

Résistance génétique au virus de la sharka chez les *Prunus* : Sélection conventionnelle et nouvelles stratégies.

V. Decroocq, T. Candresse

INRA Centre de Bordeaux, IBVM, UMR GDPP INRA-Université Victor Ségalen Bordeaux 2, 71 Avenue Edouard Bourleaux, 33883 Villenave d'Ornon.

Email : decroocq@bordeaux.inra.fr.

La maladie de la sharka affecte les arbres fruitiers à noyaux du genre *Prunus* : pêcher, abricotier, prunier Elle peut provoquer des déformations importantes des fruits et des modifications de leurs qualités organoleptiques. Du fait de sa gravité, son agent causal est classé comme pathogène de quarantaine dans la plupart des pays producteurs. Actuellement, la lutte passe essentiellement par la prophylaxie : arrachage des plants contaminés, utilisation de matériel de plantation sain ou certifié... A plus long terme, la lutte contre la maladie passe par le développement de variétés combinant de bonnes propriétés agronomiques à une résistance efficace et durable.

Résumé

La sharka est une maladie virale qui atteint les arbres fruitiers à noyaux du genre *Prunus* : pêchers, abricotiers, pruniers, en Europe et en Amérique du Nord. Elle est due à l'infection par un virus, le *Plum pox virus* (PPV). Il n'existe pas, à ce jour, de moyen de lutte chimique ou biologique outre la sélection sanitaire et la plantation de matériel sain. Les chercheurs de l'INRA travaillent actuellement à la valorisation de quelques sources de résistance au PPV, identifiées chez l'abricotier et le *Prunus davidiana*, espèce sauvage apparentée au pêcher. Des hybrides obtenus par croisement avec certains de ces géniteurs sont en cours d'évaluation. Cependant, l'exploitation de ces sources de résistance polygéniques et complexes n'est envisageable qu'avec le développement d'outils moléculaires qui seuls permettront de faciliter et d'accélérer l'obtention de variétés résistantes au PPV agronomiquement intéressantes. Les travaux s'orientent également vers la recherche de nouveaux gènes de résistance des *Prunus*, en passant par la plante modèle *Arabidopsis thaliana* qui est plus facile à manipuler et dont le génome est connu. Des résultats préliminaires obtenus avec le pathosystème *A. thaliana*/PPV laissent, en effet, entrevoir l'existence de plusieurs mécanismes possibles de résistance au virus de la sharka, mécanismes que les chercheurs espèrent pouvoir à terme utiliser chez les *Prunus*.

Ces projets de recherche visent donc tout à la fois l'acquisition de connaissances d'amont sur les facteurs de résistance au virus, la caractérisation du matériel *Prunus* disponible et l'exploitation de nouvelles sources de résistance à la sharka.

Abstract

The sharka disease is a serious problem with a severe impact on *Prunus* productivity and fruit quality worldwide. It is caused by the Plum pox virus (PPV), a virus against which no chemical or biological treatment is available, except the eradication of infected trees and the plantation of virus-free material. The overall objective of INRA's research programmes is to describe and introduce genetic resistance into agronomically interesting *Prunus* cultivars. A few resistant genitors have been identified in *Prunus* species, mainly apricots and *Prunus davidiana*, a wild species related to peach. Some are currently used in conventional breeding programmes. However, in perennial plants and therefore in stone fruit trees, molecular tools have the potential to provide early information on the genotype of selected individuals and, in consequence, marker-assisted selection (MAS) appears to be a promising method to

rapidly select progenies resistant to sharka disease. The first step towards MAS, currently underway at INRA, consists in identifying molecular markers linked to genomic regions controlling resistance to PPV and thus co-segregating with the resistance trait. Such markers will be later used in conventional breeding programmes to speed up the selection of resistant cultivars.

Recently, we showed that PPV is also able to infect the model plant *Arabidopsis thaliana* and that many more mechanisms of resistance to this virus are attainable in this host plant. The use of this knowledge in stone fruit trees is currently underway by transferring resistant genes identified in *A. thaliana* to *Prunus* germplasm. This project promotes the unravelling of the complex mechanisms ruling the interaction between PPV and its host, the evaluation and use of resistant *Prunus* genitors as well as the identification of new sources of resistance to sharka disease.

Introduction

La maladie de la sharka, identifiée au début du siècle en Bulgarie est causée par un virus, le *Plum pox virus* (PPV), qui est transmis naturellement par de nombreuses espèces de pucerons très communes au verger. Elle est également transmise lors des opérations de multiplication végétative des plants fruitiers en pépinières (greffage, bouturage...). Les souches présentes sur le territoire français et infectant les différentes espèces de *Prunus* sont les souches D (Dideron) et M (Marcus). A l'extérieur du territoire, ont été décrites les souches El Amar, présente seulement en Egypte (Wetzel *et al.*, 1991), C comprenant les isolats SoC et SwC qui infectent les cerisiers acides et doux (Nemchinov et Hadidi, 1996) et la souche Rec, résultant d'un événement de recombinaison ancien et stable entre les souches D et M (Glasić *et al.*, 2004). Plus récemment, une nouvelle souche a été décrite sur pruniers au Canada, et appelée PPV-W (pour Winona) (James et Varga, 2005). Sa description anecdotique (elle n'a à ce jour été observée que sur deux arbres qui ont été éradiqués) lui confère une importance économique négligeable.

