THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO

En Biologie, Interactions, Diversité Adaptative des Plantes (BIDAP)

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau
Portée par l'Université de Montpellier

Unité de recherche LEPSE et BGPI
Laboratoire d'Écophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux
Biologie et Génétique des Interactions Plante-Parasite

Réponse d'*Arabidopsis thaliana* au *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) en condition de déficit hydrique : phénotypage à haut débit de la croissance, étude des stratégies écologiques des plantes, des traits viraux et de leurs relations.

Présentée par **Sandy BERGES**
Le 4 décembre 2019

Sous la direction de **Dr. Denis VILE et Dr. Manuella van MUNSTER**

Devant le jury composé de

Sylvie GERMAN-RETANA, DR, INRA, UMR Biologie du Fruit et Pathologie, Bordeaux.	**Rapporteur**
Nicolas LANGLADE, DR, INRA, Laboratoire des Interactions Plantes Micro-organismes, Toulouse.	**Rapporteur**
Benoit MOURY, DR, INRA, Unité de Pathologie Végétale, Avignon.	**Examinateur**
Chloé DELMAS, CR, INRA, Santé et Agroécologie du vignoble, Bordeaux.	**Examinatrice**
Thierry SIMONNEAU, DR, INRA, Laboratoire d'Écophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux, Montpellier.	**Président du jury**
Denis VILE, CR, INRA, Laboratoire d'Écophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux, Montpellier.	**Directeur de thèse**
Manuella van MUNSTER, CR, INRA, Biologie et Génétique des interactions Plante-Parasite, Montpellier.	**Co-encadrante**

“*We must be the change we wish to see in the world”- Gandhi*

Remerciements

Quand vient le moment d'écrire les remerciements, c'est là que tu prends conscience que c'est bientôt la fin d'une longue période remplie de beaucoup d'émotions pouvant être contradictoires mais surtout la fin d'un super projet entouré de personnes bienveillantes, présentes dans les bons et mauvais moments. L'aboutissement de ce projet marque aussi pour moi le commencement d'une nouvelle vie...

Je tiens tout d'abord à remercier **Sylvie German-Retana**, **Nicolas Langlade**, **Benoit Moury**, **Chloé Delmas** et **Thierry Simonneau** pour avoir accepté de consacrer du temps à l'evaluation de mon travail, ainsi que **Véronique Brault**, **Irène Hummel, Laurence Marques**, **Fréderic Fabre** et **Angélique Christophe** pour leur aide et conseils précieux lors de mes comités de thèse.

Je tiens sincérement à remercier mon directeur **Denis**, sans qui cette thèse n'aurait pas pu être possible. Merci pour la confiance que tu m'as accordée lors de cette thèse (et lors de mon M2) mais aussi pour cette grande autonomie que tu m'as laissé et qui m'a permis de confirmer que j'étais capable de gérer des projets de A à Z, avec bien sur des aiguillages nécessaire pour éviter de dérailler. Tu as accepté que je fasse partie de ce projet, même en connaissant mes choix futurs, et tu as su dompter la bête (ce n'était pas gagné d'avance ;) ! Merci encore pour ton aide immense sur les analyses de données (je peux presque dire maintenant : vive R), sur la rédaction des articles mais aussi pour ton exigence et ton écoute. Outre le cadre du travail, je te remercie également pour tous les moments passés ensemble et j'espère que tu viendras faire un tour au Lac du Salagou, à la ferme des 4 vents ;) !

Je tiens également à remercier mon encadrante, **Manuella**. Merci pour ton aide indiscutable sur les experiences de bio mol, mais aussi avec Mr le puceron et durant la lourde tâche de la rédaction. Merci de m'avoir transmis toutes tes connaissances sur les vecteurs et les virus. Desolée encore pour toutes ces relations significatives ou non, mais comme tu le dis si bien, ce n'est pas ce genre de relation que tu apprécies ! Tu es une personne qui partage la même vision de la vie que moi et toutes les angoisses pour l'avenir.. et j'ai vraiment apprécié toutes nos discussions. Je t'attend aussi à la ferme des 4 vents et n'oublie pas de prendre tes p'tits vers de compet !

Ce travail n'aurait pu exister sans l'aide et l'accueil chaleureux des personnes du LEPSE. En particulier, sans l'aide de l'équipe SPIC. Merci à **Myriam**, qui m'a permis d'acquérir toutes les connaissances pour controler Phenopsis, robot qui n'est pas toujours bien sympa ;) ! Merci d'avoir été disponible et mis en œuvre des solutions dans les mauvais moments. **Alex**, merci pour ton aide, ta disponibilité, mais surtout merci pour tes blagues et ton rire magique. **Gaelle**, merci aussi pour ton aide dans tous les domaines et au fil du temps, j'ai su apprecier nos discussions « jardin ». Merci à **Cécilia**, qui m'a apporté un peu d'Argentin dans ma thèse. Merci à **MC** et **MF** pour leur sourire, leur aide administrtive précieuse, et leur soutien. Et bien sur, merci à mes stagiaires, **Rémy**, **Léa**, **Lucila** et **Anais**. J'espere que vous avez passé des bons moments et que ces stages vous ont permis de vous découvrir ou non, une passion pour la recherche. Bonne continuation à vous tous.

Avec un sujet plante-virus, on doit nécessairement passer par deux labos ! Je remercie donc BGPI et plus particulièrement l'équipe VIP. Merci pour votre accueil, même si je n'étais pas

souvent présente, j'ai bien apprecié ces petits moments et les séminaires à Aussois. Mais surtout, un grand merci à **Mich-Mich**, tu es une personne super ! Merci pour ton aide précieuse.

Merci aussi à toutes les personnes que je n'ai pas citées et qui m'ont permis de rendre le quotidien du labo plus agréable. Merci pour ces moments de détente, de volley, de jeux et bien sur de pétanque !

Puis, il y a ceux pour qui c'est différent, avec qui on partage plus que « du boulot ». Notre bureau c'est vraiment un petit aquarium plein de vie et de rire. Je suis la dernière thésarde vivante de ce bureau…merci à **Margaux**, *alias* Monique, pour ces moments de début de thèse passés en ta compagnie… merci à **Maeva**, tu m'auras bien fait rire avec ton caractère tête en l'air, mais aussi pour nos discussions plus sérieuses sur nos changements de vie… merci à **Agathe**, même si je te faisais peur parfois (je ne suis toujours pas passée à l'acte, promis !), je sais que tu as apprécié mon vocabulaire et qu'il t'en reste encore quelques mots. En tout cas, ta bonne humeur et même des fois ton hyperactivité m'a permis de passer des supers moments en ta compagnie. C'était agréable de pouvoir se soutenir et cracher notre venin quand c'était nécessaire ;)…merci à **Romain**, très présent sur la dernière année, qui m'a permis de décompresser tous les midis avec quand même une pointe de rivalité sur les jeux, ahah ! J'espere que tu arriveras à trouver ta voie, car tu le mérites et tu as toutes les qualités pour réussir ! Et enfin, le meilleur pour la fin (ou pas :p), **Diane**, ma partenaire de master, de stage, d'expé, de jeux, de swing, de ralage, de pétage de cable, de boissons, de moules, et j'en passe… merci pour ta présence, ton écoute, ton aide, pour tous les moments passés au labo ou à l'extérieur. On continuera à se parler dans les escaliers ou les couloirs, à 100 m l'une de l'autre ! Ça n'a pas toujours été le grand amour entre nous deux, mais on a su se découvrir des points en commun et finalement, tu es devenue une vraie amie ! Je ne vais pas trop en dire sinon tu ne vas plus te sentir et tu vas vouloir me faire des calins « made in Diane ». En tout cas, tout comme Romain, je te souhaite de trouver ta voie, mais avec ta rigeur, ton exigence et ta persévérance, je ne me fais pas de doute, aies confiance en toi !

Merci à ma famille, **Caroline, Annick, Sophie** et **Herman…** Merci à toutes mes amies, **Léa**, **Fanny**, **Chloé**, **Virginie**, **Anaelle**, **Aude**, **Florie** que vous soyez à 1000 km ou 50 km (oui oui, c'est loin Le Puech maintenant !), j'ai spécialement une place pour vous dans mon cœur.

Je tiens aussi à remercier une personne très importante dans ma vie, qui m'a donné toutes les clés en main pour appréhender ma vie d'adulte, et qui m'a transmise ses qualités de rigeur, d'éxigence, de confiance en soi, d'écoute.. merci **maman**. Tu m'as toujours fait confiance et tu as tout fait pour je puisse m'épanouir, et aller jusqu'au bout des mes choix et envies tout en sacrifiant parfois ta vie. Grâce à ton éducation, je suis fière de la personne que je suis devenue, même si je sais que mon caractère n'est pas toujours facile pour les autres… Je t'aime très fort.

Enfin, je remercie **Anne-Cécile** *alias* mon ninou, mon pilier depuis 4 ans. Le métier de la recherche ne m'a pas seulement permis d'être la personne que je suis maintenant, il m'a surtout permis de rencontrer une personne formidable, qui m'apporte tout l'amour dont j'ai besoin au quotidien, mais aussi la joie, les rires, le soutien et l'écoute. Bravo à toi de supporter mes coups de gueule et mon caractère de cochon, mais au fond je sais que tu m'aimes un peu pour ça ;). Tu partages exactement la même vision que moi de la vie et jamais je n'aurais pu penser rencontrer ma moitié, mon ame sœur.. J'ai hate qu'on commence notre petite vie au sein de notre petite ferme. Merci pour tout mon petit ninou..❤

Productions scientifiques

√ Publications

Bergès S. E., Vile D., Vazquez-Rovere C., Blanc S., Yvon M., Bédiée A., Rolland G., Dauzat M., & van Munster M. (2018). Interactions between drought and plant genotype change epidemiological traits of *Cauliflower mosaic virus*. *Frontiers in plant science*, 9:703.10.3389/fpls.2018.00703

√ Communications

Bergès S.E., Vile D., van Munster M. (2016). Effet d'un stress hydrique sur l'épidémiologie d'un virus non circulant, le *Cauliflower mosaic virus* et adaptation des plantes à la sècheresse. 8th Edition du Printemps de Baillarguet, Montferrier-Sur-Lez - France. [Oral]

Bergès S.E., van Munster M., **Blanc S., Yvon M., Vazquez-Rovere C., Vile D.** (2017). Epidemiological traits of the *Cauliflower mosaic virus* under artificial drought. 16èmes Rencontres de Virologie Végétale (RVV). Aussois - France. [Poster]

Bergès S.E., Vile D., Yvon M., Bédiée A., Rolland G., Dauzat M., & van Munster M. (2019). Plant-virus-vector interactions under water deficit. Relationships between epidemiological traits of the *Cauliflower mosaic virus* and *Arabidopsis thaliana* growth-related traits under artificial drought. 17èmes Rencontres de Virologie Végétale (RVV). Aussois - France. [Oral]

Activités transversales complémentaires

√ Missions d'enseignements

- Montpellier Sup Agro – Année scolaire 2016-2017

Durée = 20,5 HETP (Heure Équivalent TP) et 6 HETD (Heure Équivalent TD)

- 12,5 H de TP (Travaux Pratiques) dans le cadre de l'EU (Unité d'Enseignement) Approche intégrée de la plante : du gène au phénotype – Licence 3.
- 18 H de TP et 6 H de TD (Travaux Dirigés) dans le cadre de l'EU Démarches scientifiques – Master 1.

- Montpellier Sup Agro – Année scolaire 2017-2018

Durée = 23 HETP (Heure Équivalent TP) et 6 HETD (Heure Équivalent TD)

- 15 H de TP (Travaux Pratiques) dans le cadre de l'EU (Unité d'Enseignement) Approche intégrée de la plante : du gène au phénotype – Licence 3.
- 18 H de TP et 6 H de TD (Travaux Dirigés) dans le cadre de l'EU Démarches scientifiques – Master 1.

√ Encadrements de stagiaires

- 2018 **Rémy Dussaut.** Mars - Juillet. Master 1 IMHE-Université Montpellier. Faculté des Sciences.
- 2018 **Léa Durand.** Avril - Juin. IUT Génie Biologique Option Agronomie. Université Clermont Auvergne. Campus d'Aurillac
- 2016 **Lucila Kohan.** Mai - Juin. Master 2 IA2 Échanges internationaux. Montpellier SupAgro.
- 2016 **Anaïs Pepey.** Février - Mars. Licence 3 Université Montpellier. Faculté des Sciences.

