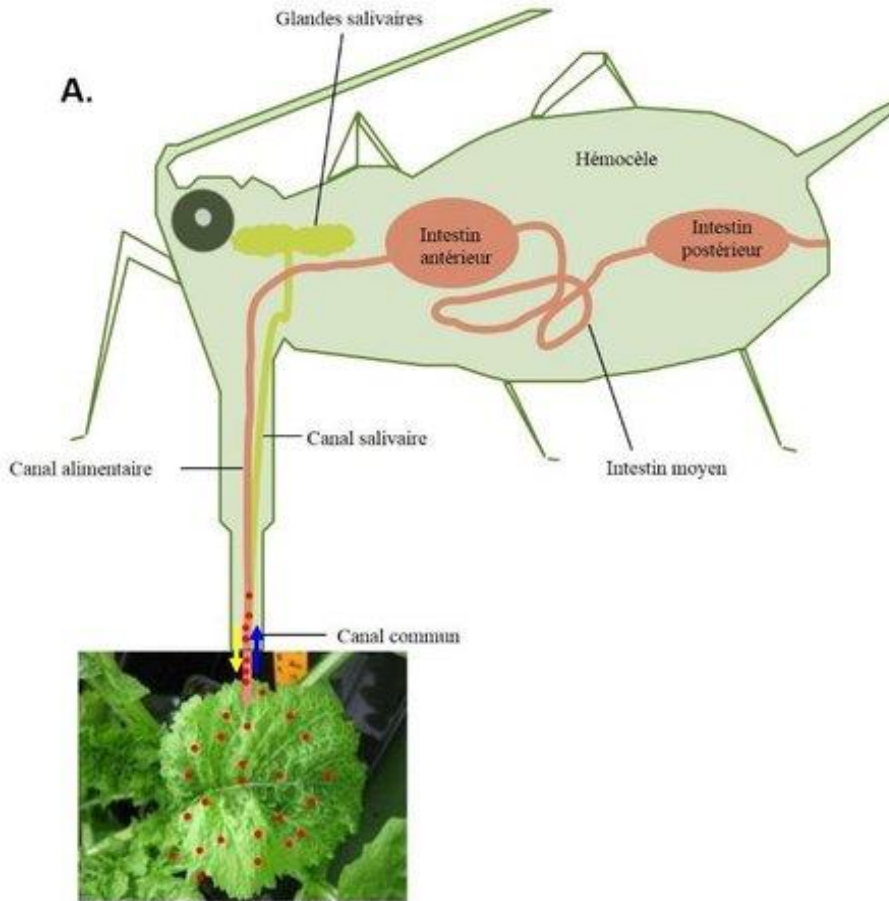
Types de transmission :

- ✓ Non persistante
- ✓ Persistante
- ✓ Semi-persistante.



a. Le mode non persistant (ou mode de stylet)

Virus «non circulants» → particules de virus restent sur pièces buccales (stylets)



Virus acquis pendant piqûres d'essais:

- * 1 piqûre de qq secondes à min.
- * **Immédiatement** transmis à autre plante (\neq période de latence)
- * Perd rapidement cette capacité (~10 min à qq heures)

Pas de grande spécificité :

- 1 puceron peut transmettre plusieurs virus différents
- 1 virus donné peut être transmis par plusieurs espèces différentes
- Infection très rapide

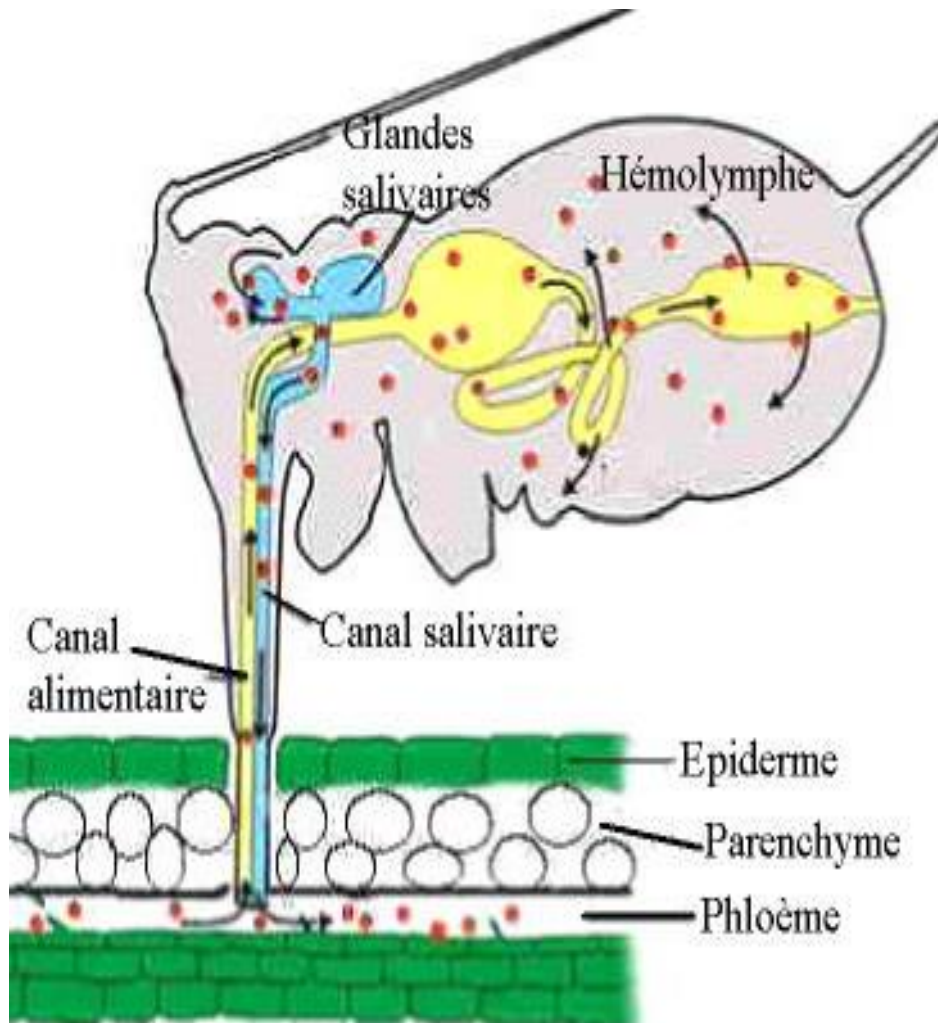
Ex. Puceron vert du Pêcher (*Myzus persicae*)

Transmet ~ 20 virus différents
(virus de mosaïque de laitue) à de
nombreuses autres espèces (Melon,
Courgette, Tomate, Aubergine, Poivron).



b. Le mode persistant

- ✓ **Virus «circulant»** = transite dans corps du puceron
- ✓ **Virus** dans sève élaborée (phloème), où se multiplie



- ❑ **Piqûres d'alimentation profondes** → Temps d'acquisition relativement long (qq min à qq h)
- ❑ **Virus transite dans corps du puceron** → Accumulation dans glandes salivaires → puis inoculé à autre plante lors d'une piqûre d'alimentation

Mode de transmission :

- Période de latence (qq h à qq j) avant que puceron soit **virulifère**
- Plus spécifique : 1 espèce de puceron transmet **seulement** une ou deux espèces de virus.