Malgré les efforts de lutte, la maladie s'est graduellement étendue à toute l'Europe. Elle a plus récemment été observée en Asie, en Amérique du Sud et en Amérique du Nord. Dans les pays où la maladie n'a pas encore atteint un état endémique, les seuls moyens de lutte dont disposent les arboriculteurs sont la plantation de matériel sain et l'éradication de tout matériel contaminé. Pour que cette éradication soit efficace, elle doit s'appuyer sur un repérage efficace des plants infectés, ce qui implique de coûteuses prospections visuelles systématiques. Les coûts de ces prospections et le manque à gagner associé aux arrachages fragilisent fréquemment les petites exploitations. En France, pour la seule année 1999, plus de 30 000 arbres contaminés ont ainsi été arrachés. La même année, l'Espagne évalua le nombre total d'arbres détruits durant les 15 années précédentes à plus de 1 million, pour un coût global de la lutte de 50 millions d'Euros. La sharka constitue donc une menace grave pour les cultures d'arbres fruitiers du genre *Prunus*. Au delà des approches de lutte prophylactique décrites ci-dessus, la lutte durable contre cette importante maladie passe par la création de variétés résistantes, qui est aujourd'hui au plan international un objectif essentiel de l'amélioration des *Prunus*.

I- Sélection génétique de variétés d'abricotiers et de pêchers résistantes à la sharka

Des travaux entrepris depuis de nombreuses années à l'INRA ont permis d'identifier quelques sources de résistance, notamment chez l'abricotier (Tableau 1). Chez le pêcher, toutes les variétés testées se sont révélées sensibles au virus (Figure 1) (Escalettes *et al.*, 1998). Il a cependant été montré qu'un individu appartenant à l'espèce *Prunus davidiana* (espèce sauvage apparentée au pêcher) présente un niveau de résistance intéressant au PPV (Pascal *et al.*, 1998) (Tableau 1). L'INRA dans le cadre de son programme d'innovation variétale utilise depuis plusieurs années la variété 'Stark Early Orange' ('SEO') comme source de résistance à la sharka afin d'introgresser dans ses nouvelles obtentions les facteurs

de résistance qu'elle contient (Audergon *et al.*, 1994). Le cultivar 'Goldrich' a été utilisé plus récemment dans ces programmes tandis que le clone P1908 de *P. davidiana* est actuellement à l'origine d'essais d'introgression de sa résistance complexe au PPV dans le pêcher, notamment par croisement avec la variété 'Summergrand' (Pascal *et al.*, 1998).

Tableau 1 : Géniteurs de résistance identifiés chez l'abricotier, chez *Prunus davidiana* et chez le prunier et présentant un niveau de résistance intéressant au virus de la sharka.

Géniteurs ¹	Résistance au PPV	Références
Abricotiers		
Goldrich ²	Bonne	Karayannis, 2006
Harcot	moyenne	Idem
Harlayne ²	Très bonne	Idem
Henderson	moyenne	Idem
NJA2	Bonne à très bonne	Idem
NJA53 Early Blush	moyenne	Idem
Orange Red	Bonne (hypersensibilité)	Idem
Stark Early Orange (SEO) ²	Bonne à très bonne	Syrgiannidis, 1980
Stella ³	Très bonne	Syrgiannidis, 1980
Sunglo	moyenne	Karayannis, 2006
Veecot	Bonne à très bonne	Idem
Pêchers		
<i>P. davidiana</i> P1908 ²	Bonne	Pascal <i>et al.</i> , 1998
Pruniers		
Caçanska najbolja	moyenne	Wawrzynczak <i>et al.</i> , 2005
Jojo	Bonne (hypersensibilité)	Hartmann, 2002

¹ Géniteurs actuellement utilisés dans des programmes de sélection de variétés résistantes au PPV en France et en Europe. Chez l'abricotier, tous sont d'origine nord-américaine.

² Géniteur utilisé dans des programmes de sélection assistée par marqueurs (voir II- Sélection assistée par marqueurs de variétés résistantes à la sharka).

³ La variété 'Stella' présentant des anomalies florales caractéristiques et une stérilité importante est très peu utilisée dans les programmes de sélection classique en France.

Chez le prunier domestique, qui est une espèce polyploïde, des études sur le comportement vis-à-vis du virus de la sharka (PPV) ont permis de mettre en évidence plusieurs types de résistance : résistance qualitative (phénomène d'hypersensibilité) chez les cultivars 'Jojo' et 'OrtxStan34' (Hartmann, 2002; Hartmann et Neumüller, 2006) (Figure 2) et résistance quantitative chez le cv. Caçanska najbolja (Wawrzynczak *et al.*, 2005). Dans le deuxième cas, la résistance observée n'est pas totale : elle se caractérise par une accumulation réduite du virus et par l'extériorisation de peu ou pas de symptômes. Cette résistance est généralement appelée résistance partielle. Des croisements entre la variété 'Prune d'Ente' (Prune d'Agen ou Prune à Pruneaux) et le géniteur 'Jojo' ont été réalisés et ont permis l'obtention d'hybrides F1 présentant un niveau intéressant de résistance à la maladie (Decroocq et Neumüller, résultats préliminaires). La caractérisation agronomique de ces hybrides est en cours; des tests au champ (plantation de matériel sain dans des zones d'Europe de l'Est fortement infestées) et par inoculation naturelle par pucerons, en serre, devront également être réalisés afin de confirmer leur bon niveau de résistance au PPV.