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE ---------- - 1 -

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ---------- - 6 -

A. Stratégies des plantes dans un environnement abiotique contrasté ---------- - 7 -

1- Adaptation des plantes à leur environnement ---------- - 7 -

2- Stratégie de réponse face à un déficit hydrique ---------- 10 -

a. Plasticité du développement et de la croissance ---------- *- 13 -*

b. La sénescence, mécanisme de réallocation des ressources ---------- *- 14 -*

c. L'ajustement osmotique ---------- *- 15 -*

d. La conductance stomatique ---------- *- 16 -*

B. Réponse des plantes à leur environnement biotique ---------- - 17 -

1- Mécanismes de défense face à des agents pathogènes ---------- 17 -

a. Défense des plantes face aux micro-organismes ---------- *- 17 -*

b. Reconnaissance du vecteur par la plante hôte ---------- *- 21 -*

2- Le cas des virus ---------- 21 -

a. La transmission virale ---------- *- 22 -*

b. La virulence ---------- *- 27 -*

c. L'accumulation virale ---------- *- 28 -*

d. Le « trade-off » entre les traits viraux ---------- *- 30 -*

C. Interactions plantes / pathogènes en conditions de stress combinés ---------- - 32 -

1- Les pathogènes dans des environnements changeants : amis ou ennemis ? ---------- 32 -

a. L'effet néfaste des pathogènes sur la croissance de leur hôte ---------- *- 33 -*

b. Quand les pathogènes deviennent bénéfiques pour leur hôte ---------- *- 33 -*

2- Des moyens de défense communs des plantes face au stress abiotique et biotique ------- 35 -

a. La signalisation calcique ---------- *- 36 -*

b. Les espèces réactives de l'oxygène ---------- *- 37 -*

c. Les MAP-kinases ---------- *- 39 -*

d. La signalisation hormonale ---------- *- 39 -*

3- Interactions entre les stress abiotiques et les traits viraux ---------- 42 -

a. Modification de l'accumulation virale dans l'hôte par l'environnement ---------- *- 42 -*

b. Altération de la transmission virale suite à une modification de l'environnement abiotique ------ - 43 -

D. Le modèle *Arabidopsis thaliana / Cauliflower mosaic virus* ---------- - 45 -

1- *Arabidopsis thaliana* : plante modèle ---------- 45 -

2- Un Caulimovirus : le *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) ---------- 47 -

3- PHENOPSIS : une plateforme de phénotypage à haut débit ---------- 51 -

E. Objectifs de la thèse ---------- - 52 -

-CHAPITRE 1- ---------- - 55 -

Étude préparatoire de l'impact du déficit hydrique et de l'infection par le CaMV sur la croissance de neuf génotypes d'*A.thaliana* et sur les traits du CaMV ---------- - 55 -

***Article 1: Interactions between drought and plant genotype change epidemiological traits of Cauliflower mosaic virus* ---------- 55 -**

Abstract ---------- 57 -

Introduction ---------- 57 -

Materials and Methods ---------- 58 -

Results ---------- 61 -

Discussion ---------- 62 -

Conclusion ---------- 65 -

References ---------- 66 -

Supporting Information ---------- 68 -

-CHAPITRE 2- ---------- - 74 -

Étude de l'impact du déficit hydrique sur les réponses végétatives et reproductives de divers génotypes d'*A. thaliana* infectés par le CaMV ---------- - 74 -

***Article 2: Genetic variation of Arabidopsis thaliana responses to Cauliflower Mosaic Virus infection upon water deficit* ---------- 74 -**

Abstract ---------- 77 -

Author summary ---------- 77 -

Introduction ---------- **79 -**

Results ---------- **81 -**

Discussion ---------- **93 -**

Conclusion ---------- **98 -**

Materials and Methods ---------- **99 -**

Supporting Information ---------- **103 -**

References ---------- **114 -**

-CHAPITRE 3- ---------- **121 -**

Étude de l'impact du déficit hydrique sur les traits viraux du CaMV chez divers génotypes d'*A. thaliana* ---------- **121 -**

Article 3: Water deficit changes the relationships between viral traits of the Cauliflower Mosaic Virus across Arabidopsis thaliana genotypes ---------- **121 -**

Abstract ---------- **124 -**

Introduction ---------- **125 -**

Results ---------- **127 -**

Discussion ---------- **136 -**

Materials and Methods ---------- **139 -**

Supporting Information ---------- **145 -**

References ---------- **147 -**

DISCUSSION GENERALE ---------- **152 -**

1- Facteurs explicatifs des changements induits sur la transmission virale par un déficit hydrique ---------- **153 -**

a. Comportement alimentaire des pucerons sur des plantes en déficit hydrique ---------- *153 -*

b. L'accumulation virale ---------- *154 -*

c. La perception des voies de signalisation activées en cas de déficit hydrique ---------- *154 -*

d. Rôle de la morphologie foliaire ---------- *155 -*

2- Les relations entre les traits viraux ---------- **157 -**

3- Stratégies écologiques des plantes infectées par le CaMV ---- 160 -

4- La tolérance des plantes à l'environnement en contexte d'infection virale ---- 162 -

CONCLUSION ET PERSPECTIVES ---- 165 -

MATERIEL ET METHODE ---- 168 -

A. Matériel biologique et conditions de culture ---- 169 -

1- Matériel végétal et viral ---- 169 -

2- Le puceron vecteur : *Myzus persicae* ---- 169 -

3- PHENOPSIS ---- 169 -

4- Description du design expérimental ---- 170 -

5- Contrôle de la teneur en eau du sol ---- 172 -

B. Méthodes Générales ---- 172 -

1- Méthode d'inoculation ---- 172 -

a. *Préparation de l'inoculum du CaMV* ---- 173 -

b. *Inoculation mécanique du CaMV* ---- 173 -

2- Notation et dynamique des symptômes ---- 174 -

3- Test de transmission ---- 175 -

a. *Impact du génotype de la plante test* ---- 177 -

b. *Plantes sources en WD et effet sur la transmission virale* ---- 177 -

4- Évaluation de l'accumulation virale intra-hôte ---- 178 -

a. *Dosage immunoenzymatique (DAS-ELISA)* ---- 178 -

b. *Extraction de l'ADN total* ---- 179 -

c. *Quantification de l'accumulation virale par qPCR* ---- 179 -

5- Caractérisation phénotypique des plantes ---- 180 -

a. *Mesure de la croissance* ---- 180 -

b. *Mesure de la fitness* ---- 182 -

6- Analyses statistiques des données ---- 183 -

REFERENCES ---- 184 -

Liste des Figures et Tableaux

Synthèse bibliographique

Figure 1 | Récapitulatif des différents chapitres et objectifs incluant les traits mesurés et publications : **p.5**

Figure 2 | Représentation schématique de la théorie CSR : **p.9**

Figure 3 | Différentes stratégies d'adaptation au déficit hydrique, allant de la stratégie d'échappement à la tolérance à une déshydratation sévère : **p.12**

Figure 4 | Classes d'éliciteurs et modèle en zig-zag **: p.20**

Figure 5 | Modes de transmission des phytovirus : **p.25**

Figure 6 | Vue générale du mouvement de cellule à cellule et à longue distance du virus dans les tissus végétaux : **p.30**

Figure 7 | Événements clés de la voie de transduction du signal activés en réponse aux stress combinés biotiques et abiotiques : **p.36**

Figure 8 | Modèle représentant les interactions existantes entre un stress abiotique et un stress biotique : **p.41**

Figure 9 | Informations concernant le virus CaMV, ses symptômes, sa multiplication, son génome et sa transmission : **p.50**

Chapitre 1

Article 1: *Interactions between drought and plant genotype change epidemiological traits of Cauliflower mosaic virus*

Figure 1 | Schematic representation of the experiment and timing of measurements: **p.59**

Figure 2 | Symptom dynamics in nine *A. thaliana* accessions inoculated with CaMV and grown under two watering conditions: **p.62**

Figure 3 | Lag time and rate of CaMV symptoms appearance in nine *A. thaliana* accessions grown under two watering conditions: **p.63**

Figure 4 | Illustrative photographs of the rosettes and aboveground dry mass of nine *A. thaliana* accessions inoculated with CaMV and grown under two watering conditions: **p.64**

Figure 5 | CaMV transmission rate and accumulation in nine *A. thaliana* accessions grown under two watering conditions: **p.65**

Figure 6 | Relationship between virulence and transmission rate of CaMV in nine *A. thaliana* accessions: **p.65**

Figure S1 | Experimental design for CaMV transmission assay and qPCR experiment: **p.68**

Figure S2 | Relationship between aboveground dry mass (mg) and projected rosette area (mm^2): **p.70**

Figure S3 | Response ratios of aboveground biomass for each accession: **p.71**

Figure S4 | Relationship between virulence (response ratio of aboveground dry mass mock-inoculated under water deficit (WD)/CaMV-infected under WD condition and transmission rate of CaMV in nine *A. thaliana* accessions: **p.72**

Figure S5 | Relationship between virulence (the response ratio of aboveground dry mass mock-inoculated under WW/CaMV-infected under WD condition) and transmission rate of CaMV in nine *A. thaliana* accessions: **p.73**

Chapitre 2

Article 2: *Genetic variation of Arabidopsis thaliana responses to Cauliflower Mosaic Virus infection upon water deficit*

Figure 1 | Effects of CaMV infection and watering on growth of 39 genotypes of *A. thaliana*: **p.84**

Figure 2 | Growth and leaf morphological responses of *A. thaliana* to CaMV under well-watered and water deficit conditions: **p.85**

Figure 3 | Relationship between relative change of leaf morphological traits of CaMV-infected *A. thaliana* genotypes under well-watered and water deficit conditions: **p.87**

Figure 4 | Grime's CSR framework and response of 39 *A. thaliana* genotypes to CaMV infections under well-watered and water deficit conditions: **p.89**

Figure 5 | Relationships between leaf morphological traits, ruderality and phenology of 20 genotypes of *A. thaliana*: **p.90**

Figure 6 | Effects of CaMV infection and watering treatment on reproductive traits of 20 *A. thaliana* genotypes: **p.91**

Figure 7 | Dynamics of viral symptoms development in 20 genotypes of *A. thaliana* infected with CaMV under well-watered and water deficit conditions: **p.92**

Figure 8 | Survival rate of 20 genotypes of *A. thaliana* infected with CaMV under well-watered and water deficit conditions: **p.93**

S1 Figure | Rosette expansion rate ($mm^2\ d^{-1}$) of 39 *A. thaliana* genotypes in control condition at 8-h day length: **p.107**

S2 Figure | Relationship between relative change of aboveground dry mass (ADM) of 39 CaMV-infected *A. thaliana* genotypes: **p.108**

S3 Figure | Effects of CaMV infection and watering on leaf mass per area (LMA) of 39 *A. thaliana* genotypes: **p.109**

S4 Figure | Effects of CaMV infection and watering on leaf dry matter content (LDMC) of 39 *A. thaliana* genotypes: **p.110**

S5 Figure | Comparison of the relationships between LMA and LDMC and inherent growth rates at 8-h day length and 12-h day length: **p.111**

S6 Figure | Relationship between vegetative growth and leaf morphological traits of 39 *A. thaliana* genotypes: **p.112**

S7 Figure | Effects of CaMV infection and watering treatment on phenological traits of 20 *A. thaliana* genotypes: **p.113**

S1 Table | Geographic origin and location of Iberian *A. thaliana* populations used in this study: **p.104**

S2 Table | ANOVA (robust) analysis for aboveground dry mass (ADM) on 39 *A. thaliana* genotypes: **p.105**

S3 Table | ANOVA (robust) analysis for leaf dry matter content (LDMC) on 39 *A. thaliana* genotypes: **p.105**

S4 Table | ANOVA (robust) results for leaf mass per area (LMA) measured on 39 *A. thaliana* genotypes: **p.106**

S5 Table | ANCOVA of the relationships between LMA and LDMC and inherent growth rates at 8-h or 12-h day length: **p.106**

Chapitre 3

Article 3: ***Water deficit changes the relationships between viral traits of the Cauliflower Mosaic Virus across Arabidopsis thaliana genotypes***

Figure 1 | Effects of CaMV infection and watering treatment on growth of *A. thaliana* genotypes: **p.128**

Figure 2 | CaMV traits of *A. thaliana* genotypes under well-watered and water deficit conditions: **p.130**

Figure 3 | Relationship between transmission, accumulation or virulence of CaMV of *A. thaliana* genotypes under well-watered and water deficit conditions: **p.131**

Figure 4 | Relationship between CaMV traits of A. thaliana genotypes under well-watered and water deficit conditions: **p.133**

Figure 5 | Relationship between leaf morphological traits and transmission rate of CaMV-infected *A. thaliana* genotypes under well-watered and water deficit conditions: **p.135**

Figure S1 | Relationship between accumulation of CaMV by qPCR or ELISA method of CaMV-infected *A. thaliana* genotypes under well-watered and water deficit conditions: **p.145**

Figure S2 | Relationship between virulence and transmission rate of CaMV of *A. thaliana* genotypes: **p.146**

Discussion Générale

Figure 1 | Représentation schématique de l'ensemble des facteurs pouvant expliquer les changements induits sur la transmission virale lors d'un déficit hydrique : **p.156**