Ex. Puceron du merisier grappes (*Rhopalosiphum padi*) transmet Jaunisse nanisante aux céréales



c. Le mode semi-persistant

Mode intermédiaire :

- Pas de période de latence pour acquisition du pouvoir **virulifère**
- Ne semble pas transiter dans puceron
(mais reste porteur du virus pendant des jours et peut infecter plusieurs plantes à la fois)

5. Classement des maladies virales des végétaux

❖ Selon les symptômes de la maladie

- **Mosaïques** → bigarrures sur feuilles, tâches jaunes ou autres, lésions nécrotiques (fleurs)



Virus de mosaïque de laitue



- Enroulement et / ou jaunissement des feuilles, nanisme des feuilles ou des ramifications

- Tumeurs sur racines et tiges

- Flétrissement de plante entière



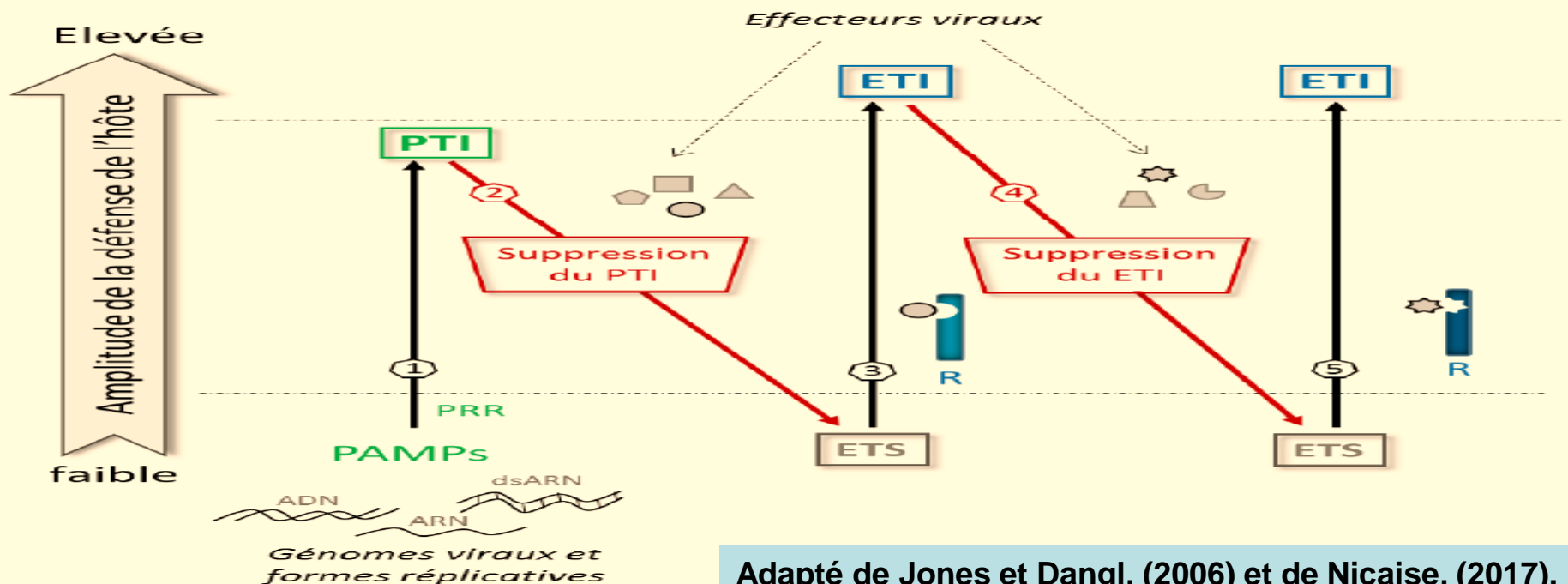
II. Réponses des plantes aux virus

1. immunitaire à deux voix : système « zig-zag »

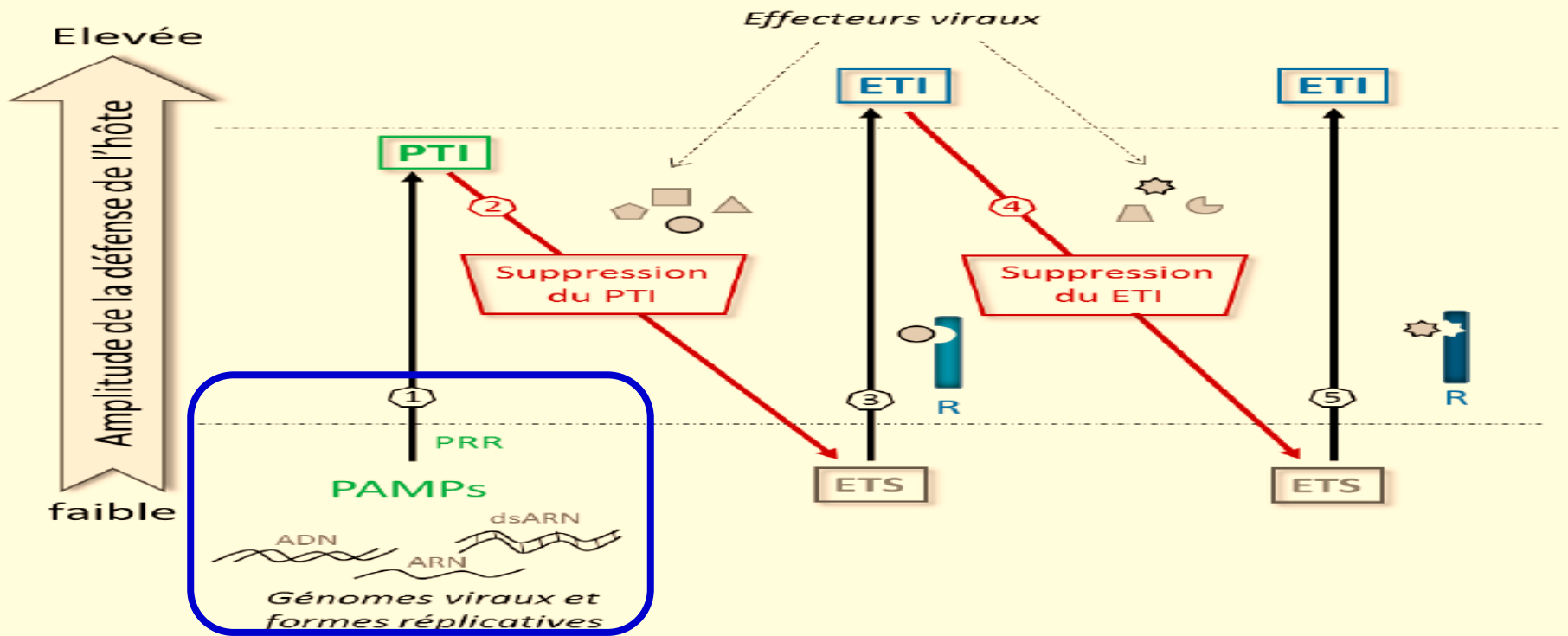
Chez les plantes, il existe un système immunitaire à deux voix :