Figure 1 : Symptômes précoces (décolorations et déformations foliaires) de la maladie de la sharka lors de tests de résistance en serre.



Concernant les cerisiers doux ou acide, ces espèces furent longtemps considérées comme immunes au PPV, tout au moins s'agissant des souches communes PPV-D et M. Cependant, il a récemment été montré que les cerisiers sont sensibles à une souche atypique de PPV : le PPV-C (Nemchinov et Hadidi, 1996). Cette souche apparaît spécifique au cerisier ; en conditions expérimentales, elle peut infecter le pêcher (indicateur 'GF305') ou le prunier (porte greffe 'GF8.1') mais elle ne semble pas se maintenir dans ces plantes hôtes au-delà de un ou deux mois après inoculation. Bien que l'infection de cerisiers en vergers par le PPV-C ait été décrite sporadiquement en Europe de l'Est, le risque épidémiologique que constitue cette souche est encore très mal connu.

Figure 2 : Individus issus de croisements avec le parent 'Jojo' et présentant de l'hypersensibilité (flèche gauche) ou de la sensibilité (flèche droite) lors de l'infection par le PPV. En conditions expérimentales, après greffage d'écorces infectées, les individus hypersensibles se nécrosent (plante de gauche) tandis que les individus sensibles (plante de droite) se développent normalement et présentent, un mois après infection, les symptômes caractéristiques de la maladie de la sharka. Lors d'inoculation par pucerons, les individus hypersensibles se développent normalement mais sont résistants au virus. Il est supposé que des réactions précoces, locales, d'hypersensibilité bloquent le développement du virus.

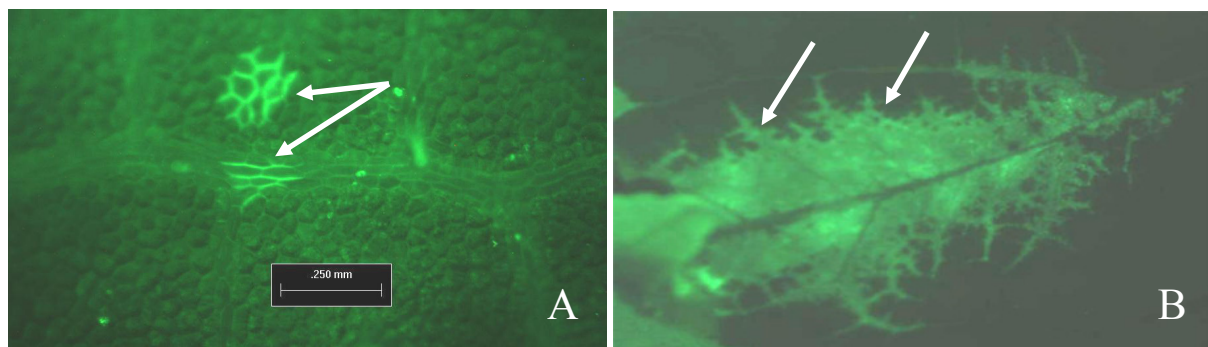


Lorsqu'une plante est infectée par un virus, la gamme de réactions observées va de la sensibilité totale, avec amplification du génome viral, invasion généralisée de la plante et extériorisation de symptômes plus ou moins sévères, à l'immunité. Entre ces deux situations extrêmes, toute une graduation de

réactions intermédiaires peut être observée : i) la tolérance, dans laquelle le virus se propage et se multiplie dans la plante hôte comme dans une plante sensible mais où les symptômes extériorisés sur feuilles ou sur fruits sont atténués, voire absents ; ii) la résistance partielle, dans laquelle l'invasion de la plante ou l'accumulation du virus vont être plus ou moins fortement réduites ; iii) la résistance totale ou immunité, dans laquelle le virus n'est pas capable d'infecter la plante hôte.

La résistance d'une plante à un agent pathogène peut être contrôlée par un ou plusieurs gènes. Dans le cas du PPV, aucune des sources de résistance actuellement disponibles ne fournit une résistance totale au virus. Nous avons en effet pu mettre en évidence la capacité du virus à se répliquer et à se déplacer au travers des vaisseaux vasculaires des abricotiers résistants, même si ces phénomènes ne se produisent que de manière occasionnelle ou à une bien plus faible ampleur que chez les hôtes sensibles (Figure 3) (Ion-Nagy *et al.*, 2006). De même, chez le *P. davidiana* P1908, des particules virales sont détectées dans les feuilles inoculées 21 jours après infection expérimentale, mais ne sont pas détectables dans les tissus non-inoculés (Marandel et Decroocq, données préliminaires). Cependant, il faut préciser qu'à la fois chez l'abricotier et chez le *P. davidiana* P1908, même si le virus peut se déplacer dans les plantes résistantes, elles ne développent jamais d'infection généralisée. Il apparaît donc que la résistance au PPV chez l'abricotier et le *P. davidiana* n'est que partielle, même si son niveau élevé permet d'envisager son utilisation pratique.