Figure 2 | Comparaison de la croissance, de la transmission et de l'accumulation du CaMV du génotype témoin Col-0 en condition optimale d'irrigation et en déficit hydrique dans trois expériences : **p.159**

Matériels et Méthodes

Figure M1 | Schématisation du trio d'organismes utilisés dans les expérimentations : **p.170**

Figure M2 | Déroulement et mesures des différentes expérimentations réalisées au cours de la thèse : **p.172**

Figure M3 | Illustration de la technique d'inoculation du virus sur les rosettes *d'A. thaliana* : **p.174**

Figure M4 | Notation de l'apparition des symptômes au cours du temps : **p.175**

Figure M5 | Design expérimental pour le test de transmission du CaMV et la qPCR : **p.176**

Figure M6 | Évaluation de l'impact du génotype des plantes tests sur la transmission virale : **p.177**

Figure M7 | Estimation de la surface projetée finale des plantes d'A. thaliana par analyse d'image : **p.182**

Figure M8 | Estimation du nombre de silique et de la taille de la hampe principale des plantes d'A. thaliana par analyse d'image : **p.182**

Tableau M1 | Séquences des amorces CaMV et des gènes de ménage utilisées lors de la qPCR : **p.180**

INTRODUCTION GENERALE

L'agriculture doit répondre à un grand nombre de défis afin de résoudre les différentes problématiques actuelles et à venir. Face à une population humaine toujours en croissance exponentielle, la sécurité alimentaire est un défi que nous devons relever tout en veillant à limiter l'impact des pratiques agricoles sur l'environnement (Bommarco et al., 2013; Tscharntke et al., 2012). En 2050, nous serons environ 9 milliards d'individus alors que les ressources naturelles de la planète s'épuisent et que les changements climatiques s'accentuent (Food and Agriculture Organisation (FAO) of the United Nations, 2018). Il va falloir produire plus mais surtout produire mieux tout en intégrant ces nouvelles contraintes. Les plantes sont soumises à des stress multiples qui peuvent avoir un impact important sur les rendements. Outre des environnements où la pluviométrie, la température, la teneur en CO_2 sont fluctuants, la pression très forte des agents pathogènes (herbivores, champignons, virus, bactéries) affecte la survie, la croissance et la production des végétaux. Les plantes sont des organismes sessiles qui ne peuvent se défendre qu'en mettant en place des mécanismes efficaces face à leur environnement biotique ou abiotique. Il est donc nécessaire d'étudier les réponses des plantes face à leur environnement notamment dans le contexte de changement climatique.

La réduction de l'utilisation de l'eau est un des enjeux majeurs de demain, notamment dans les régions qui présentent une plus grande sécheresse à cause du dérèglement climatique (Godfray et al., 2010; Tester and Langridge, 2010). Les longues périodes de sécheresse, qui sont en nette hausse ces dernières années, sont considérées comme l'une des principales contraintes qui impacte la croissance des plantes et la productivité agricole dans le monde. Les changements climatiques ont également un impact important sur l'aire de répartition des agents pathogènes des plantes (notamment par la migration des vecteurs de ces pathogènes) ce qui conduit à l'émergence de nouvelles maladies dans des régions où elles étaient jusqu'à présent absentes (Jones, 2009). De plus, l'environnement abiotique interagit fortement avec les traits importants associés aux pathogènes (virulence, transmission).

Parmi l'ensemble des agents pathogènes des plantes, les virus sont responsables de la majorité des maladies infectieuses (47%, contre respectivement 30% et 16% dû aux bactéries et aux champignons) avec des pertes significatives de productivité pouvant atteindre 30 milliards de dollars par an (Anderson et al., 2004). Le contrôle des maladies virales repose sur l'observation et un diagnostic des plants infectés, la prévention (désherbage des parcelles pour réduire les sources d'inoculum, utilisation de semences traitées, destruction rapide des plantes infectées) mais passe majoritairement par la lutte contre les insectes vecteurs à l'aide de pesticides

(Gonsalves and Garnsey, 1989; Jones, 2006). Cependant, l'agriculture de demain doit répondre à des objectifs qui ne sont plus en adéquation avec l'utilisation de pesticides chimiques néfastes à la fois pour la biodiversité et pour la santé humaine (Kim et al., 2017; Mahmood et al., 2016). L'agriculteur doit alors nécessairement avoir des clés en main pour pallier à ses problèmes et améliorer ses chances de produire suffisamment tout en intégrant les connaissances déjà acquises. Ces clés peuvent être de différents ordres, comme par exemple comprendre les interactions qui peuvent exister au sein d'un écosystème entre l'environnement, les pathogènes, les insectes vecteurs et les plantes hôtes ou bien intégrer que les réponses observées peuvent être très contrastées au sein d'un ensemble d'accessions ou de souches virales et utiliser cette diversité pour pallier à ces problèmes.

C'est pour cela que la recherche actuelle doit absolument comprendre les interactions complexes existant entre les différents acteurs impactant les plantes (virus, environnement et insecte vecteur). En effet, peu de données sont disponibles sur l'impact de l'environnement sur les virus et sur un nombre conséquent de diversité végétale même si depuis quelques années, la recherche semble prendre le chemin de ce type d'étude. On retrouve beaucoup de données sur l'impact de l'environnement sur les vecteurs (Nancarrow et al., 2014; Peñalver-Cruz et al., 2019) mais très peu sur les traits liés au virus par exemple.

C'est dans ce contexte général que s'insère ce travail de thèse qui a pour objectif de caractériser la réponse d'un ensemble de génotypes sauvages de l'espèce végétale *Arabidopsis thaliana* à l'infection par la souche virale BJ-I du *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) en condition de déficit hydrique. Ces génotypes qui proviennent d'Espagne ont été sélectionnés sur la base de leur localisation géographique qui suit un gradient latitudinal nord-sud avec de forts contrastes de pluviométrie (Alonso-Blanco et al., 2016). Les réponses étudiées dans cette thèse sont à la fois associées aux plantes (morphologie, physiologie, performance) mais aussi aux traits viraux (virulence, accumulation virale intra-hôte et transmission par vecteur) et sur les relations entre ces différents traits. Les expérimentations ont été mises en place en conditions contrôlées au sein de la plateforme de phénotypage à haut débit PHENOPSIS.

La première partie de ce manuscrit fait une synthèse bibliographique divisée en quatre parties : a) la réponse des plantes face à l'environnement abiotique et plus particulièrement face au déficit hydrique, b) la réponse des plantes aux pathogènes et de façon plus détaillée sur les interactions plantes / virus, c) les interactions plantes / pathogènes en conditions de stress

combinés, et d) le couple modèle de l'étude : *Arabidopsis thaliana* et *Cauliflower mosaic virus*. L'ensemble des résultats obtenus au cours de cette thèse ont été organisés en trois chapitres correspondant à trois articles publiés ou en cours de publication (Figure 1).

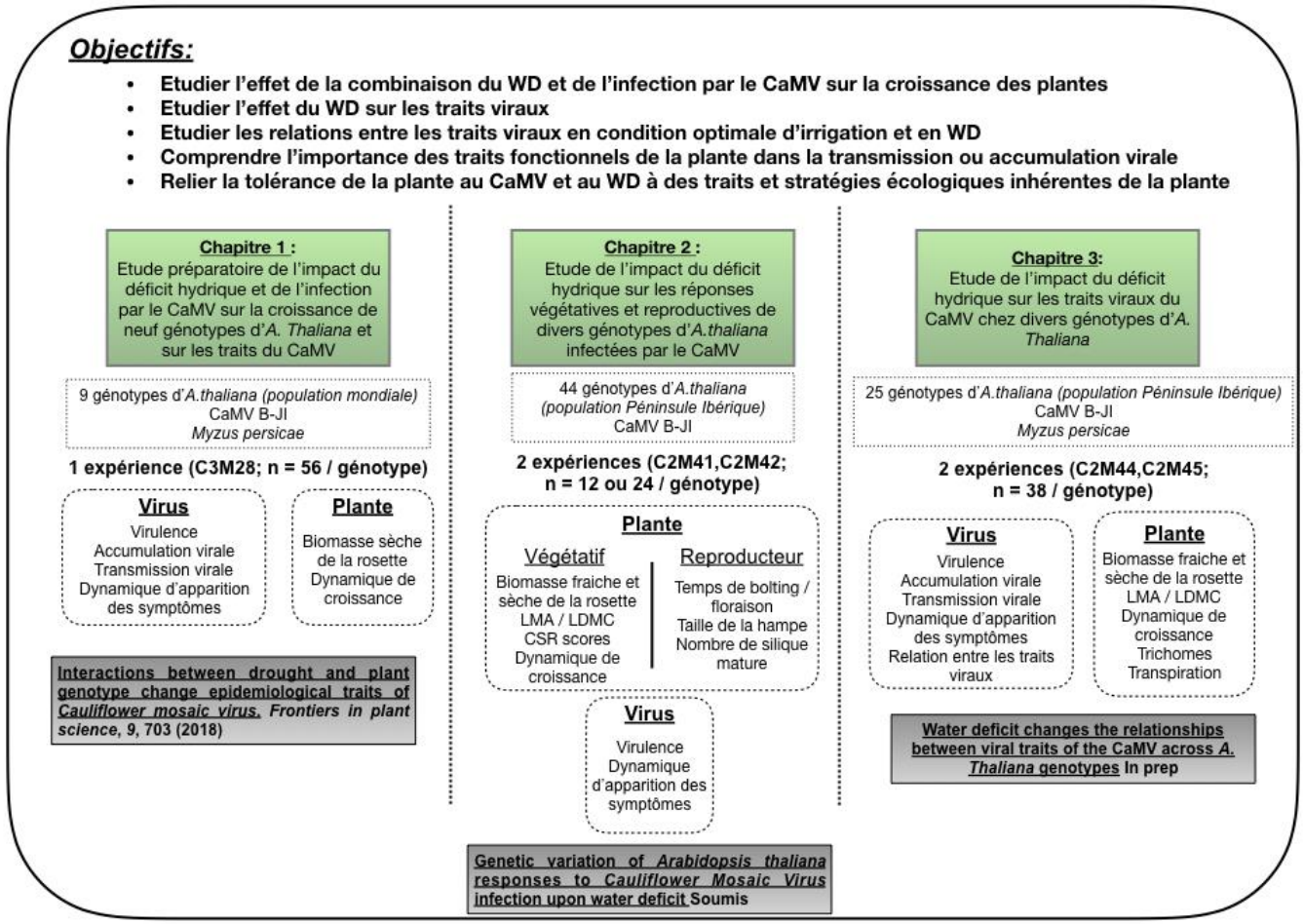


***Figure 1* : Récapitulatif des différents chapitres et objectifs incluant les traits mesurés et publications.**

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

A. Stratégies des plantes dans un environnement abiotique contrasté

1- Adaptation des plantes à leur environnement

Les plantes au sein de leur environnement mettent en place des stratégies qui peuvent être décrites comme un compromis entre l'acquisition et la conservation des ressources (Grime, 1977). À la fin des années 1970, Grime introduit la théorie C-S-R (aussi connue sous le nom de Triangle de Grime), qui classe les plantes en fonction de leur capacité à croitre sous différents niveaux de stress, de perturbation et de compétition (Grime, 1977; Wood and Franks, 2018). Dans un contexte écologique, le stress est considéré comme un facteur environnemental (sècheresse modérée, manque de nutriments ou de lumière, présence de composés toxiques) ou une combinaison de facteurs qui va réduire la croissance ou la reproduction des plantes ainsi que l'acquisition des ressources (Grime, 1977; Wilson et al., 1999). Les perturbations sont considérées comme des facteurs responsables de la destruction partielle ou totale de la biomasse végétale (i.e. le pâturage, la tonte, l'herbivorie, les pathogènes) ainsi que des phénomènes climatiques extrêmes comme un déficit hydrique sévère, le gel ou les glissements de terrain (Grime, 1977; Grime and Hunt, 1975). Le fait qu'il existe un panel d'intensité de stress ou de perturbations conduit à un ensemble de stratégies qui vont différer *via* les traits fonctionnels de la plante (Pierce et al., 2013). Ces différentes stratégies peuvent être prédites par la théorie du triangle CSR de Grime (Grime et al., 1997; Pierce et al., 2013). Selon Grime, les plantes développent des stratégies basées sur des compromis dans l'allocation des ressources, qui sont allouées préférentiellement à la croissance, à la reproduction ou au maintien des organes existants.