- **Le PTI** (PAMP-Triggered Immunity=immunité déclenchée par les **PAMPs**: motifs moléculaires associés aux pathogènes ou **résistance basale**)
- **L'ETI** (Effector-Triggered Immunity=immunité déclenchée par des **effecteurs**), **faisant parfois suite au PTI**

→ **conceptualisé par le système « zig-zag » montrant la coévolution virus/plante**

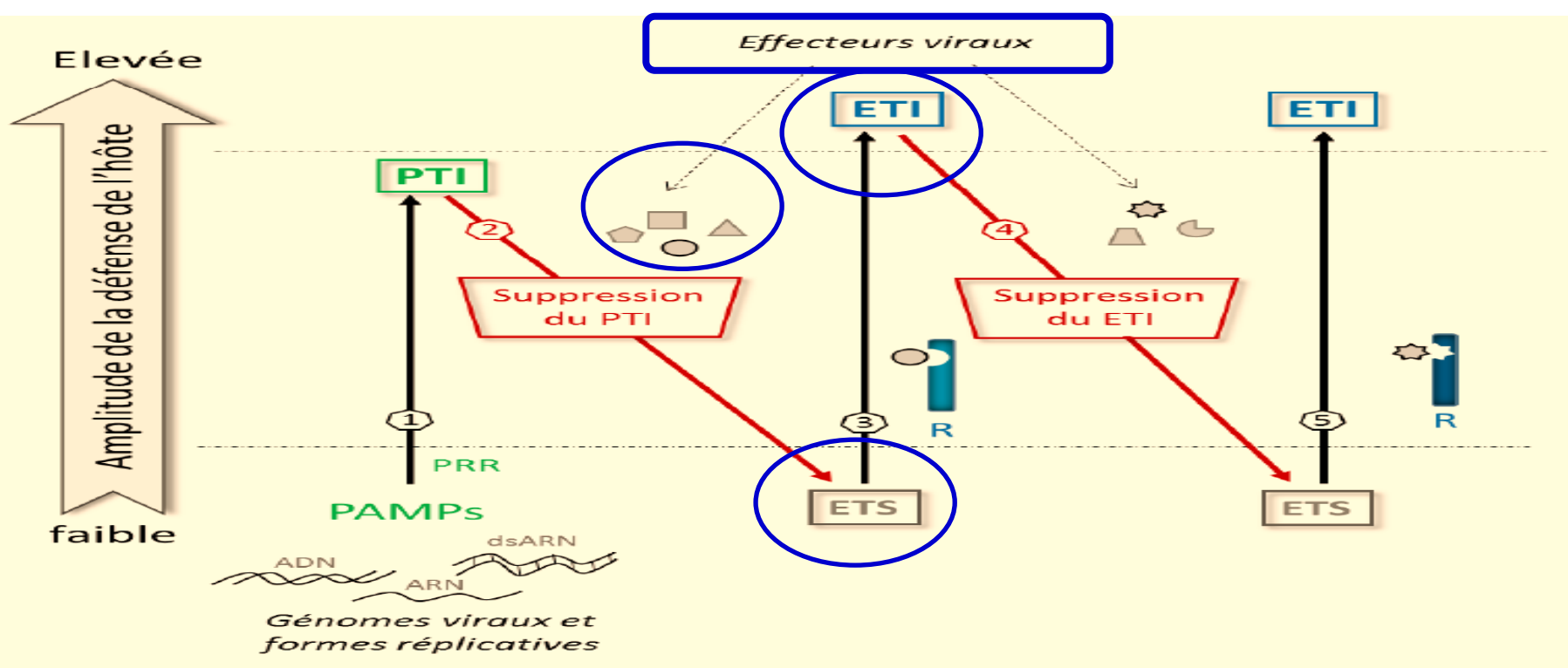


Adapté de Jones et Dangl, (2006) et de Nicaise, (2017).