Figure 3 : Infection par le PPV chez des variétés d'abricotier partiellement résistante (A= 'SEO') ou sensible (B='Monique'). Le virus marqué avec une protéine de fluorescence verte fait apparaître en vert clair les régions infectées (voir flèches).



Des programmes d'introduction de ces résistances dans des variétés de bon niveau agronomique d'abricotiers, de pêchers et de pruniers sont en cours à l'INRA d'Avignon et Bordeaux.

Cependant, plusieurs difficultés sont apparues dans l'exploitation de ces sources de résistance : (1) l'évaluation phénotypique du niveau de résistance à la sharka chez les *Prunus* est particulièrement lourde, d'une part du fait de l'encombrement des plants et de la nécessité de travailler en conditions confinées, le PPV étant classé comme agent de quarantaine en France; et, d'autre part, du fait du caractère partiellement aléatoire de l'expression de symptômes et de la répartition du virus dans la plante, qui impose de tester plusieurs fois chaque génotype sur plusieurs cycles de végétation pour obtenir des résultats fiables ; (2) les premiers résultats sur l'analyse de ces résistances indiquent que leur déterminisme génétique est polygénique et complexe (Vilanova *et al.*, 2003; Decroocq *et al.*, 2005; Lambert *et al.*, 2007); (3) les sources de résistance sont des cultivars mal adaptés aux conditions de culture françaises (cultivars 'SEO' ou 'Stella' chez l'abricotier...) voire même une espèce sauvage apparentée dans le cas de *P. davidiana* et du pêcher.

Dans ce contexte, la mise en œuvre d'approches de sélection assistée par marqueurs (SAM) apparaît indispensable afin de faciliter et d'accélérer les programmes de création de variétés résistantes. Ces efforts seront d'autant plus efficaces que des marqueurs proches des gènes de résistance ou de gènes

gouvernant d'autres caractères agronomiques d'intérêt auront été identifiés. La disponibilité de tels marqueurs servira également dans des programmes plus ambitieux et plus vastes pour une utilisation optimisée de la biodiversité chez les *Prunus* et la détection d'autres sources de résistance. Chez l'abricotier, le déterminisme génétique de la résistance apparaît plus simple que chez le *P. davidiana* P1908 : une seule région génomique (appelée également QTL pour 'Quantitative Trait Locus') portée par le chromosome 1 explique entre 60 et 70% de la résistance au PPV. Les premiers essais de mise en œuvre de la SAM pour la résistance au virus de la sharka sont donc engagés chez cette espèce.

II- Sélection assistée par marqueurs de variétés résistantes à la sharka

L'exploitation en sélection des sources de résistance polygéniques et complexes identifiées à ce jour n'est envisageable qu'avec le développement de connaissances et d'outils permettant de faciliter la compréhension des mécanismes mis en jeu, de rationaliser le choix des géniteurs en croisement et d'accélérer et améliorer l'efficacité du processus de sélection variétale. Le but des projets de l'INRA est donc d'identifier des marqueurs fiables et liés aux gènes et QTL de résistance à la sharka et de mettre en place une sélection assistée par marqueurs efficace.

Ces cinq dernières années, nous avons cloné les équivalents chez les *Prunus* de plus d'une centaine de gènes candidats impliqués dans la résistance aux virus chez d'autres espèces cultivées ou modèles (analogues de gènes de résistance et de défense, facteurs de résistance et de sensibilité aux virus...). Certains de ces gènes co-localisent avec les régions du génome contrôlant la résistance quantitative au PPV chez *Prunus davidiana* (Decroocq *et al.*, 2005; Lalli *et al.*, 2005) et chez l'abricotier (Lambert *et al.*, 2007). Cependant, ces gènes candidats ne sont pas faciles d'utilisation et peu polymorphes ; ceci limite fortement leur intérêt en tant que marqueurs moléculaires pour la SAM. Afin d'optimiser l'utilisation de ces gènes candidats dans de larges populations en ségrégation et chez d'autres espèces, des marqueurs microsatellites à la fois liés à ces gènes et aux régions génomiques contrôlant la résistance ont été développés dans le cadre d'un Projet "Contrat de branche" (2006-2008) soutenu par le Ministère de l'Agriculture. Les marqueurs microsatellites présentent en effet le double avantage d'être faciles d'utilisation et d'être très polymorphes, ce qui permet de les utiliser pour l'analyse de nombreux croisements, voire de les utiliser pour l'analyse d'espèces proches de celle chez laquelle ils ont été développés. Leur cartographie dans les populations d'abricotiers a mis en évidence la co-localisation entre le QTL majeur de résistance porté par le chromosome 1 et deux de ces marqueurs moléculaires (Sicard *et al.*, 2007). D'autres marqueurs issus de la littérature ou de travaux similaires réalisés en Espagne et aux USA ont été placés sur les cartes génétiques de l'abricotier et du croisement pêcher x *P. davidiana* et certains apparaissent également liés à la résistance au PPV chez l'abricotier (Soriano *et al.*, sous presse ; Lalli *et al.*, sous presse ; Lambert *et al.*, 2007) et chez *Prunus davidiana* (Marandel et Decroocq, résultats préliminaires). L'organisation génomique détaillée de la région contribuant à la part la plus importante de la résistance au PPV chez l'abricotier est en cours ; ceci devrait permettre le séquençage complet de ce locus et, à terme, l'identification du ou des gène(s) de résistance au PPV impliqués.