Selon la combinaison de niveaux de stress et de perturbations, Grime a défini trois stratégies écologiques chez les plantes : une stratégie compétitive (C), une stratégie de tolérance aux stress (S) et une stratégie rudérale (R) (Grime, 1977). La théorie du triangle des stratégies C-S-R considère qu'il n'existe pas de stratégie viable pour les plantes dans les environnements très perturbés et très stressants (Grime, 1977; Pierce et al., 2017). Les plantes tolérantes aux stress (S) sont présentes dans des environnements stressants et peu perturbés. Elles allouent préférentiellement leurs ressources à la maintenance de leurs organes et aux mécanismes de défense, par exemple contre l'herbivorie (épines, toxines...). Elles ont une faible plasticité phénotypique en réponse aux variations de la disponibilité en ressources, un faible taux de croissance relative et de bonnes capacités à conserver les ressources, caractérisées par un faible

renouvellement des organes, par exemple des feuilles persistantes à longue durée de vie, et une durée de vie longue. Elles allouent une faible proportion de leur biomasse à la reproduction et produisent un petit nombre de grosses graines. Les plantes dites rudérales (R) sont présentes dans des environnements où les ressources sont importantes (bonne fertilisation et disponibilité en eau) mais où les perturbations sont fréquentes (i.e. le labour, la tonte). Elles ont des durées de vie courtes (souvent annuelles ou bisannuelles), une petite taille, un taux de croissance relative important et une allocation très importante de la biomasse à la reproduction. Enfin, les plantes compétitives (C) sont présentes dans des habitats riches en nutriments et soumis à une faible intensité de stress ou de perturbations (Pierce et al., 2013). La stratégie compétitive se caractérise par des espèces présentant de forts taux de croissance relative, une faible production de graines et une forte allocation de biomasse à la construction de nouvelles feuilles. Elles se caractérisent également par la capacité à mettre en place rapidement de nouveaux organes d'acquisition de ressources (feuilles, racines fines) lorsque de nouvelles ressources deviennent disponibles (Figure 2).

Chaque stratégie est caractérisée par des compromis concernant l'allocation des ressources entre la croissance (tiges, feuilles, racines), la reproduction (graines principalement) et à la maintenance des organes déjà en place. Les plantes tolérantes au stress (S) comme les rudérales (R) ont des petites feuilles mais dans le premier cas, la stratégie S est de conserver les ressources au sein de la feuille alors que dans l'autre cas, la stratégie R est d'acquérir au maximum les ressources et de les utiliser pour se reproduire rapidement et de coloniser son environnement. Par conséquent, l'axe S – R est traditionnellement considéré comme un axe de variation de l'utilisation des ressources au niveau de la feuille (Díaz et al., 2016; Pierce et al., 2013). Les plantes acquisitrices ont des taux de croissance relative élevés, des teneurs en nutriments élevées, une surface spécifique foliaire (SLA) importante liée à un taux de photosynthèse élevé, des caractéristiques qui leur permettent d'acquérir rapidement les ressources et d'avoir un rapide retour sur l'investissement dans les organes d'acquisition des ressources (Díaz et al., 2016; Reich, 2014). En revanche elles ont des feuilles à durée de vie courte, une respiration intense et une forte conductance hydraulique, ce qui les empêchent de conserver les ressources d'une manière performante. Les plantes conservatrices ont des caractéristiques inverses, dont une forte teneur en matière sèche et en lignine, qui leur permettent de conserver efficacement les ressources mais ne leur permettent pas d'acquérir rapidement les ressources, elles ont donc un retour sur investissement faible (Díaz et al., 2016;

Reich, 2014). Les plantes compétitives vont investir leurs ressources dans une croissance rapide pour former de grands organes et supplanter leurs voisines afin d'être le plus compétitif possible mais en investissant peu de ressources pour la production de graines (Díaz et al., 2016; Reich, 2014). La variation le long de l'axe C reflète la variation de la taille de la plante et de l'organe, et serait utile là où les effets du stress et des perturbations sont faibles (Hodgson et al., 1999; May et al., 2017; Pierce et al., 2013) (Figure 2).

Ces différentes stratégies peuvent être estimées via des traits foliaires simple à mesurer : la surface foliaire de la feuille (LA); la surface foliaire spécifique (SLA) ou la masse foliaire par unité de surface (LMA) et la teneur en matière sèche des feuilles (LDMC) (Pierce et al., 2013, 2017; Wilson et al., 1999). Le SLA ou le LMA sont des traits qui traduisent la taille et l'épaisseur d'une feuille. Un SLA faible ou un LMA élevé (LMA = 1/SLA) traduit une morphologie des feuilles denses ou épaisses mais qui sont relativement petite et inversement.

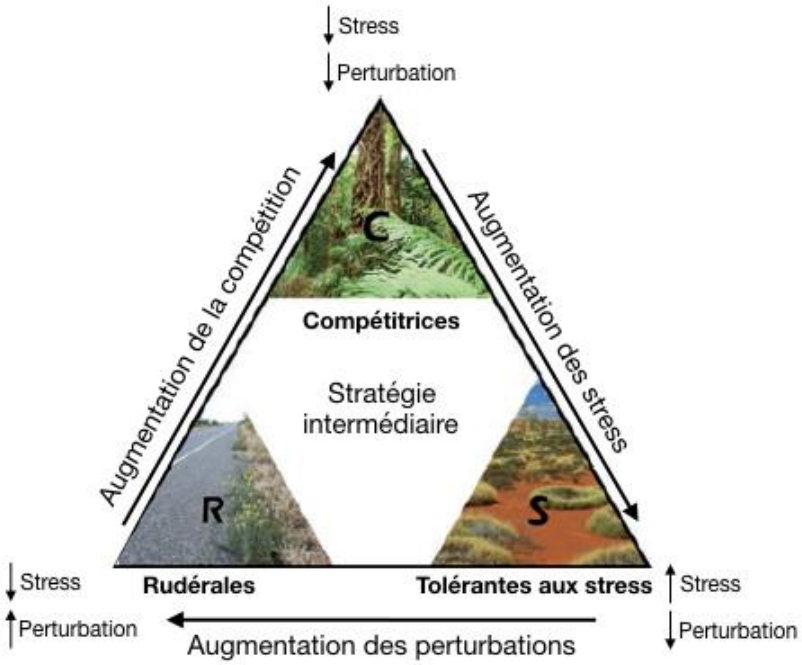


***Figure 2* : Représentation schématique de la théorie CSR (d'après Wood and Franks, 2018)** – Les stratégies compétitive, tolérante au stress et rudérale ainsi que leurs caractéristiques fonctionnelles associées forment un triangle de compromis entre les ressources. L'avantage sélectif de chaque stratégie de vie et par conséquent la quantité de ressources qui lui est allouée est régi par les niveaux de stress et perturbations. Les images représentent des communautés végétales typiques de communautés dominées par C, S ou R.

Arabidopsis thaliana est souvent décrite comme une espèce rudérale, comme la plupart des plantes annuelles, poussant où les ressources sont importantes (peu de stress) mais avec des perturbations répétées, se reproduisant rapidement et investissant leurs ressources dans la

production et la dispersion de graines (Díaz et al., 2016; Pierce et al., 2017; Vasseur et al., 2018). Cependant, cette espèce peut présenter une large gamme de variation de la stratégie rudérale à la stratégie de tolérance aux stress en fonction du génotype considéré (May et al., 2017; Vasseur et al., 2018). De manière intéressante, les génotypes ayant une stratégie rudérale se trouvent essentiellement dans des climats chauds et tempérés alors que les plantes tolérantes aux stress semblent être favorisées dans les environnements froids à des latitudes plus élevées (Vasseur et al., 2018). Ces résultats semblent cependant dépendre de la manière de déterminer le CSR (i.e. techniques et mesures des traits utilisées, stade phénologique), mais aussi de la plasticité phénotypique des plantes aux conditions de croissance (i.e. lumière, photopériode) qui peut impacter significativement la valeur des traits et donc la détermination quantitative des stratégies écologiques des plantes (Guo et al., 2018; May et al., 2017; Vasseur et al., 2018).

2- Stratégie de réponse face à un déficit hydrique

La baisse de disponibilité en eau dans le sol, ou déficit hydrique édaphique (WD), est l'une des principales contraintes qui impacte la croissance des plantes et le rendement des cultures dans le monde (Bray, 1997; Farooq et al., 2009; Kozlowski, 1968). De manière générale, le WD est défini comme un déséquilibre entre la quantité d'eau disponible dans le sol et l'évaporation due à l'environnement (Du et al., 2013; Tardieu et al., 2011).

Les réponses au WD sont décrites à différentes échelles d'organisation : phénologiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires (Chaves et al., 2003). Cependant, malgré l'observation de tendances générales, les réponses peuvent être très variables en fonction de la durée et la sévérité du WD, du stade de la plante lors de l'occurrence de la contrainte mais également suivant les génotypes étudiés (Casadebaig et al., 2008; Harb et al., 2010; Rauf and Sadaqat, 2008; Tardieu, 2013). La plante est confrontée à un compromis lors d'un WD : maintenir son équilibre hydrique tout en continuant à assurer une croissance suffisante de l'ensemble de ses organes (racines, parties reproductives) (Hsiao, 1973).

Différentes stratégies végétales ont été façonnées par la sélection naturelle pour faire face au WD impliquant des mécanismes qui permettent d'éviter la sècheresse (i.e. limiter les pertes d'eau par la fermeture des stomates ou la réduction de la surface foliaire) ou de la tolérer (i.e. diminuer la sensibilité des cellules à la déshydratation par osmorégulation, maintien des fonctions physiologiques et de la croissance) (Chaves et al., 2003; Hsiao, 1973; Mittler, 2006; Verslues and Juenger, 2011). Cependant, ce n'est pas parce qu'un état hydrique du sol varie de

son optimum, qu'il est nécessairement considéré comme un stress pour la plante. En effet, un stress résulte d'une altération de la condition physiologique d'une plante causée par des facteurs qui tendent à modifier son équilibre (Chaves et al., 2003; Farooq et al., 2009; Jaleel et al., 2009).

Les plantes ont donc mis en place des stratégies face au WD qui peuvent être divisées en trois catégories : i) éviter la déshydratation en prévenant les pertes d'eau excessives ou « mécanisme d'échappement » ; ii) limiter la déshydratation en ajustant le métabolisme pour maintenir les flux d'eau ou « évitement de la déshydratation » ; ou iii) tolérer la déshydratation (Farooq et al., 2009; Ludlow, 1989; Verslues and Juenger, 2011) (Figure 3).

La stratégie d'échappement correspond à la capacité de la plante à achever son cycle de vie en ajustant son développement au cours du temps en évitant ou diminuant l'impact du WD (Kooyers, 2015; McMaster et al., 2008; Shavrukov et al., 2017). Les végétaux adaptés au mécanisme d'échappement sont généralement moins tolérants à une déshydratation de leurs tissus (Chaves et al., 2003; Verslues and Juenger, 2011). Au lieu de cela, ces plantes auront une régulation métabolique pour induire une croissance et un cycle rapide tout en minimisant les investissements dans les voies de tolérance au WD qui ont tendance à ralentir la croissance de la plante lorsque l'eau n'est pas limitante (Figure 3).

L'évitement de la déshydratation est observé chez les plantes qui réalisent leur croissance en période de stress mais qui maintiennent un statut hydrique tissulaire compatible avec un fonctionnement métabolique, retardant et/ou minimisant les effets négatifs induits par le WD (Verslues et al., 2006). Les pertes en eau peuvent être minimisées via une fermeture stomatique et une réduction de la surface foliaire (arrêt de la croissance, enroulement foliaire, senescence) (Tardieu, 2013). Le développement du système racinaire permet d'augmenter l'absorption de l'eau en prospectant plus en profondeur dans le sol (Levitt, 1980) (Figure 3).

La stratégie de tolérance quant à elle, permet aux plantes de maintenir les fonctions physiologiques importantes comme la transpiration, la photosynthèse et la croissance malgré la contrainte induite par un WD persistant ou sévère qui induit des potentiels hydriques faibles et des dommages cellulaires (Tardieu, 2013; Tardieu et al., 2011; Verslues and Juenger, 2011). La sénescence est retardée ce qui permet la translocation des réserves vers les organes grâce au maintien de la photosynthèse. Alors que l'ajustement osmotique va permettre de maintenir une teneur en eau suffisante pour réaliser les fonctions physiologiques importantes de la plante. Les

mécanismes liés à la tolérance à la déshydratation sont étroitement liés aux mécanismes liés à la stratégie d'évitement et les processus sont souvent interchangeables mais dans le premier cas, les plantes doivent faire face à des dommages cellulaires plus forts qui affectent l'intégrité cellulaire et qui peuvent même conduire à la mort de la plante (Hoekstra et al., 2001; Lawlor, 2013) (Figure 3).

Ces différentes stratégies ne sont donc pas strictement indépendantes mais sont définies par des réponses et des traits quantitatifs distincts (Blum, 2005, 2011).