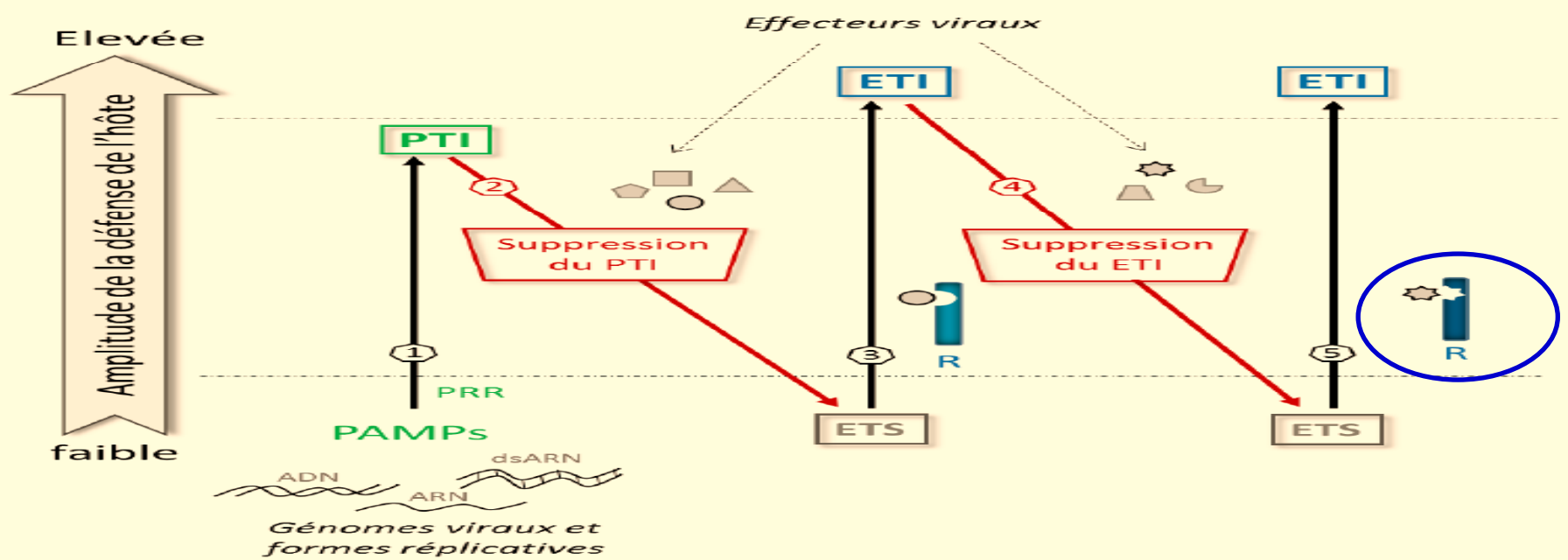
(1) Le virus rentre dans la cellule →

- ✓ Il y a **décapsidation et mise à nue** du génome virale.
 - ✓ Le génome **forme des PAMPs** (Pathogen-Associated Molecular Patterns= Motifs moléculaires associés aux pathogènes).
 - ✓ PAMPs sont reconnus par des récepteurs appelés **PRR** (Patterns Recognition Receptor = récepteurs de reconnaissance des profils de pathogenicité,
- Cette **reconnaissance entraîne la mise en place d'une réponse basale ou PTI**, non spécifique pour limiter la propagation du virus.



(2) Il existe des virus qui peuvent surmonter cette 1ère ligne de défense du PTI en formant des **protéines effectrices** interférant avec les voies du PTI
 → Cela entraîne **la sensibilité de l'hôte ou ETS** (Effector Triggered Susceptibility).

(3) Mais les plantes ont mis en **place une nouvelle ligne de défense** amenant une **résistance** plus élevée et plus spécifique. **C'est l'ETI** ou **immunité déclenchée par un effecteur**



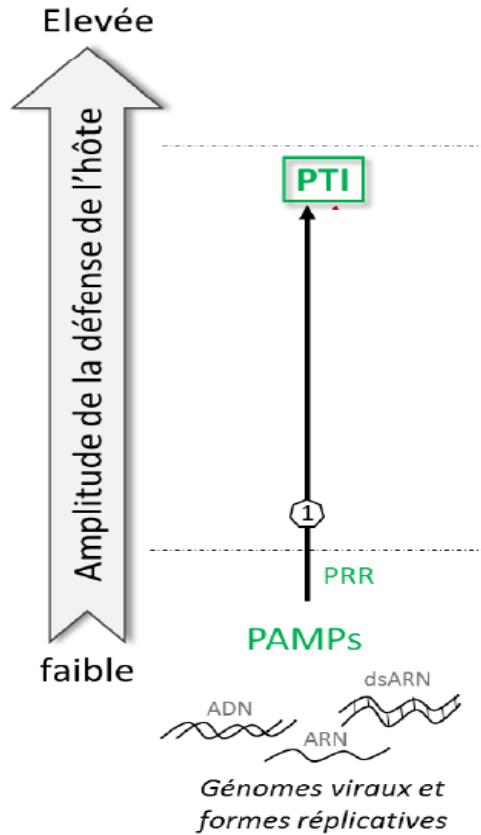
Les protéines **codées** par les gènes de résistance (R) chez la plante reconnaissent les effecteurs viraux (ou **gène d'avirulence Avr**) et induisent donc l'ETI.

(4) Certains virus évoluent pour échapper à la reconnaissance de l'hôte soit en modifiant leurs effecteurs, soit en obtenant de nouveaux effecteurs dans le but de supprimer les mécanismes de l'ETI.

→ **cela rend à nouveau la plante sensible**

(5). Et là encore, la sélection et la coévolution vont favoriser de nouvelles **protéines R** capables de reconnaître ces nouveaux effecteurs, restaurant ainsi à nouveau l'ETI.

Remarque



Si on reprend la première étape :

Reconnaissance entre **PAMP** et **PRR** pour l'activation du système **PTI** (immunité déclenchée par le profil moléculaire associé aux pathogènes), **cela ne correspond pas entièrement au PTI établis pour d'autres pathogènes de plantes où l'éliciteur est extracellulaires** (comme la chitine pour les insectes et champignons).

Toutefois des études ont bien montrés que le génome entrainait cette réponse.

En parallèle, les acides nucléiques entrainent une autre réponse: **Phénomène naturel de silencing post-transcriptionnel (PTGS) ou RNA silencing ou RNA interferon**