Les marqueurs moléculaires décrits ci-dessus seront validés dans d'autres populations issues de croisements intra-spécifiques d'abricotiers ou de pêchers, et sur des populations interspécifiques issues de croisements entre des cultivars de pêcher et le clone P1908 de *P. davidiana*. Certaines de ces populations sont actuellement en cours d'analyse à l'INRA d'Avignon ou dans d'autres pays européens (Espagne, République tchèque). De plus, chez l'abricotier, suite à l'identification de marqueurs moléculaires co-ségrégant avec la résistance au PPV chez 'Stark Early Orange' ('SEO') et 'Goldrich' (Soriano *et al.*, sous presse ; Lalli *et al.*, sous presse ; Sicard *et al.*, 2007 ; Lambert *et al.*, 2007), la prochaine étape sera de caractériser le matériel disponible dans les collections de variétés pré-sélectionnées et d'exploiter de nouvelles sources de résistance à la sharka. Pour cela, dans le cadre d'un projet (2006-2007) soutenu par Viniflor, les marqueurs moléculaires seront testés à l'INRA

d'Avignon sur les hybrides dérivés de 'SEO' et dont le comportement agronomique est en cours d'étude. Des hybrides en cours d'évaluation multilocale dans le dispositif d'étude de comportement reposant sur les unités expérimentales INRA et/ou dans les dispositifs Niveaux I et II de la charte d'expérimentation fruitière sont en effet potentiellement porteurs de ces facteurs de résistance. Il est donc prévu d'y rechercher systématiquement la présence des marqueurs associés à la résistance chez la variété 'SEO' afin de privilégier la sélection de variétés résistantes dans une logique de sélection assistée par marqueurs.

Au terme de ce travail, nous proposerons un lot de marqueurs pouvant être utilisés dans un schéma de pré-sélection d'individus ou de variétés portant au moins le/les QTL majeurs de résistance au PPV (Sicard *et al.*, 2007). Le projet européen « SharCo », qui vient d'être retenu dans le cadre du 7^{ème} PCRD et qui est coordonné par l'INRA de Bordeaux, vise à étendre d'ici 4 ans la stratégie de sélection assistée par marqueurs de variétés résistantes à une majorité de pays de l'Union Européenne et des Balkans. Dans un contexte de libre échange et de régions où la maladie est actuellement endémique (Balkans, pays de l'Europe de l'Est), la lutte contre la maladie de la sharka se doit en effet de prendre une dimension nouvelle, européenne, afin d'être efficace et durable.

Chez l'abricotier, outre les géniteurs 'SEO' et 'Goldrich', d'autres sources de résistance sont proposées ('Stella', 'Harlayne' et potentiellement 'OrangeRed') ; le déterminisme génétique de ces résistances est actuellement en cours d'analyse. Ainsi, dans le cas du géniteur potentiel 'Harlayne', une population F1 issue du croisement 'Harlayne' x 'Marlen' et comprenant 153 individus est à l'étude à l'INRA de Bordeaux, en collaboration avec le CRI (République Tchèque). Ces travaux visent à vérifier si les déterminants génétiques de la résistance présente chez 'Harlayne' sont identiques à ceux mis en évidence chez d'autres cultivars résistants, tels 'SEO' ou 'Goldrich'. Dans l'affirmative, les données obtenues confirmeront la robustesse de cette résistance complexe. Dans le cas contraire, l'identification de régions génomiques distinctes contribuant à la résistance sera très intéressante dans la perspective de cumuler différentes sources de résistance au sein d'un même fond génétique.

D'autre part, certaines variétés classées sensibles au PPV portent en fait des facteurs de résistance partielle. C'est le cas de la variété 'Scréara', comme décrit par Ion-Nagy *et al.* (2006), chez laquelle le virus est capable de coloniser les tissus non inoculés mais où sa propagation en dehors des vaisseaux conducteurs (mouvement de cellule à cellule) et/ou sa multiplication dans les cellules de l'hôte sont limitées. De telles résistances partielles peuvent être cumulées avec celles de niveau plus élevé présentes chez 'SEO', 'Goldrich' et 'Harlayne'. Cette étape de pyramidage des résistances sera accélérée par l'utilisation des marqueurs microsatellites liés au QTL majeur de résistance présent chez 'SEO' et 'Goldrich'. Les hybrides résistants seront évalués en comparaison avec les géniteurs portant la résistance de niveau le plus élevé ('SEO', 'Goldrich', 'Harlayne'), par inoculation avec un panel d'isolats du PPV.