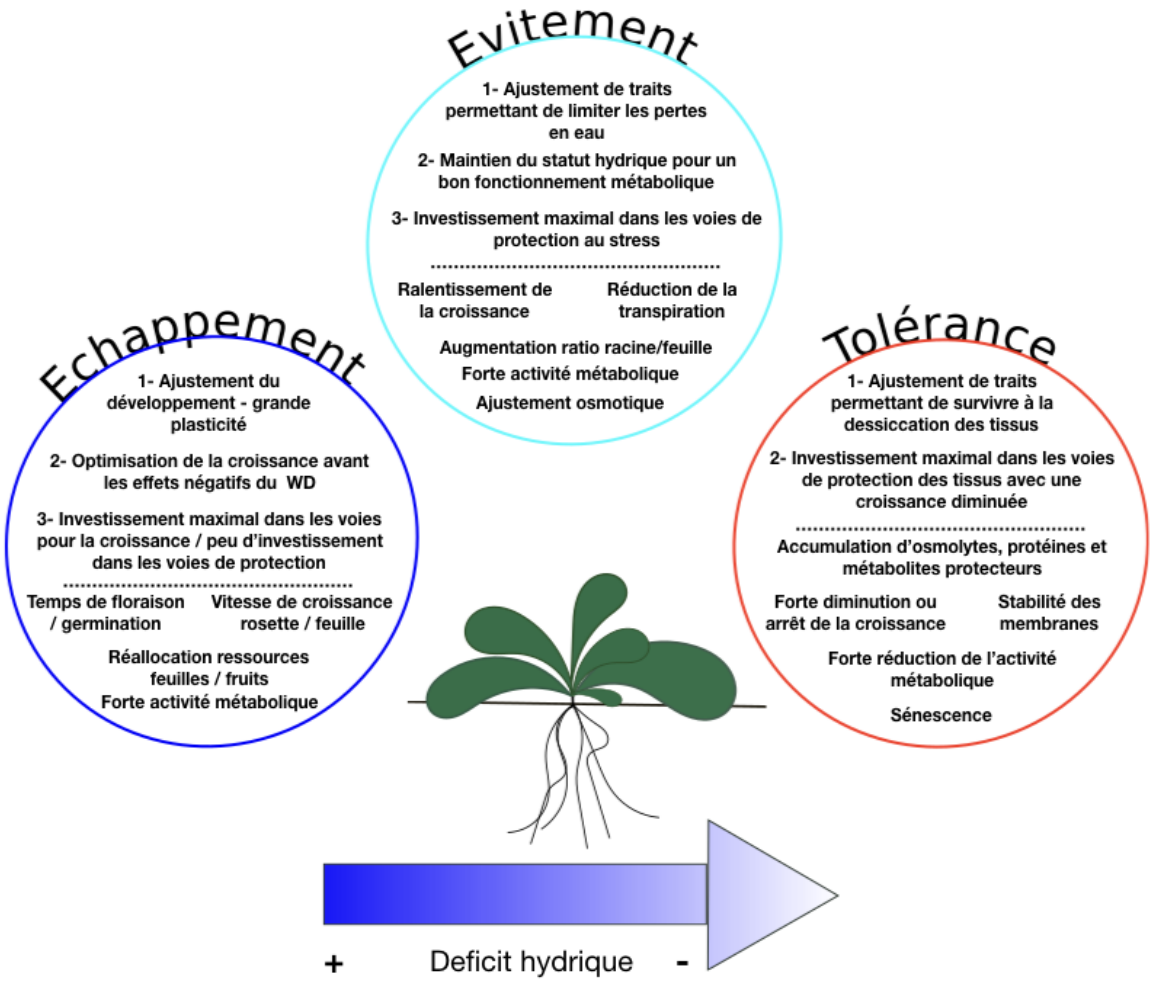


***Figure 3*: Différentes stratégies d'adaptation au déficit hydrique, allant de la stratégie d'échappement à la tolérance à une déshydratation sévère (selon Verslues and Juenger, 2011).**

a. Plasticité du développement et de la croissance

Le temps de germination et de floraison

Le cycle de vie des plantes est la succession de plusieurs phases de développement comme la germination, l'émergence des diverses feuilles, la montaison, la floraison et la fructification. La vitesse de développement est régie par la phénologie de la plante et prend souvent fin au début de la floraison (McMaster et al., 2008). De manière précoce, les plantes peuvent mettre en place des mécanismes d'échappement en lien avec la germination (Clerkx et al., 2004; Verslues & Juenger, 2011). En effet, les plantes peuvent avoir une **germination rapide** pour effectuer leur croissance plus tôt dans la saison avant une sécheresse de fin de saison mais aussi adapter leur vitesse de germination (Verslues and Juenger, 2011).

Le temps de floraison est un trait important pour les plantes pour échapper au WD (Araus et al., 2002; Passioura, 1996). Les plantes peuvent maximiser leur chance de se reproduire en réalisant leur cycle reproducteur plus rapidement pour limiter l'effet du WD (Chaves et al., 2003). En réponse au WD, chez plusieurs accessions d'*A. thaliana* (Col-0, Cvi-0), le WD conduit à une floraison plus rapide et permet à la plante de produire des graines (Assmann, 2013). *A contrario*, de manière inhérente, les génotypes qui fleurissent précocement ont des plus faibles efficacité d'utilisation de l'eau et vont être plus sensibles au WD (Kenney et al., 2014; Mckay et al., 2003). *A. thaliana* utilise principalement la stratégie intermédiaire visant à éviter un faible potentiel hydrique / déshydratation et à permettre un certain degré de sécheresse en s'échappant par une floraison précoce. Cependant, cette espèce n'est pas adaptée pour tolérer la déshydratation sévère (Verslues and Juenger, 2011).

Ralentissement ou arrêt de la croissance

C'est au niveau foliaire que les premiers effets du WD sont visibles chez les végétaux (Chaves et al., 2002; Davies and Zhang, 1991). Face à WD, une des réponses importantes des plantes repose sur **la réduction de leur surface foliaire** et l'ajustement de leur croissance voire même l'arrêt (Hsiao, 1973). Cette réduction s'opère à travers la diminution de la taille des feuilles, de leur nombre (arrêt de croissance et senescence) et de leur enroulement (Fang and Xiong, 2015). Par conséquent, la surface d'échange plante-atmosphère se retrouve réduite et les pertes en eau sont ainsi limitées (Tardieu et al., 2011). Chez *A. thaliana,* la croissance est fortement réduite au cours du dessèchement du sol et la taille inhérente de différentes accessions

d'*A. thaliana* est corrélée négativement à la tolérance à la sécheresse (Vile et al., 2012), autrement dit, une plante qui est petite sera plus tolérante à un stress environnemental. Chez le lupin (*Lupinus albus* L.), un WD induit une diminution de la biomasse accumulée dans les tiges, de la surface foliaire et la stabilité de la biomasse allouées aux fruits (Rodrigues et al., 1995). Cet arrêt de croissance est en lien avec des modifications de l'extensibilité de la paroi cellulaire qui devient plus rigide mais ce phénomène est réversible lorsque les conditions deviennent de nouveau favorables (Ingram and Bartels, 1996; Peleman et al., 1989). La réduction de surface foliaire a pour conséquences directes la diminution de la biomasse et du rendement qui en découlent (Hsiao, 1973).

Augmentation du rapport de biomasse racine / feuille

Une réponse morphologique courante est l'augmentation relative de **la biomasse racinaire par rapport à la biomasse aérienne** (couramment utilisée sous le terme du ratio Root/Shoot) (Blum, 2011; Brunner et al., 2015; Pandey and Shukla, 2015). La partie racinaire est souvent moins impactée par le WD que la partie aérienne (Sharp et al., 2004). En effet, chez le lupin, en condition de WD, la longueur racinaire par unité de sol reste identique ou augmente (Rodrigues et al., 1995). L'augmentation du ratio racine / feuille conduit au prélèvement accru d'eau dans le sol grâce à une augmentation de la prospection des racines dans le sol (Blum, 2011; Jackson et al., 2000; Passioura, 1996). De plus, la modification des traits liés aux racines (i.e. la longueur, la densité ou la profondeur) en réponse au WD va contribuer à une meilleure tolérance et une meilleure production des plantes en augmentant les chances de trouver ou prélever de l'eau dans le sol (Farooq et al., 2009; Turner et al., 2001). Cette stratégie associée à différents traits adaptatifs est commune aux plantes annuelles et pérennes (Chaves et al., 2003). La plasticité du développement et de la croissance des racines en réponse au WD exige un compromis entre la conservation des ressources métaboliques et l'exploration du sol (Christmann et al., 2007; Passioura, 1996).

b. La sénescence, mécanisme de réallocation des ressources

Lors d'un WD prolongé, il y a une forte diminution des capacités photosynthétiques et donc une carence en carbone via la fermeture stomatique, ce qui conduit à la nécrose des tissus (McDowell, 2011). Les plantes peuvent pallier en partie à cette carence par **une senescence prématurée** des feuilles âgées qui permet de réallouer les nutriments stockés dans les feuilles

les plus âgées vers les jeunes feuilles (Chaves et al., 2003; Prochazkova and Wilhelmova, 2007). De plus, la senescence des feuilles peut permettre de réduire la surface d'échange totale de la plante et par conséquent de limiter les pertes en eau (Chaves et al., 2003). Enfin, l'hétérogénéité photosynthétique des plantes est un élément important pour leur survie dans le cadre d'un WD sévère (Bresson et al., 2015). En effet, la survie peut être améliorée par le fait que la plante va mettre un place un gradient photosynthétique (Fv / Fm) de plus en plus fort en partant des feuilles les plus vieilles au plus jeunes (Bresson et al., 2015). Le gradient Fv / Fm correspond à l'efficacité maximale du photosystème II qui est classiquement utilisé pour suivre les changements dans les performances de la photosynthèse (Bresson et al., 2015).

c. L'ajustement osmotique

Lorsque les plantes subissent un WD, il y a un déséquilibre dans la chaine de réaction photosynthétique (Cakmak, 2005; Chaves et al., 2002). Il en résulte une accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ROS : Reactive Oxygen Species) au sein de la plante entrainant des détériorations tissulaires (nécroses, senescence prématurée) compromettant le fonctionnement cellulaire (Hasegawa et al., 2000; Schieber and Chandel, 2014; Sharma et al., 2012). Les plantes ont mis en place des mécanismes qui permettent de réduire ces dommages oxydatifs grâce à l'action **combinée d'osmo-protecteurs** tels que la cystéine, le glutathion et l'acide ascorbique, mais aussi par l'activité de diverses enzymes (i.e. superoxide dismutases, peroxydases ou la glutathion réductase) qui vont participer à la détoxification des ROS (Djilianov et al., 2005; Hasegawa et al., 2000). Ces osmo-protecteurs vont aussi participer au maintien de la stabilité des membranes (Djilianov et al., 2005). En effet, lors d'un WD, les membranes cellulaires cytoplasmiques sont les premières cibles des processus de dégradation et le contenu lipidique diminue progressivement (De Paula et al., 1990). De plus, chez *A. thaliana* le maintien de la teneur en lipides membranaires et la stabilité de leur composition confère une meilleure résistance des membranes face au WD, grâce en autre à des solutés comme la proline, le glutamate ou le mannitol (Gigon et al., 2004; Hoekstra et al., 2001).

Enfin, **l'accumulation d'osmolytes** (tel que ions, sucres ou acides aminés) va permettre de maintenir le statut hydrique des plantes et retarder la déshydratation des tissus lors d'un WD (Tester and Bacic, 2005). La diminution du potentiel osmotique par l'accumulation d'osmolytes permet d'attirer de l'eau à l'intérieur des cellules et de conserver une bonne turgescence cellulaire entrainant une déshydratation moindre et limitant l'effet du WD sur les tissus (Ashraf

et al., 2011; Serraj and Sinclair, 2002). Une turgescence cellulaire améliorée contribue à l'augmentation des performances des plantes et au maintien des processus physiologiques tels que l'ouverture stomatique, l'expansion foliaire et la photosynthèse (Serraj and Sinclair, 2002; Subbarao et al., 2000). L'effet de l'ajustement osmotique dans l'adaptation au WD a été démontrée chez différentes espèces comme le riz (*Oryza sativa L.*) et certains arbres forestiers (Al-Bahrany, 2002; Lilley et al., 1996; Tschaplinski et al., 1995).

d. La conductance stomatique

Les plantes doivent faire face à un compromis lors d'un WD : réduire les pertes en eau tout en optimisant leur alimentation carbonée via **la régulation stomatique** (g_s). La conductance stomatique (g_s) est un trait important qui permet de réduire les pertes en eau des tissus par la transpiration, et de maintenir un potentiel hydrique foliaire (Ψ_w) suffisant pour favoriser la croissance lors d'un WD (Hsiao, 1973; Levitt, 1980). La conductance stomatique est intimement reliée au mouvement stomatique car une diminution de la conductance traduit une fermeture stomatique, et réciproquement (Chaves et al., 2003; Verslues and Juenger, 2011). Il s'agit d'une des premières réponses au WD, essentielle à la limitation des pertes en eau (Damour et al., 2010).