2. Phénomène de silencing post-transcriptionnel (PTGS)

Post-transcriptional gene silencing in plants

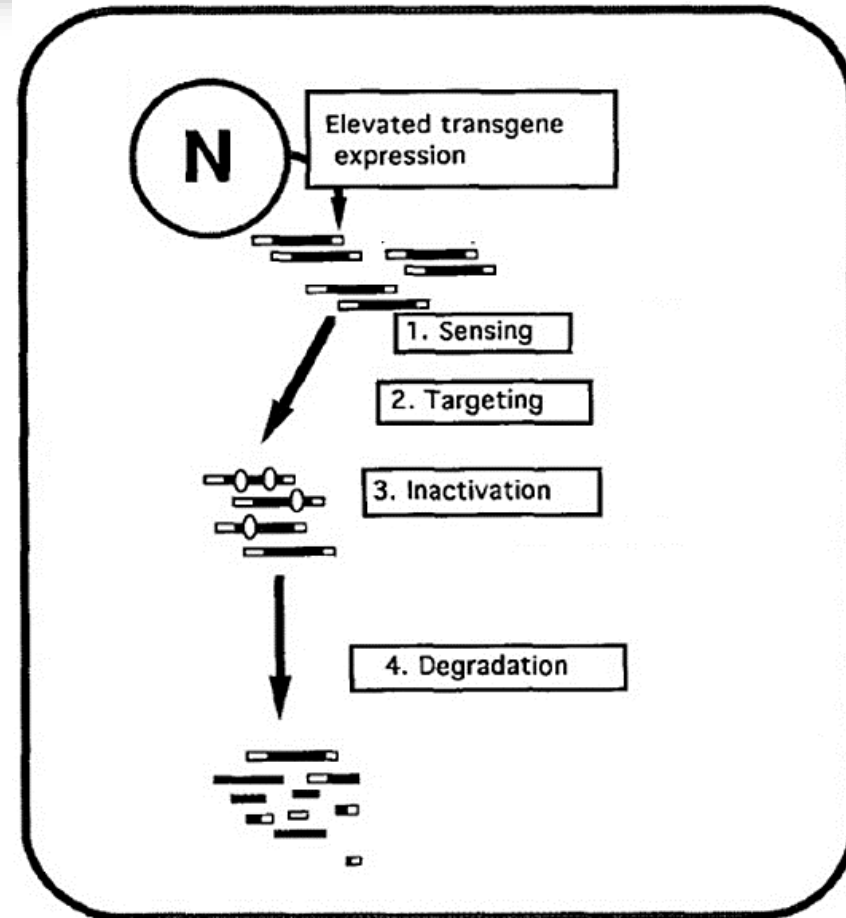
Hervé Vaucheret¹, Christophe Béclin and Matthilde Pagard

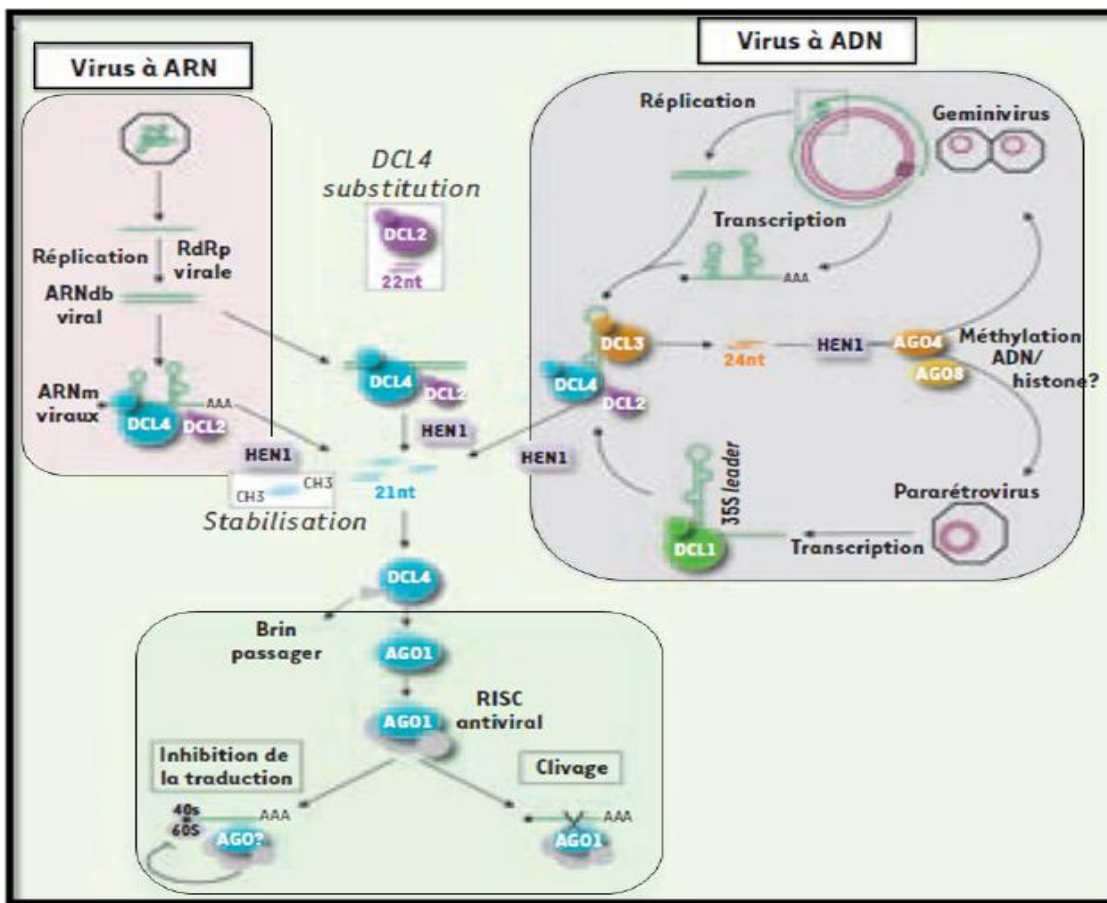
Laboratoire de Biologie Cellulaire, INRA, Versailles 78026, France
*Correspondence: herve.vaucheret@versailles.inra.fr

Journal of Cell Science (2004), 117, 1001–1007. © The Company of Biologists Ltd

Phénomène naturel de Silencing post-transcriptionnel (PTGS) :

1. une reconnaissance des transcrits viraux double brins,
2. ciblage des ARN viraux
3. inactivation et
4. dégradation cellulaire des ARN viraux dans cytoplasme





Les ARN double sont clivés par une enzyme (**Dicer like : DCL**) en petits fragments de 21 à 22 nu