Chez le pêcher, une nouvelle population F2 issue d'un individu F1 cumulant la majorité des allèles favorables de *P. davidiana* est en cours d'élaboration. Elle servira de base pour les rétro-croisements suivants, afin de conserver un maximum de régions du génome impliquées dans la résistance complexe au PPV tout en ré-introduisant graduellement les éléments du génome du pêcher contrôlant la qualité du fruit et d'autres traits agronomiques importants absents chez *P. davidiana*.

III- Accroissement de la diversité génétique de la résistance au virus de la sharka

Malgré les progrès décrits ci-dessus, il faut noter que la base génétique de la résistance au PPV chez les *Prunus* est étroite. La difficulté majeure vient du nombre limité de sources de résistance identifiées à ce jour chez les différentes espèces (voir ci-dessus Tableau 1). Chez l'abricotier, tous les géniteurs actuellement identifiés par les différents programmes de sélection sont d'origine nord-américaine et ont

donc potentiellement une origine unique. Pour limiter le risque d'apparition de souches virales capables de contourner les quelques sources de résistance disponibles, il serait important d'enrichir cette base génétique, en identifiant ou en introduisant des mécanismes de résistance encore inconnus chez ces espèces pérennes. De fait, d'autres sources de résistance que celles décrites ci-dessus sont suspectées mais, étant de déterminisme monogénique récessif ou polygénique, elles sont difficiles à mettre en évidence et à identifier. Aussi, l'INRA a décidé de porter plus d'efforts sur la compréhension des déterminants génétiques de l'interaction entre le PPV et ses plantes hôtes, afin de tenter d'identifier de tels mécanismes de résistance qui n'étaient pas soupçonnés jusqu'à présent chez les *Prunus*.

Le besoin de progresser du côté « plante » et la difficulté de le faire sur les arbres fruitiers (cycle long, encombrement des arbres, etc...) nous a incités à évaluer la faisabilité d'utiliser la plante modèle *Arabidopsis thaliana* pour l'étude des interactions plantes-PPV. Des études préliminaires ont indiqué que le PPV est capable d'infecter cette espèce puis ont révélé une diversité phénotypique élevée des interactions *A. thaliana* – PPV (Decroocq *et al.*, 2006), allant d'une sensibilité totale avec expression de symptômes à une résistance totale, en passant par de situations d'infection sans symptômes ou de blocage du processus d'envahissement de la plante (Tableau 2 ci-dessous). Plusieurs isolats de PPV appartenant à 4 souches virales ont été évaluées sur une collection de 24 autres accessions d'*A. thaliana* sélectionnées pour représenter 96% de la diversité génétique de cette espèce (O. Sicard, rapport de doctorat de l'Université Victor Ségalen Bordeaux 2, Novembre 2007).

Tableau 2 : Exemples de comportement de différentes variétés (accessions) d'*A. thaliana* lors d'infection par le virus de la sharka. (Données issues de Decroocq *et al.* (2006), Decroocq V. (Rapport d'Habilitation à Diriger des Recherches, Mai 2007, Université Victor Ségalen Bordeaux 2) et Sicard O. (Rapport de doctorat de l'Université Victor Ségalen Bordeaux 2, Novembre 2007)).

Isolat de PPV Accession	R (souche D)	PS (souche M)	SoC (souche C)	EA (souche EI Amar)
Ler	Sensible, symptômes forts	Sensible, sans symptômes	Résistance totale	Sensible, sans symptômes
Nd	Sensible, sans symptômes	Résistante	Blocage de la généralisation de l'infection	Blocage de la généralisation de l'infection
C24	Sensible, symptômes forts	Sensible, sans symptômes	Résistance totale	Sensible, symptômes forts
Bay-0	Sensible, symptômes forts	Blocage de la généralisation de l'infection	Résistance totale	Blocage de la généralisation de l'infection
Col-0	Sensible, symptômes faibles	Blocage de la généralisation de l'infection	Résistance totale	Blocage de la généralisation de l'infection
Cvi-1	Sensible, sans symptômes	Blocage de la généralisation de l'infection	Résistance totale	A préciser
8AV	Blocage de la généralisation de l'infection	Blocage de la généralisation de l'infection	Résistance totale	Blocage de la généralisation de l'infection

L'interaction compatible (invasion généralisée de plante accompagnée ou non de l'extériorisation de symptômes) apparaît généralement spécifique d'une souche et/ou d'une accession, ce qui ouvre des voies d'étude tant au niveau de la plante hôte qu'au niveau du virus. Plusieurs gènes de plantes conférant des résistances ont ainsi pu être identifiés et, pour certains, cartographiés. Ces gènes sont impliqués soit dans la résistance au PPV (blocage de l'envahissement de la plante), soit dans le développement de symptômes en réponse à l'infection virale. Les homologues de ces nouveaux gènes de résistance au PPV pourront, à terme, être recherchés chez les plantes hôtes pérennes, ouvrant ainsi la voie à l'identification de nouveaux facteurs de résistance chez les *Prunus*.