Les stomates jouent un rôle central pour contrôler le taux de transpiration et la photosynthèse en permettant une régulation fine des échanges de CO_2 et de vapeur d'eau (Buckley, 2005; Buckley et al., 2011; Farquhar and Sharkey, 1982). La fermeture des stomates en réponse au WD est souvent considérée comme une réponse « positive » permettant de perdre moins d'eau et donc de réaliser une économie d'énergie pour la plante. En réalité, ce mécanisme induit une diminution de la photosynthèse et un ralentissement de la croissance foliaire qui ont eux-mêmes un effet négatif sur l'assimilation du carbone (Chaves et al., 2003; Hsiao, 1973). L'ouverture et la fermeture stomatique résultent d'une différence de turgescence entre les cellules de garde et les cellules annexes et épidermiques (Bansal et al., 2019; Bartels and Sunkar, 2005; Farooq et al., 2009).

Ce contrôle stomatique peut être induit soit par un signal hormonal de **l'acide abscissique** (ABA), soit par un contrôle hydraulique passif lié à la turgescence cellulaire (Christmann et al., 2007; Levitt, 1980; Tardieu and Davies, 1993; Tardieu et al., 1992). Les différences de contrôle stomatique caractérisent la classification des espèces isohydriques (maïs, peuplier, vigne) et anisohydriques (tournesol, blé) (Martínez-Vilalta and Garcia-Forner, 2017; Tardieu and Simonneau, 1998). Les plantes isohydriques régulent strictement leur transpiration, assurant

ainsi le maintien de leur potentiel hydrique foliaire à un niveau constant quelles que soient la demande évaporative ou la disponibilité en eau du sol. Les espèces anisohydriques sont définies par un moindre contrôle stomatique de leur transpiration, impliquant alors de larges variations de leur potentiel hydrique foliaire en condition de WD et de forte demande évaporative. Chez les plantes isohydriques, le contrôle stomatique semble lié à une interaction entre une signalisation hormonale, avec en particulier l'ABA, et hydraulique, alors que chez les plantes anisohydriques, il répond préférentiellement aux signaux racinaires (Martínez-Vilalta and Garcia-Forner, 2017; Tardieu and Simonneau, 1998).

L'ABA joue un rôle majeur dans la fermeture des stomates comme cela a été démontré dans des expériences d'apport exogène d'ABA dans le sol, ou d'injection dans des tiges (Davies and Zhang, 1991; Wilkinson and Davies, 2002). L'ABA joue un rôle de signal chimique entre les feuilles et les racines interagissant avec d'autres molécules signaux comme l'éthylène ou le calcium (Davies and Zhang, 1991; Mittler and Blumwald, 2015; Wilkinson and Davies, 2002). De plus, l'ABA est étroitement lié à des signaux hydrauliques, car il est généré en réponse à des diminutions locales de potentiel hydrique et assure la médiation des réponses physiologiques adaptatives, à la fois locales et systémiques (Wilkinson and Davies, 2002). La régulation stomatique via l'ABA implique des transports à longue distance mais également des modulations de la concentration en ABA des cellules de garde (Wilkinson and Davies, 2002).

Pour conclure, les plantes ont donc mis en place un panel de réponses face au WD. Ces différents mécanismes pour tolérer ou éviter le WD peuvent être mis en place individuellement mais aussi en synergie (Chaves et al., 2003). Chacune de ces stratégies peut s'avérer positive, négative ou sans effet sur le rendement suivant la sévérité du stress (Tardieu, 2013).

B. Réponse des plantes à leur environnement biotique

1- Mécanismes de défense face à des agents pathogènes

a. Défense des plantes face aux micro-organismes

Les plantes n'ont pas de système immunitaire comparable à celui des animaux vertébrés. Le système de défense des plantes est constitué de plusieurs niveaux d'action qui leur permettent d'éviter, de supprimer, ou de se défendre activement contre les agents pathogènes (de Ronde et al., 2014). Les agents pathogènes et leur hôte co-évoluent constamment (Woolhouse et al., 2002). Ce concept repose sur l'hypothèse que les agents pathogènes sont **des**

parasites virulents, c'est-à-dire qui ont **un impact négatif** sur les performances de leur hôte (Doumayrou et al., 2013a). Les plantes, de par leur caractère sessile ont développé de nombreux **systèmes de défense perfectionnés**, tant morphologiques que chimiques pour limiter l'infection par un agent pathogène ou pour compenser les effets sur leur rendement (Agnew et al., 2000). Chez les plantes, il existe deux principaux moyens de défense contre les pathogènes : la résistance, définie comme la capacité de l'hôte à stopper la propagation du parasite (limitation de l'accumulation) et la tolérance, qui est caractérisée par la capacité d'atténuer l'impact du pathogène sur l'hôte malgré le développement du pathogène (Fraser, 2003; Pagán and García-Arenal, 2018).

La résistance non-hôte

Si l'agent pathogène n'est pas adapté pour réaliser l'infection chez une plante, une résistance de la plante à l'agent pathogène est inévitable. Cette résistance totale qu'on appelle la **résistance non hôte** ou interaction hétérologue, est la forme la plus commune d'immunité et s'instaure durant les premières étapes de l'infection (Mysore and Ryu, 2004). Pour qu'il y ait succès de l'infection l'agent pathogène doit un premier temps passer des **barrières physiques** (paroi cellulaire). Ces barrières physiques peuvent être contournées par les pathogènes, par perforation (comme le font les insectes phytophages) ou par passage via une ouverture naturelle (stomates, hydathodes) ou une blessure (Bari and Jones, 2009; Jones and Dangl, 2006). Si ces barrières sont contournées, et qu'il y a pénétration du pathogène dans les cellules celui-ci fera face à **une seconde barrière d'ordre chimique** mises en place potentiellement lors de précédentes attaques (activation des MAP kinases, production de phytoalexines, de molécules antifongiques ou antibactériennes-comme les phytoanticipines (Pedras and Adio, 2008). Une fois ces défenses basales contournées, le pathogène peut faire face à des défenses spécifiques de la plante basée sur des interactions gène pour gène (Biezen and Jones, 1998). Le contournement d'un de ces mécanismes conduit à la perte de la résistance non hôte et donc à la capacité des agents pathogènes à infecter la plante.

La résistance hôte

Pour réduire les chances de l'infection par un agent pathogène, les plantes ont mis en place d'autres mécanismes de défense qui constituent **la résistance hôte**. Cette résistance se caractérise par deux grands mécanismes (Jones and Dangl, 2006). Le premier mécanisme de

défense qu'on appelle **la résistance basale** (ou non spécifique) s'installe lors d'une attaque d'un pathogène (Figure 4A). Cette résistance est liée à la reconnaissance de motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP) comme par exemple la flagelline ou la chitine (Newman et al., 2013). La reconnaissance des **PAMP** par la plante se déroule au niveau de la surface des cellules végétales, par des protéines PRR (pour Pattern Recognition Receptor) (Zipfel, 2014). La reconnaissance basale peut aussi être initiée par la reconnaissance de signaux dérivés de la plante. On parle de **DAMP** (pour Damage-Associated Molecular Pattern), lorsque par exemple des fragments de la paroi cellulaire sont libérés, suite à une attaque de pathogènes ou une blessure (Choi and Klessig, 2016) (Figure 4A). Ces DAMP sont alors reconnus par les protéines PRR et leur domaine transmembranaire (Jones and Dangl, 2006). Ce premier niveau de défense peu spécifique peut se traduire par un dépôt de callose, une production d'éthylène, des chocs oxydatifs ou l'induction de certains gènes liés aux mécanismes de défense et on parle ici de **PTI** (pour PAMP-Triggered Immunity) (Chisholm et al., 2006; Schwessinger and Zipfel, 2008; Zipfel, 2009). Ces mécanismes qui permettent de limiter la propagation de nombreux agents pathogènes peuvent être contournés via des effecteurs produits par les pathogènes (Jones and Dangl, 2006). Ces effecteurs ont comme action de bloquer les réponses de défense de la plante (Chisholm et al., 2006).

Pour contrer ces effecteurs de pathogènes, les plantes ont développé des mécanismes de reconnaissance intracellulaires (directs ou indirects), qui passent par les **protéines R** (pour Resistance gene) (Chisholm et al., 2006). Cette immunité spécifique appelée **ETI** (Effector Triggered Immunity) est déclenchée par des effecteurs (Jones and Dangl, 2006) (Figure 4A). Cette résistance est souvent associée à une réponse d'hypersensibilité (HR) liée à un phénomène de mort cellulaire induit par la production d'espèces réactives de l'oxygènes (ROS) et d'acide salicylique (SA) et à l'expression de gènes de défense (Win et al., 2012).

La reconnaissance d'un ou plusieurs effecteurs par la plante va entrainer l'ETI. L'activation de la PTI ou de l'ETI va très nettement limiter la possibilité de croissance du pathogène au sein de l'hôte, en augmentant la résistance de la plante (Jones and Dangl, 2006; Win et al., 2012). Le système immunitaire plus spécifique des plantes se résume donc en deux temps : dans un premier temps, il y a reconnaissance des molécules communes chez les pathogènes et une réponse (PTI) ; dans un deuxième temps, il y a reconnaissance de facteurs de virulence du pathogènes, de façon directe ou indirecte, et une réponse beaucoup plus marquée et rapide (ETI). La chronologie de reconnaissance du pathogène couplé à une réponse rapide et

adaptée semblent être la clé entre sensibilité et résistance. En se basant sur les différentes réponses et contre-réponses de la plante et du pathogènes lors de l'interaction, Jones et Dangl (2006) ont proposé un modèle dit « **Zig-Zag** » (Figure 4B) qui schématise la co-évolution entre les protéines végétales et les protéines des agents pathogènes qui sont impliquées dans l'immunité des plantes (Chisholm et al., 2006; Jones and Dangl, 2006).

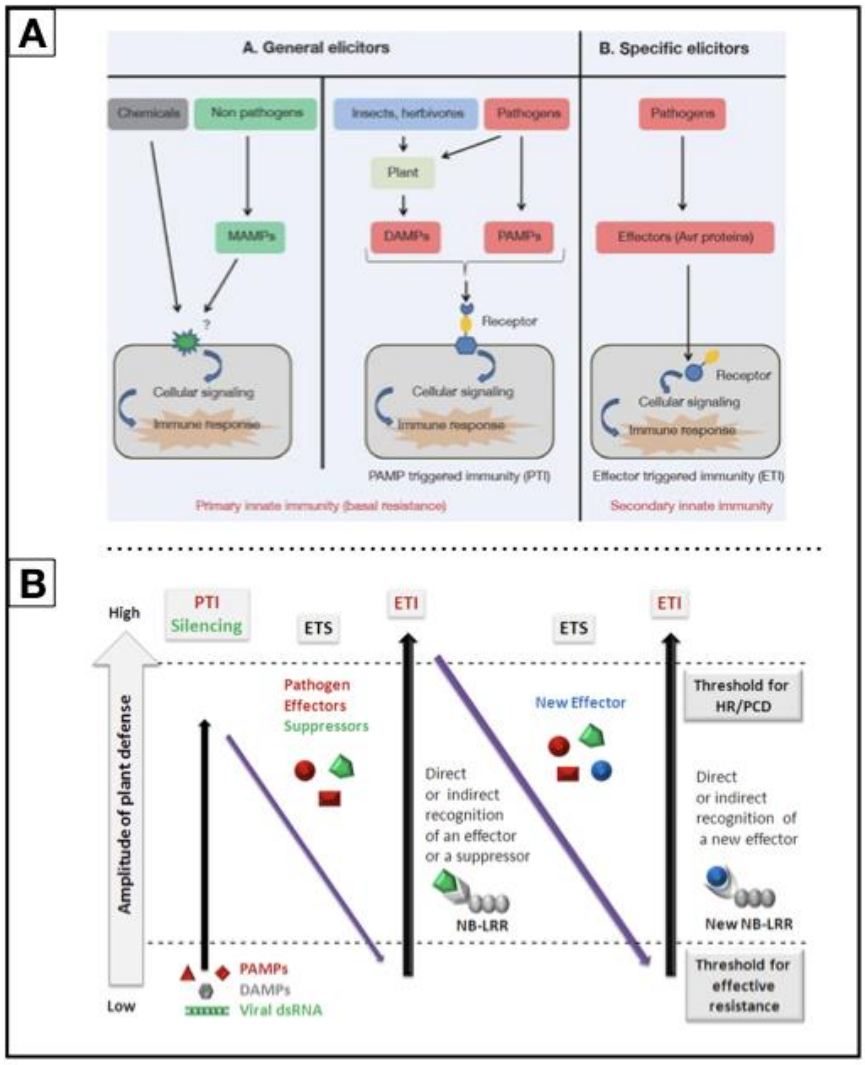


***Figure 4*: Classes d'éliciteurs et modèle en zig-zag (d'après Henry et al., 2012 et Jones & Dangl, 2006).** (A) Les éliciteurs généraux (non spécifiques) agissent de manière différente selon les génotypes au sein d'une espèce de plante et sont impliqués dans l'immunité innée primaire. Ils comprennent les produits chimiques, les profils moléculaires associés aux microbes (MAMPs) issus de micro-organismes non pathogènes, les profils moléculaires associées aux blessures (DAMPs) issus de la paroi pecto-cellulosique suite à l'action de ravageurs, et les profils moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) issus de micro-organismes pathogènes. Les éliciteurs spécifiques (ou effecteurs) produits par les pathogènes agissent uniquement chez les génotypes de plantes possédant le gène de résistance de maladie correspondant. Ces effecteurs conduisent à l'immunité innée secondaire après une perception récepteur-dépendante intracellulaire. (B) Modèle en zig-zag. Suite à la reconnaissance par la plante d'éliciteurs généraux il y a activation de l'immunité basale (PTI - PAMP-Triggered Immunity). Au cours de l'évolution, les agents pathogènes ont développé des effecteurs capables d'interfèrer et d'inhiber la PTI. Cela qui conduit chez la plante à une activation de la sensibilité par les effecteurs (ETS, Effector-Triggered Susceptibility). En réponse, les plantes ont développé un système de détection de ces effecteurs spéciques qui va activer un deuxième niveau d'immunité (ETI, Effector Triggered Immunity). Les agents pathogènes peuvent

acquérir d'autres effecteurs, les plantes doivent alors s'adapter afin de pouvoir reconnaitre ces nouveaux effecteurs.