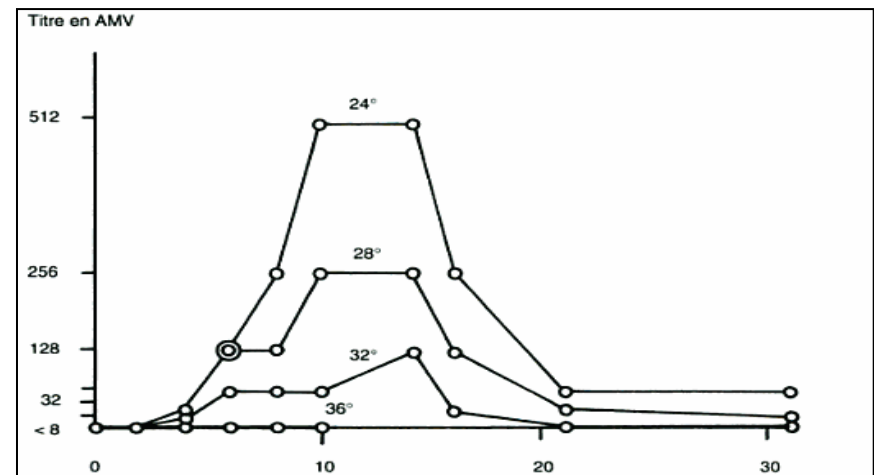
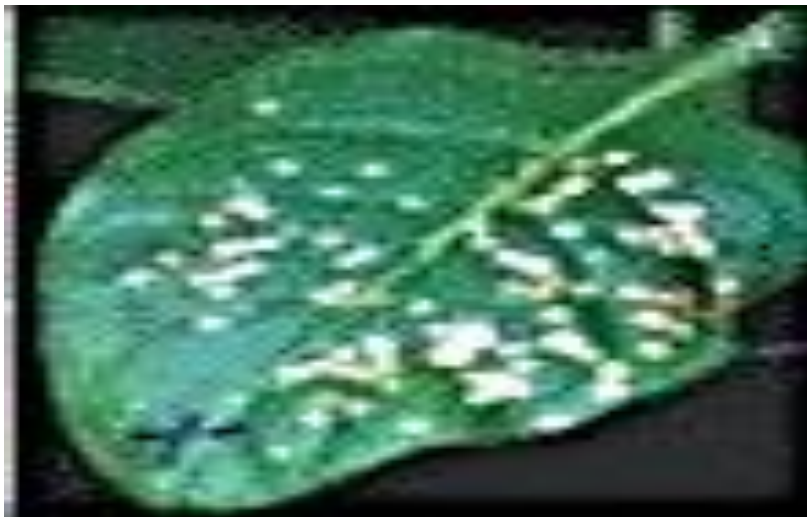
Les fragments sont pris en charge par des protéines appelées **Argonautes** qui **séparent les brins d'ARN** et gardent fixé le brin guide (l'autre est détruit).

Le complexe Argonaute/ARN (=RISC = RNA induced silencing complex) reconnaît des ARNm (viraux) et **s'accroche dessus en empêchant la traduction virale** ou en entraînant leur clivage.

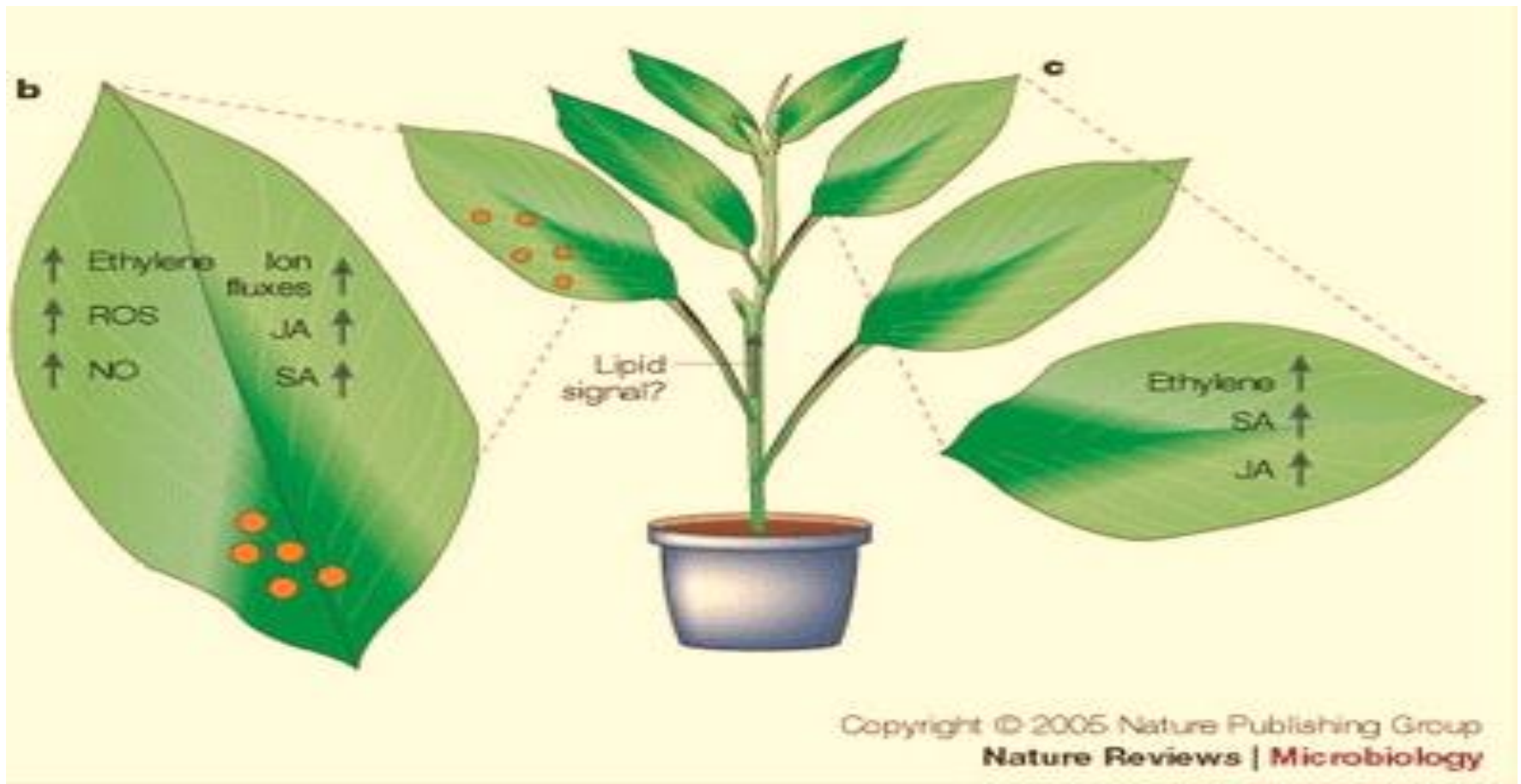
Ce phénomène de résistance permet aux plantes **de ne pas développer d'infection en cas de ré-inoculation = phénomène de rétablissement ou de **super immunité****