Par une approche de génétique inverse, nous avons également montré que, chez *A. thaliana*, le PPV détourne à son profit pour se multiplier et/ou pour se propager des protéines normalement impliquées dans la machinerie de traduction de la plante hôte (protéines eIF(iso)4E et eIF(iso)4G) (Decroocq *et al.*, 2006; Nicaise *et al.*, 2007). Chez certaines plantes ayant des formes variantes de l'un ou l'autre de ces gènes, ce 'piratage' de la machinerie cellulaire par le virus n'est plus possible et l'on observe alors une résistance totale et récessive à l'infection par le PPV. Le virus n'est alors détecté ni dans les feuilles inoculées, ni dans la plante entière. Les connaissances sur ce mécanisme original de résistance sont en cours de transfert vers les *Prunus*. Notre hypothèse de travail est qu'il existe également au sein de la diversité des *Prunoideae* des plantes possédant de tels allèles variants qui ne sont plus capables d'interagir avec le virus. Nos efforts portent donc sur l'identification de ces individus par des approches de génotypage à moyen ou haut débit. Les homologues des gènes *eIF4E* et *eIF4G* d'*Arabidopsis* ont été clonés chez le pêcher et l'abricotier et des formes variantes de ces gènes sont maintenant recherchées au sein des collections de *Prunoideae* représentant la diversité génétique de ces espèces (CRG Centre de ressources génétiques de l'INRA Bordeaux et Avignon, ARS-USDA National Repository –USA-, Collection du Nikita Garden –Ukraine- dont une partie est disponible auprès de l'Université de Brno -République Tchèque-, collections nationales espagnoles et turques).

Ces travaux menés actuellement sur les facteurs identifiés chez *A. thaliana* et contrôlant une résistance récessive au PPV illustrent parfaitement le concept de portabilité des résultats entre modèles d'interaction plante-potyvirus. Dans le cas de résistance récessive, il s'agit *a priori* de facteurs cellulaires nécessaires à l'accomplissement du cycle infectieux, de la réplication virale et/ou du mouvement du virus dans la plante. Il est donc indispensable d'évaluer la diversité de ces gènes et de leurs différents allèles chez les *Prunus*. Ces études révèlent dès à présent des fonctions et gènes de l'hôte exploités par le virus de la sharka, qui constituent autant de nouvelles sources de résistance potentiellement exploitables chez les arbres fruitiers.

Conclusion

L'utilisation de cultivars de pêchers, abricotiers et pruniers résistants au virus de la sharka serait un moyen de contrôler cette terrible maladie en pépinières et en vergers et de limiter son impact sur la production de fruits à noyaux. Le développement de marqueurs moléculaires liés aux différents locus de résistance devrait aboutir à la mise en place de la sélection assistée par marqueurs (SAM) d'allèles de résistance favorables et conduire à une augmentation progressive de la fréquence de ces allèles dans les populations de sélection, contribuant au progrès génétique. A terme, cette approche devrait déboucher sur l'obtention de variétés présentant de bonnes qualités agronomiques et des résistances de haut niveau au PPV. Des approches complémentaires à la sélection conventionnelle de matériel résistant et à la SAM sont en cours, l'objectif étant ici d'élargir le potentiel génétique de la résistance chez les différentes espèces fruitières sensibles à la maladie de la sharka.

Remerciements

Ces recherches se font en partenariat entre des chercheurs et ingénieurs du groupe Fruits du GAP (département de recherche Génétique et Amélioration des Plantes de l'INRA, en particulier l'UMR GDPP à Bordeaux et l'UGAFL, en Avignon) mais aussi du département SPE (Santé des Plantes et Environnement, UMR GDPP à Bordeaux et BGPI à Montpellier).

Les auteurs remercient la direction scientifique « Plante et Produits du Végétal » de l'INRA (projet 'jeune équipe' 2002-2004), le ministère de l'Agriculture (projet contrat de branche C05/31 2006-2008), le groupement interprofessionnel Viniflor (#24000044) (2006-2007) et le ministère des affaires étrangères (projets bilatéraux PICASSO France-Espagne 11023ZA et BARRANDE France-République Tchèque 10690YC) pour leur soutien financier. Le projet européen « SharCo » a été sélectionné en réponse à l'appel d'offre ciblée « KBBE-2007-1-4-10: Containment of Sharka virus in view of EU-expansion ». Il implique un consortium de 12 partenaires européens issus de 9 pays de l'Union Européenne ainsi que des partenaires turcs, serbes et américains.