b. Reconnaissance du vecteur par la plante hôte

Les insectes phytophages, y compris les pucerons, produisent et sécrètent lors de la reconnaissance et de l'alimentation sur la plante, de nombreuses molécules qui peuvent agir comme éliciteurs ou effecteurs et donc être reconnus par les plantes (Kafle et al., 2017). Ces molécules sont très similaires à des éliciteurs de l'immunité végétale (de type PTI) dont certains fonctionnent indirectement et entrainent la génération de DAMPs (damage-associated molecular patterns) (Arimura et al., 2011; Hogenhout and Bos, 2011; Kafle et al., 2017). Vos et Jander (2009) ont montré que la salive du puceron *Myzus persicae* injectée dans des feuilles d'*A. thaliana* modifiait l'expression des gènes de défense, de transduction du signal et de sénescence de la plante (Vos and Jander, 2009). En particulier, deux protéines salivaires de *M. persicae*, Mp10 et Mp42, induisent des réponses de défense de la plante hôte (i.e. une chlorose pour l'effecteur Mp10) et provoquent une réduction de la fécondité des pucerons (Vos and Jander, 2009). De même, la reconnaissance de la protéine GroEL de l'endosymbionte obligatoire *Buchnera aphidicola* du puceron provoque l'accumulation de molécules ROS suivi d'un dépôt de callose dans les cellules végétales (Chaudhary et al., 2014). Ces résultats suggèrent que **les composants salivaires des pucerons**, ou le produit de leur activité quand il s'agit d'enzymes, sont reconnus par les cellules d'*A. thaliana*, conduisant à **l'activation des défenses** (Bos et al., 2010; Rodriguez et al., 2013). De plus, des interactions gène pour gène (ETI) ont été trouvées dans plusieurs pathosystèmes pucerons-hôte (Broeke et al., 2013; Kanvil et al., 2014). Par exemple, il a été mis en évidence que plusieurs biotypes de puceron *Acyrtosiphon pisum* avaient la capacité à infester un panel de génotypes de *Medicago truncatula* (Kanvil et al., 2014). Cette étude a montré une variation importante de la capacité d'infestation, dépendante des combinaisons pucerons-génotypes de plante, suggérant là aussi une reconnaissance de type gène pour gène (Kanvil et al., 2014).

2- Le cas des virus

Les virus sont les entités biologiques les plus abondantes et les plus diversifiées sur terre (Breitbart and Rohwer, 2005; Roossinck, 2012). Un virus ne sera capable de provoquer une infection que dans les plantes hôtes qui n'auront pas développé de défenses spécifiques en réponse aux facteurs de virulence (Pallas and García, 2011). Un virus est un parasite

intracellulaire obligatoire. Il est composé d'une ou plusieurs molécules d'acide nucléique (d'ADN ou d'ARN, simple ou double brin, linéaire ou circulaire), entouré d'une coque de protéines appelée capside et parfois d'une enveloppe lipidique (Matthews, 1991). Il ne possède aucune enzyme pouvant produire de l'énergie. Il a donc besoin de manipuler efficacement son hôte pour réussir l'infection (Hull, 1994). Au niveau cellulaire, le virus doit détourner la machinerie de traduction pour la production de protéines virales (Heinlein, 2015; Matthews, 1991). Le virus utilise également les organes de l'hôte pour accomplir son cycle viral. Ainsi, pour une infection efficace, le virus doit diffuser rapidement dans l'hôte, de cellule à cellule et sur de longues distances entre des organes ou des tissus éloignés (Harries and Ding, 2011; Hipper et al., 2013). L'ensemble du processus nécessite un passage efficace entre les différents types de cellules pour conduire à une infection systémique de la plante (Hipper et al., 2013). Lorsque la plante est entièrement infectée par le virus, celui-ci doit atteindre une nouvelle plante hôte pour assurer son maintien dans l'environnement (Blanc et al., 2011; Whitfield et al., 2015).

a. La transmission virale

La transmission virale est **une étape clé du cycle du virus** pour se maintenir dans un écosystème (Blanc et al., 2011). La transmission permet aux virus de couvrir la distance entre deux hôtes et de s'affranchir de la barrière imposée par la paroi cellulaire chez les plantes (Whitfield et al., 2015). Il existe divers mécanismes de dissémination de phytovirus et qui peuvent être divisé en deux grands groupes : **la transmission verticale** et **la transmission horizontale** (Lipsitch et al., 1996).

i. La transmission verticale

Lors du premier cas, la transmission du virus peut se faire à la descendance de la plante infectée via **la graine** ou par **multiplication végétative** (Mink, 1993; Sastry, 2013). La transmission via la graine nécessite que le virus ait la capacité à infecter l'hôte pendant la phase végétative et à infecter la graine lors de la phase de reproduction tout en gardant la capacité à se réactiver avant ou après la germination de la graine (Fine, 1975; Sastry, 2013). La transmission dite par multiplication végétative consiste pour le virus à se propager lors de la multiplication de plants infectés via les tubercules, les bulbes, le marcottage ou les boutures. La transmission de virus peut aussi être occasionnée par l'intermédiaire d'une action mécanique engendrée par l'homme, par exemple lorsqu'il utilise des instruments contaminés par des plantes infectées sur des plantes saines mais aussi au sein d'un laboratoire, technique utilisée

par les chercheurs pour inoculer le virus en frottant les feuilles de plantes saines avec un inoculum et un abrasif.

ii. La transmission horizontale

Cependant, dans la majorité des cas (environ 90%), la transmission horizontale est assurée par **des vecteurs biologiques** (arthropodes, nématodes et champignons ; qui transportent les virus dans le sol ou par voie aérienne et assurent l'introduction du virus dans la plante pendant une phase de leur cycle de multiplication (Bragard et al., 2013; Whitfield et al., 2015). Les virus doivent alors **interagir physiquement** avec leur vecteur à toutes les étapes de la transmission.

Les pucerons, qui sont des insectes piqueur-suceurs, (Classe *Insecta*, ordre des *Hemiptera*) transmettent à eux seuls au moins **30% des virus** de plantes répertoriés à ce jour (Bragard et al., 2013; Ng and Perry, 2004; Whitfield et al., 2015). L'interaction est alors dite tripartite entre le virus, le vecteur et la plante. Du fait que les pucerons représentent une majorité des vecteurs, la suite du paragraphe sera essentiellement décrite pour les vecteurs pucerons.

Après l'acquisition au cours de l'alimentation du vecteur, le virus doit être conservé dans le corps ou dans les pièces buccales du vecteur sous une forme transmissible, ce qui signifie qu'il doit se protéger de l'environnement potentiellement hostile. Les pièces buccales du puceron sont composées de quatre stylets (deux stylets maxillaires et deux stylets mandibulaires) qui leur permettent de puiser la sève à l'intérieur des cellules végétales (Brault et al., 2010; Ng and Perry, 2004) . Le virus doit être inoculé au bon moment dans un nouvel hôte. Cela nécessite des actions opposées : l'acquisition n'est possible que par liaison physique au vecteur et l'inoculation uniquement par libération physique de ce dernier, et la phase de rétention intermédiaire ne doit ni gêner l'acquisition ni l'inoculation. La majorité des phytovirus ont donc dû développer des stratégies pour garantir l'efficacité de cet événement (Hébrard et al., 1999).

Il existe **deux modes de transmission** principales défini sur des critères **de localisation du virus** dans son insecte vecteur, **le temps d'acquisition, de latence et d'inoculation** nécessaire à l'infection d'une nouvelle plante par un insecte virulifère : la transmission **non circulante** qui concerne la plupart des phytovirus comme le *Cauliflower mosaic virus* (CaMV),

utilisé dans notre étude et la transmission **circulante** (Blanc et al., 2014; Brault et al., 2010; Dáder et al., 2017) (Figure 5).

La transmission non-circulante

La transmission non-circulante concerne des espèces virales qui, par exemple, appartiennent aux familles *Bromoviridae*, *Potyviridae* et *Caulimoviridae* (Brault et al., 2010). Dans le cas de la transmission non-circulante, il n'y a pas de relation spécifique hôte-vecteur, le puceron va acquérir les virus lors de **piqûres d'essai** dans le tissu végétal pour « gouter » la plante, et n'a pas besoin de rester sur la plante hôte. Ce type de transmission peut donc engendrer un grand nombre de maladies dont des virus qui ont un impact majeur sur les cultures. Les virus acquis s'accrochent à des motifs protéiques exposés en surface dans les **stylets** du vecteur (Brault et al., 2010; Uzest et al., 2007). Dans le cas du CaMV cette fixation s'effectue plus précisément à la pointe des stylets maxillaires au niveau de l'acrostyle (Uzest et al., 2007, 2010). Récemment deux protéines cuticulaires (dénommées stylin-1 et stylin-2), localisées dans cet organe, ont été identifiées comme étant des récepteurs potentiels du CaMV (Webster et al., 2018). Il s'agit là des premiers récepteurs de virus non-circulants décrites à ce jour. Deux « stratégies » d'interaction moléculaire entre le virus et le vecteur sont décrites pour ce mode de transmission : soit la particule virale se lie directement à un récepteur présent chez le vecteur (**stratégie de capside**, cas des Cucumovirus), soit une protéine virale non-structurale, **le facteur assistant** de la transmission, fait le lien entre le virion et le vecteur (stratégie Helper, cas des Potyvirus ou des Caulimovirus) (Brault et al., 2010; Bricault and Perry, 2013; Pirone and Blanc, 1996). Les étapes d'acquisition, de latence et d'inoculation du virus prennent de **quelques secondes à quelques minutes** et ne nécessitent pas un passage à l'intérieur du corps du vecteur (Figure 5). Considérée d'abord comme « mécanique » , il est maintenant bien établi que la transmission non circulante implique en réalité des interactions moléculaires virus-vecteur hautement spécifiques (Blanc et al., 2014; Uzest et al., 2007; Webster et al., 2018).

La transmission circulante

La transmission circulante concerne essentiellement des espèces virales qui appartiennent aux familles *Geminiviridae, Luteoviridae*, et *Nanoviridae* (Bedford et al., 1994; Brault et al., 1995; Franz et al., 1999). Les Geminivirus sont transmis majoritairement par les aleurodes (*Bemisia tabaci)*, à ce jour un seul membre de cette famille le *Alfalfa curl leaf virus*

a pour vecteur un puceron *Aphis craccivora* (Bernardo et al., 2016; Roumagnac et al., 2015). Les luteovirus et les Nanovirus ont pour vecteur des pucerons (Hogenhout et al., 2008). A la différence des phytovirus transmis selon le mode non-circulant, les phytovirus transmis selon le mode circulant ont des périodes d'acquisition, de latence et d'inoculation beaucoup plus longues (plusieurs heures à plusieurs jours). Dans ce cas, le virus, après ingestion par son vecteur *via* le canal alimentaire, opère un passage dans **le système digestif**, où il sera internalisé dans les cellules épithéliales de l'intestin par endocytose (Ng and Perry, 2004). Ce passage nécessite une **phase de reconnaissance spécifique** (Brault et al., 2010; Mulot et al., 2018). Le virus est ensuite transporté dans la lymphe par transcytose afin de rejoindre les glandes salivaires d'où il sera finalement excrété avec la salive dans une nouvelle plante hôte (Brault et al., 2010; Kennedy et al., 1962; Whitfield et al., 2015). En fonction de la capacité du virus à se répliquer dans les cellules de l'insecte vecteur, les virus circulants peuvent être classés comme propagatifs (ou multipliant) ou non propagatifs (Jia et al., 2018) (Figure 5). La transmission circulante tout comme la transmission non-circulante nécessite des interactions virus-insecte très spécifiques comme lors de la reconnaissance de sites d'attachements qui gouvernent la spécificité de transmission par un vecteur donné (Brault et al., 2005; Linz et al., 2015).