Après inoculation d'un virus à ARN → la plante s'avère sensible et développe des symptômes
Après qq jours, dans les feuilles âgées présentant des symptômes importants **il n'est pas possible de détecter de charge virale**



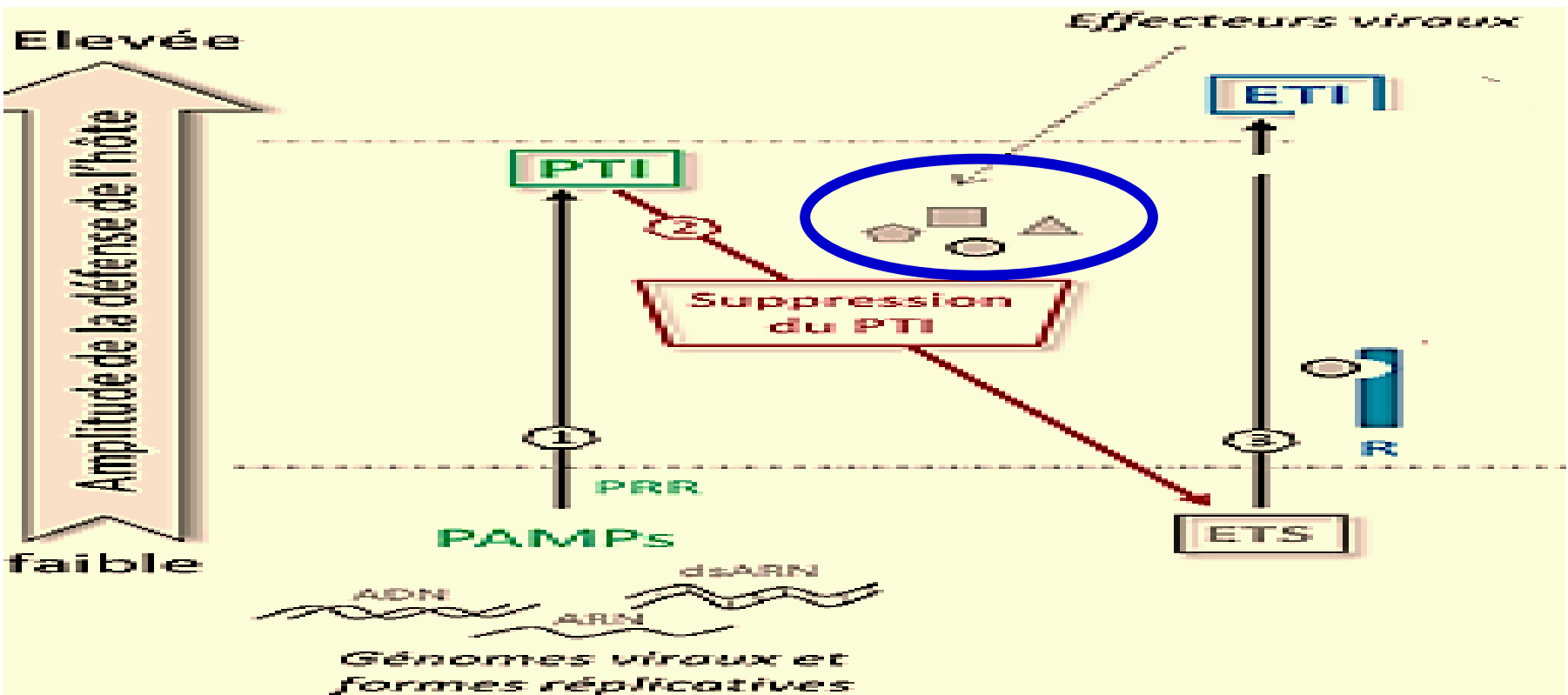
De plus, après une nouvelle inoculation (avec même virus), les feuilles en croissance présentent peu ou pas de symptômes, avec peu ou pas de virus détectables → elles sont devenues **résistantes**.



3. Résistance « gène à gène » ou éliciteur-récepteur

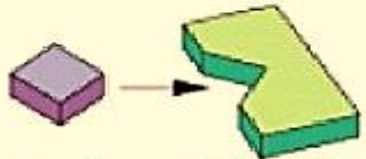
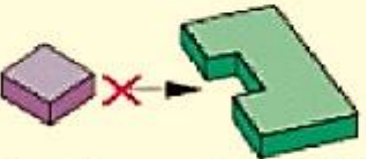
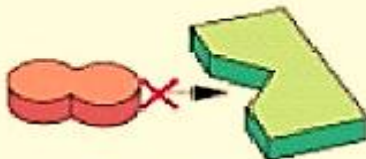
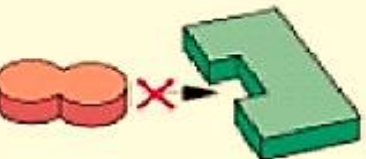
Nous avons vu que des virus, **en produisant des effecteurs internes** (ex: gène de capside) **supprime la réaction immunitaire basale et rendent la plante sensible.**

Une immunité et donc une résistance peut être réenclenchée via une réponse dite « **gène à gène** » ou **éliciteur-récepteur**



Conditions:

- ✓ Présence de **gènes dominants de résistance (R)** chez la plante **et**
- ✓ De **gènes dominants d'avirulence (Avr)** du virus simultanément dans cellules végétales

Pathogen genotype	Host plant genotype	
	<i>Rl</i>	<i>rI</i>
<i>AvrI</i>	 <p>AvrI Rl protein</p> <p>No disease</p> <p>(Plant and pathogen are incompatible.)</p>	 <p>AvrI rI protein</p> <p>Disease</p> <p>(Plant and pathogen are compatible.)</p>
<i>avrI</i>	 <p>avrI Rl protein</p> <p>Disease</p> <p>(Plant and pathogen are compatible.)</p>	 <p>avrI rI protein</p> <p>Disease</p> <p>(Plant and pathogen are compatible.)</p>

Si présence des 2 gènes dominants = résistance induite et réaction dite **incompatible** → **pas de propagation du virus** (qq symptômes visibles)

Si absence d'1 gène ou récessif ou non fonctionnel = maladie se développe et interaction dite **compatible**

L'interaction effecteur/éliciteur aboutit à une cascade signale qui permet la défense de la plante et bloque l'invasion des tissus végétaux par le pathogène

✓ **Changements de concentration en peroxyde d'hydrogène**

H_2O_2 , et anion superoxyde O_2^- .