Références bibliographiques

- Audergon J.M., Dosba F., Karayiannis I., Dicenta F., 1994. Amélioration de l'abricotier pour la résistance à la sharka. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 1994. 24:741-748.
- Decroocq V., Foulongne M., Lambert P., Le Gall O., Martin C., Pascal T., Schurdi-Levraud V., Kervella J., 2005. Analogues of virus resistance genes map to QTLs for resistance to sharka disease in *Prunus davidiana*. Mol. Genet. Genomics 272:680-689.
- Decroocq V., Sicard O., Alamillo J.-M., Lansac M., Eyquard J.-P., García J.-A., Candresse T., Le Gall O., Revers F., 2006. Multiple resistance traits control PPV infection in *Arabidopsis thaliana*. Mol. Plant-Microbe Interact. 19: 541-549.
- Escalettes V., Dosba F., Lansac M., Eyquard J.-P., 1998. Genetic resistance to *Plum Pox Potyvirus* in peaches. Acta Hort. 465:689-698
- Glasić M., Palkovics L., Kominek P., Labonne G., Pittnerova S., Kudela O., Candresse T., Subr Z., 2004. Geographically and temporally distant natural recombinant isolates of Plum pox virus (PPV) are genetically very similar and form a unique PPV subgroup. J. Gen. Virol. 85:2671-2681.
- Hartmann W., 2002. The importance of hypersensitivity for breeding plums and prunes resistant to *Plum pox virus* (Sharka). Acta Hort. 577:33-37.
- Hartmann W., Neumüller M., 2006. Breeding for resistance: breeding for *Plum pox virus* resistant plums (*Prunus domestica* L.) in Germany. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 36:332-336.
- Ion-Nagy L., Lansac M., Eyquard J.P., Salvador B., Garcia J.A., Le Gall O., Hernould M., Schurdi-Levraud V., Decroocq V., 2006. PPV long-distance movement is occasionally permitted in resistant apricot hosts. Virus Research 120:70-78.
- James D., Varga A., 2005. Nucleotide sequence analysis of *Plum pox virus* isolate W3174: Evidence of a new strain. Virus Research 110: 143-150.
- Karayiannis I., 2006. Breeding for resistance. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 36:319-322.
- Lalli D., Decroocq V., Blenda A., Schurdi-Levraud V., Garay L., Le Gall O., Damsteegt V., Reighard G., Abbott A., 2005. Identification and mapping of resistance gene analogs (RGAs) in *Prunus*: a resistance map for *Prunus*. Theor. Appl. Genet. 111:1504-1513.
- Lalli D. A., Abbott A.G., Zhebentyayeva T.N., Badenes M.L., Damsteegt V., Polák J., Krška B., Salava J. Genetic Linkage Map for an Apricot (*Prunus armeniaca* L.) BC1 Population Mapping *Plum Pox Virus* Resistance. Tree Genet. Genomes (sous presse)
- Lambert P., Dicenta F., Rubio M., Audergon J.M., 2007. QTL analysis of resistance to sharka disease in the apricot (*Prunus armeniaca* L.) 'Polonais' × 'Stark Early Orange' F1 progeny. Tree Genet. Genomes DOI 10.1007/s11295-006-0069-6.
- Nemchinov L., Hadidi A., 1996. Characterisation of the sour cherry strain of plum pox virus. Phytopathology 86: 575-580.

- Nicaise V., Gallois J-L., Chafiai F., Allen L.M., Schurdi-Levraud V., Browning K.S., Candresse T., Caranta C., Le Gall O., German-Retana S., 2007. Coordinated and selective recruitment of eIF4E and eIF4G factors for potyvirus infection in *Arabidopsis thaliana*. FEBS Letters 581(5): 1041-1046.
- Pascal T., Kervella J., Pfeiffer F., Sauge M.H., Esmenjaud D., 1998. Evaluation of the interspecific progeny *Prunus persica* cv. Summergrand x *Prunus davidiana* for disease resistance and some agronomic features. Acta Hort. 465:185-192.
- Sicard O., Marandel G., Soriano J.M., Lalli D.A., Lambert P., Salava J., Badenes M.L., Abbott A., Decroocq V., 2007. Flanking the major *Plum pox virus* resistance locus in apricot with co-dominant markers (SSRs) derived from candidate resistance genes. Tree Genet. Genomes DOI b10.1007/s11295-007-0114-0.
- Soriano J.M., Vera E.M., Vilanova S., Martínez-Calvo J., Llácer G., Badenes M.L., Romero C. Identification and mapping of a locus conferring *Plum Pox Virus* resistance in two apricot improved linkage maps. Tree Genet Genomes (sous presse).
- Syrgiannidis G., 1980. Selection of two apricot varieties resistant to Sharka virus. Acta Phytopatho Acad Scientiarum Hungaricae 15:85-87.
- Vilanova S., Romero C., Abbott A.G., Llácer G., Badenes M.L., 2003. An apricot (*Prunus armeniaca*) F2 progeny linkage map based on SSR and AFLP markers, mapping *Plum pox virus* resistance and self-incompatibility. Theor. Appl. Genet. 107:239-247.
- Wawrzynczak D., Kowalczyk K., Decroocq V., Malinowski T., Jakubowski T., Michalczyk L., 2005. Search for molecular markers of sharka resistance in *Prunus domestica*. Phytopathologia Polonica 36: 91-96.
- Wetzel T., Candresse T., Ravelonandro M., Delbos R.P., Hazyad H., Aboul-Ata A.E., Dunez J., 1991. Nucleotide sequence of the 3'-terminal region of the RNA El Amar strain of plum pox potyvirus. J. Gen. Virology 72: 1741-1746.