

Année de l'AAP : 2007

Projet N° 07058 Achevé

Titre du projet : Comprendre l'émergence des maladies infectieuses : liaison entre l'évolution du génome et l'évolution de la virulence d'un phytovirus dans la phase d'adaptation à son hôte

Unité responsable du projet : BGPI (Biologie et Génétique des Interactions Plantes/Pathogènes) (INRA, CIRAD, SupAgro)

Porteur de projet : Rémy Froissart (remy.froissart(a)supagro.inra.fr)

Unités de recherche du réseau scientifique d'Agropolis Fondation associés : LEPSE, LGDP, Protéomique

Sous-axes thématiques : BIP-2 : Maladies et ravageurs des plantes, protection intégrée des cultures, écologie des populations

Objectifs :

L'expression phénotypique des mutations est particulièrement importante pour comprendre les processus vitaux, notamment s'agissant de l'évolution des pathogènes. Dans les virus, l'expression phénotypique d'une mutation peut se manifester non seulement par des symptômes, mais aussi par les niveaux de fitness du virus (capacité reproductive d'un génotype) et de virulence (baisse de fitness de l'hôte). Ces dernières années, les séquences nucléotides complètes, les transcriptomes et les protéomes des organismes vivants sont devenus de plus en plus disponibles. Néanmoins, les techniques en question montrent un instantané d'un génome : elles ne donnent aucune indication sur la cinétique d'accumulation des mutations ou sur l'expression phénotypique des mutations dans des environnements différents. L'étude de l'expression phénotypique est importante dans la mesure où la sélection naturelle agit sur l'expression phénotypique des mutations dans des environnements aussi bien constants que variables.

Notre projet se propose de combler ce vide en se concentrant sur trois objectifs :

- caractériser l'expression phénotypique des mutations adaptatives ;
- évaluer le rôle de la nature des interactions entre mutations dans la cinétique d'accumulation des mutations adaptatives ;
- déterminer l'implication des interactions génotype x environnement dans la fixation des mutations adaptatives.

Nous étudierons l'évolution expérimentale du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV, Caulimovirus). Le CaMV est un modèle biologique approprié, car nous connaissons bien son cycle biologique, et parce qu'il présente un taux d'évolution élevé et une large gamme d'hôtes. Les populations virales seront transmises d'une plante à l'autre sur au moins 200 générations (\pm 200 jours) soit dans deux environnements homogènes (*Arabidopsis thaliana* ou *Nicotiana bigelovii*), soit dans un environnement variable (alternance des deux espèces). Le CaMV étant facile à manipuler (clonage, séquençage, etc.), nous pourrions aisément déterminer la cinétique d'accumulation des mutations adaptatives et tester l'expression phénotypique de chacune de ces mutations individuellement ou en combinaison dans tous les types d'environnement. Nous travaillerons uniquement sur les mutations qui apparaissent parallèlement dans les populations indépendantes soumises à la même pression de sélection directionnelle, comme l'adaptation à un environnement. De plus, nous mettrons en corrélation l'expression phénotypique des mutations adaptatives du virus et les modifications du transcriptome et du protéome d'*A. thaliana* en comparant les niveaux d'expression des gènes et des protéines après inoculation par des génotypes viraux évolués ou non évolués.

Actions menées et résultats obtenus :

Nous avons mis en place une évolution expérimentale in vivo du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV). Des populations virales ont ainsi été transmises de plante à plante dans deux environnements constants (transmission uniquement dans *Arabidopsis thaliana* ou *Nicotiana bigelovii*) et dans un environnement à variabilité temporelle (transmission alternativement dans les deux espèces végétales). Pour chacun de ces trois traitements, nous avons initié 10 populations virales indépendantes qui évoluent en parallèle. Nous avons par ailleurs mis en place une quantification d'ADN viral standardisée par une quantification du nombre de gène d'actine ainsi qu'une méthode non destructrice d'évaluation de l'impact de l'infection virale sur le développement de la plante (mesure de l'évolution de la surface foliaire).

Après cinq passages de plante à plante, nous avons pu détecter des mutations dans différentes populations. Par contre, après 10 passages, nous n'avons plus observé les mutations observées après 5 passages. De plus, l'évaluation de l'accumulation virale in planta ainsi que la virulence (i.e. réduction de la surface foliaire) des populations virales ayant subi des passages en série n'a pas permis de mettre en évidence des changements phénotypiques particuliers à l'adaptation à un environnement ou un autre (forte variance). Il semble donc que les mutations s'accumulent dans les populations virales de manières transitoires. L'ensemble de ces résultats suggèrent que, dans nos conditions, la taille efficace (N_e) des populations de virus de plante est relativement faible (fixation rapide de mutations spontanées), ne laissant pas ainsi place à la sélection pour agir et permettre aux mutations adaptatives de se fixer dans les populations. Une autre hypothèse suggère que le temps d'accumulation des mutations adaptatives est plus long que celui des mutations spontanées et qu'il faudrait continuer les passages en série plus longtemps pour pouvoir observer des patterns contrastés entre les différents environnements.

Perspectives :

Mesurer la taille des populations intra-hôtes du CaMV et mesurer le taux de mutations

Financement total par Agropolis Fondation : 120 000 € (salaire pour un post-doctorant, frais de fonctionnement)

Catégorie(s) de soutien : allocation post-doctorale

Durée du projet : 1^{er} mars 2008 – 31 mai 2011

Mots clés : virus – adaptation – mutation – pathogène – *Arabidopsis* – phénotypique – fitness – virulence – évolution – virus de la mosaïque du chou-fleur