- *Action indirecte* en tant que messagers secondaires pour une cascade signale.
- *Actions directes* : les deux formes réactive de l'oxygène provoquent **la peroxydation des lipides** membranaires et donc la mort cellulaire des cellules infectées

✓ **Changements de concentration en Ca^{2+}**
(influx → messenger secondaire)

✓ **Cascade signal impliquant des kinases et phosphatases**, permettant la phosphorylation ou la déphosphorylation de protéines et la signalisation cellulaire

Cela aboutit à l'activation de gènes de défenses permettant de limiter, **retarder ou empêcher** le déroulement du cycle d'infection de l'agent pathogène/ virus dans la plante :

➤ **Gènes de la voie de biosynthèse de l'acide salicylique.**

L'accumulation de cet acide induit la résistance locale et systémique (à distance, non infectée)

➤ **Gènes codants des protéines sécrétées dans l'espace intercellulaire.**

Par ex *PR* = Pathogenesis Related, comme : la peroxydase (PR-9) impliquée dans la formation de **la lignine** et le renforcement des parois

➤ **Gènes des protéines antivirales** (RIP: Ribosome inactivating Protein)

enlevant **une adénine** des ARNt des ribosomes: inhibant traduction viral

Ces voies de signalisation induisent dans la majorité des cas le développement d'une **HR (réaction d'hypersensibilité)** au niveau **local**, et l'induction de **la résistance systémique acquise (SAR)**.

❖ **Résistance associée à une réaction d'hypersensibilité rapide et efficace entraînant la mort cellulaire localisée**

Ex :

- **Gène N** chez *Nicotiana glutinosa* ; résistance élicitée par **région hélicase de réplicase** du TNV
- **Gène N'** chez *Nicotiana sylvestris* ; résistance élicitée par **gène de la capsid** du TNV

Résistance avec hypersensibilité au TNV

Protéines N et N' ont un site de reconnaissance protéine pour **Avr** → **complexe N ou N'-Avr** → **réaction dite incompatible**
Nécroses limitées

Nécrose du tissu infecté = mort cellulaire entourée par halo plus clair (dans ces parties présences du virus) → **limitent développement du virus**. Reste des tissus sains sans virus

Hypersensibilité s'accompagne de **l'accumulation de composés toxiques** ainsi que **d'un épaissement de la paroi**, activation des gènes de défense (5 à 10 min après induction de HR) qui vont empêcher le développement du pathogène. ⇒ **vers résistance systémique**



❖ **Résistance associée à une réaction de résistance extrême n'entraînant pas de mort cellulaire**

Ex : **Gène Rx1 sur chromosome XII et Rx2 sur le chromosome V** chez *la pomme de terre* ; résistance élicitée par le gène de la capsid du **PVX (virus de pomme de terre)**



Rx1 et Rx2 comme protéines N et N' possèdent un site de reconnaissance protéine pour *Avr* → **réaction incompatible**

Mais, il y a mise en place d'un mécanisme de **résistance antiviral à large spectre** pour virus de même ou différente famille en quelques heures entraînant l'arrêt de réplication virale

Pas de lésions locales nécrotiques : phénotype d'extrême résistance agissant très rapidement (avant HR) pour éviter accumulation de virus

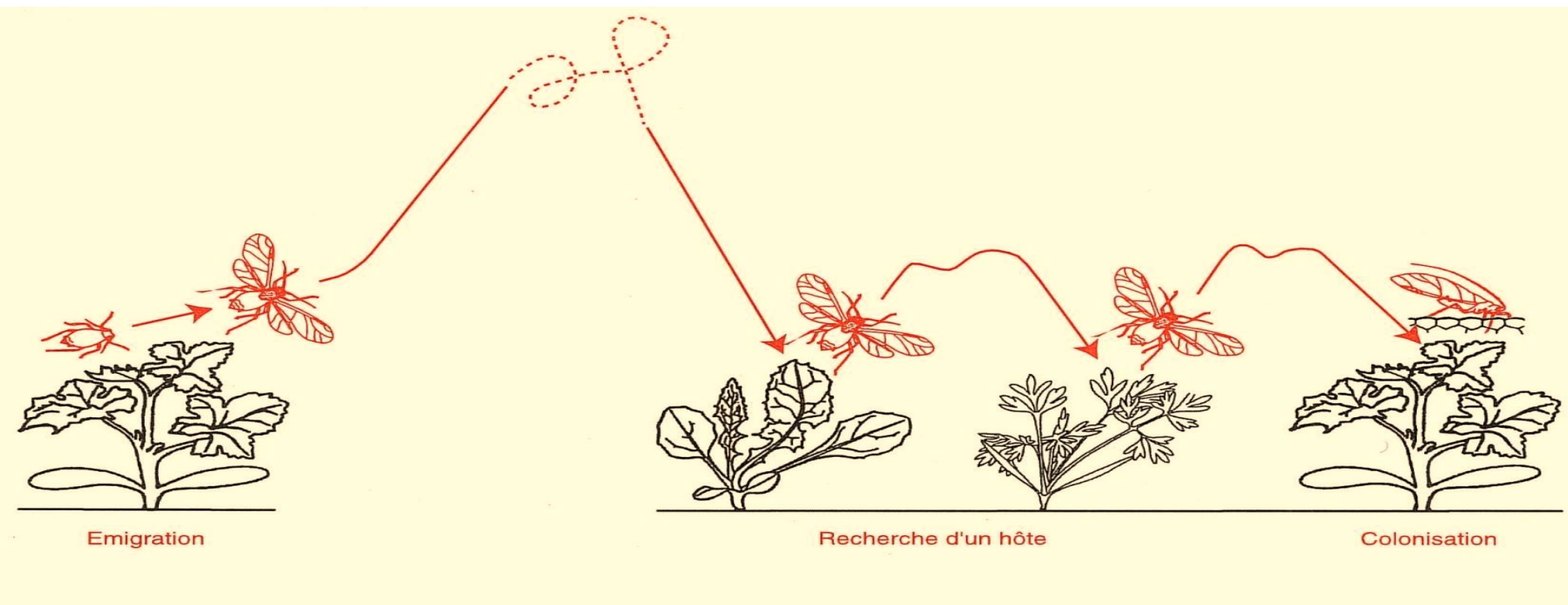


Figure 8.5. – Représentation schématique du comportement de vol et de recherche d'hôte d'un puceron ailé.