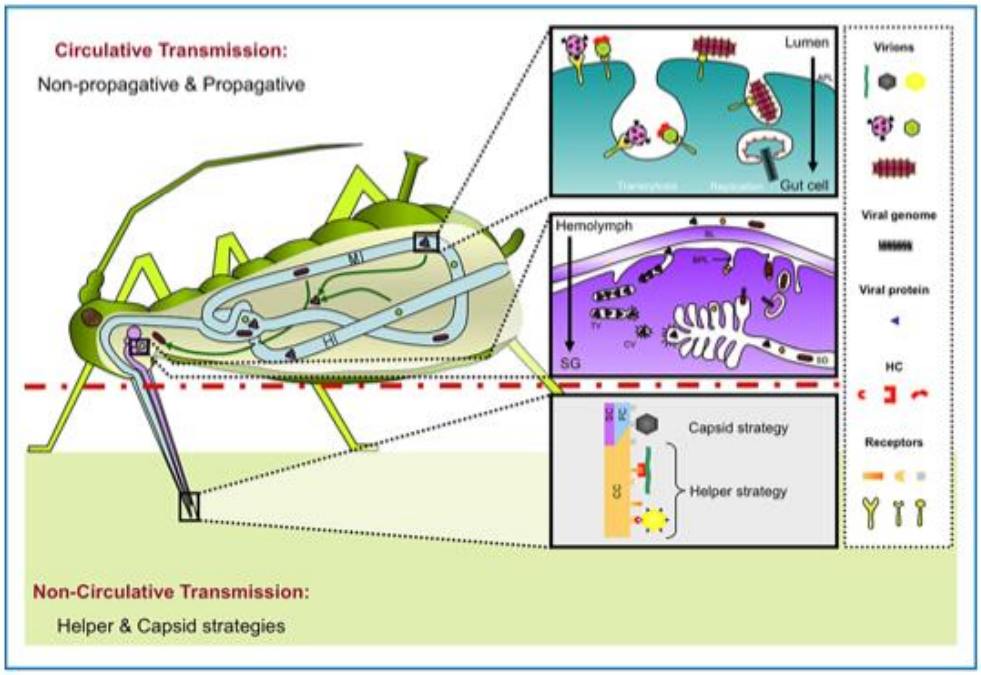


Figure 5: Modes de transmission des phytovirus (d'après Brault et al., 2005). Le schéma illustre deux modes de transmission (circulante et non circulante) utilisés par les phytovirus transmis par les pucerons. Dans le cas de la transmission circulante, l'internalisation est médiée par l'attachement des virions sur des récepteurs localisés au niveau des membranes apicales

(APL) de l'intestin moyen (MI) ou postérieur (HI) du puceron. L'internalisation des Rhabdoviruses (particules rouges) dans des vésicules est suivie par une fusion des membranes, de relargage du génome viral dans le cytoplasme et de réplication dans les cellules de l'intestin (transmission circulante propagative). Dans le cas des Luteovirus (particules roses) ou des nanovirus (particules vertes), l'internalisation des virus est suivie d'une transcytose d'un pôle de la cellule à l'autre sans multiplication (transmission circulante non-propagative). Le relargage des virions dans l'hémolymphe est suivi par une internalisation dans les glandes salivaires (SG) qui, pour les Nanovirus semble être relié à un HC (helper componant). Les virions doivent d'abord franchir la lame basale (BL) entourant les glandes, puis le plasmalemme basal (BPL), avant d'être finalement libérés dans le conduit salivaire (SD). Le transport des Luteovirus dans les glandes salivaires est médié par des vésicules tubulaires (TV) et des vésicules enrichies en clathrine (CV) et des vésicules. Dans la transmission non circulante, les particules virales se fixent directement sur les récepteurs des stylets de puceron selon la stratégie de capside (cas des Cucumovirus représenté par une particule noire sur le schéma) ou par l'intermédiaire d'une protéine virale dénommée « helper componant (HC) » (cas des Potyvirus-particule verte ou des Caulimovirus-particule jaune).

Influence du comportement du vecteur sur la transmission

Les processus intervenant lors de la transmission du virus *via* les pucerons s'étendent au-delà des simples interactions moléculaires entre le virus, le vecteur et l'hôte. En effet, la transmission dépend aussi du **comportement des vecteurs** qui peut être altéré de manière directe ou indirecte par le virus lui-même (Lu et al., 2019; Ng and Zhou, 2015). Le choix de la plante hôte par le puceron est un processus complexe qui implique différents paramètres, stimuli et réponses (Dáder et al., 2017). Ce processus est découpé en quatre étapes importantes : (1) l'attraction visuelle et chimique de la plante hôte, (2) l'évaluation de la difficulté à pouvoir atteindre la surface de la feuille, (3) la réalisation d'un « sondage » des tissus de l'épiderme et du mésophylle et (4) l'alimentation dans le phloème (Dáder et al., 2017; Fereres and Moreno, 2009). Toutes ces étapes peuvent être influencées par **l'état physiologique de la plante** (qualité nutritionnelle, morphologie foliaire, symptômes ou turgescence des tissus) généré par l'infection virale mais aussi par **l'effet du virus lui-même** sur l'insecte vecteur (Medina-Ortega et al., 2009; Ngumbi et al., 2007).

Le virus peut dans certains cas manipuler son vecteur afin d'augmenter sa probabilité d'être transmis (Blanc and Michalakis, 2016; Dáder et al., 2017). Un puceron non virulifère est davantage attiré par des plantes infectées et qui présentent des symptômes d'infections (Dáder et al., 2017; Fereres and Moreno, 2009). Cette attraction est corrélée aux composés volatiles émis par les plantes infectées qui rendrait plus attirante ces plantes (Rajabaskar et al., 2013). De plus, l'infection par le *Cucumber mosaic virus* (CMV) diminue la valeur nutritionnelle des

plantes infectées, tout en rendant les plantes plus attractives pour les vecteurs en modifiant la production de composés volatiles et d'éthylène, encourageant ainsi un comportement d'attraction favorisant la transmission (Mauck et al., 2010, 2014; Medina-Ortega et al., 2009). De plus, un puceron virulifère est davantage attiré par des plantes saines (Ingwell et al., 2012; Rajabaskar et al., 2013).

Les virus peuvent également modifier le comportement alimentaire du puceron afin d'optimiser leur transmission. En effet, l'utilisation de la technique EPG (electropénétrographie) met en évidence des modifications dans la prise de nourriture potentiellement associées à une meilleure transmission du virus (Lei et al., 2016). L'EPG est une technique composée d'un circuit électrique partiel, qui permet lorsque ce circuit est fermé (correspondant à l'insertion des stylets dans les cellules de la plante) d'afficher un graphique caractéristique des différentes activités de l'insecte : excrétion de salive ou ingestion de matières cellulaires, type de tissu pénétré (phloème, xylème ou mésophylle), temps passé dans chaque tissu, nombre de ponctions réalisées (Tjallingii, 1988; Tjallingii and Esch, 1993). Carmo-Sousa et al. (2014) ont ainsi observé *qu'Aphis gossypii* multipliait les ponctions de sondage intracellulaires sur des plants de concombre (*Cucumis sativus*) infectés par le CMV (Carmo-Sousa et al., 2014). De même *Myzus persicae* sonde plus fréquemment des plants de poivron infectés par le PVY et la transmission du PVY est corrélé avec un plus court temps d'acquisition (Collar et al., 1997). Wu et al., 2017 ont montré que l'attraction des vecteurs induite par le CMV est sous le contrôle de la voie de signalisation de l'hormone JA, qui réprime l'attractivité de l'hôte pour les pucerons via MYC2 et ses homologues MYC3 et MYC4 (Wu et al., 2017).

b. La virulence

La tolérance

La virulence peut être considérée comme la capacité de l'agent pathogène **à infecter ou pas une plante** (composante binaire), ou comme **l'effet néfaste du pathogène sur son hôte** (trait quantitatif, i.e. impact sur la croissance de l'hôte) (Lannou, 2011; Pariaud et al., 2009). Dans le cadre de cette thèse, le terme de virulence est utilisé dans son sens quantitatif, et plus particulièrement l'impact du virus sur la croissance, la survie et la reproduction des plantes hôtes.

De manière générale, les virus altèrent l'expression des gènes et la physiologie de leur plante hôte, avec des effets directs sur la survie de l'hôte, sa croissance, sa fécondité et par conséquent sur sa valeur sélective ou fitness (c'est-à-dire sa capacité à survivre et à se reproduire) (Pariaud et al., 2009). L'infection virale peut induire une réduction de croissance et de productivité ou conduire à la mort de la plante dans les cas extrêmes (Doumayrou et al., 2013a; Esau, 1968; Lannou, 2011). Le virus en réduisant la fitness de l'hôte, exerce donc une pression de sélection qui peut conduire au développement de différentes stratégies de défense de la plante hôte comme **la tolérance** (Pagán and García-Arenal, 2018; Råberg, 2014). Les mécanismes impliqués dans la tolérance ne sont pas tout à fait compris mais il semblerait que ces mécanismes soient reliés à la capacité de la plante à pouvoir être très plastique et en particulier à modifier sa phénologie face à l'infection (Pagán et al., 2008). Le contrôle de la tolérance est polygénique et parfois monogénique et dépend de l'interaction entre les génotypes des plantes et des virus (Pagán et al., 2008; Pariaud et al., 2009).

La résistance

La capacité de l'hôte à stopper la multiplication peut entrainer **une résistance** à l'agent pathogène. Il existe de nombreux cas de plantes **infectées** et cependant **asymptomatiques** traduisant la mise en place d'une résistance vis à vis du pathogène viral (Carval and Ferriere, 2010). La résistance face à un virus est souvent monogénique et repose sur un gène de résistance majeur (Fraser, 2003). Cette mise en place de la résistance s'effectue via des mécanismes de défense classiques de la plante (i.e. activation hormonale, ROS, flux de calcium) (Soosaar et al., 2005). Il existe également un système de défense antiviral spécifique et extrêmement efficace (ARN interférence ; RNAi) capable de cibler et d'inhiber l'expression d'une espèce virale donnée (Qu, 2010). Une résistance peut être durable dans le temps ou alors être contournée. La notion de durabilité d'une résistance est plutôt abstraite puisqu'elle est difficilement quantifiable. Johnson (1984) a défini qu'une résistance était durable lorsqu'elle restait efficace suite à son déploiement sur une longue durée et à une grande échelle, dans un environnement favorable au développement de l'agent pathogène (Johnson, 1984).

c. L'accumulation virale

L'accumulation virale *in planta* correspond au nombre de **particules virales** présentes au sein de l'hôte. Une fois que le virus pénètre dans la plante (site primaire d'infection) via

l'insecte vecteur ou de manière indirecte (inoculation mécanique), l'infection peut débuter si la plante est hôte. Une plante peut être hôte de plusieurs virus comme par exemple *A. thaliana,* hôte de plus d'une vingtaine de genre de virus (Ouibrahim and Caranta, 2013; Shukla et al., 2019). Chez les végétaux, la propagation intra-hôte ou systémie, est favorisée par le transport via le système vasculaire (phloème) (Revers and García, 2015; Roberts et al., 1998). La **systémie** correspond au mouvement des particules virales des feuille inoculées à des feuilles non inoculées. Cette phase du mouvement viral dans son hôte est beaucoup moins bien renseignée que le mouvement cellule à cellule via **les plasmodesmes** (Hipper et al., 2013).

Plus précisément, après l'inoculation du virus, **les virions** sont désassemblés dans les cellules de l'épiderme ou du mésophylle pour les virus non circulants et certains virus circulants (et dans les cellules compagnes / parenchyme phloémien pour les virus circulants restreints au phloème comme les Begomovirus ou les Lutéovirus) pour permettre **la réplication et la traduction** du génome viral (Mayo and Ziegler-Graff, 1996; Yadava et al., 2010). Une protéine virale de mouvement, parfois associée à des facteurs cellulaires, interagit alors avec le génome viral ou le virion pour former des complexes de transport permettant un mouvement du virus de cellule à cellule par l'intermédiaire des plasmodesmes (Hipper et al., 2013). La réplication virale et le mouvement de cellule à cellule continuent dans et entre les cellules du phloème à savoir la gaine vasculaire, les cellules compagnes et le parenchyme vasculaire (Hipper et al., 2013). Ensuite, les complexes de transport sont chargés dans **la sève** pour permettre le transport à **longue distance via les tubes criblés**, avant d'être finalement libérés dans les tissus non inoculés pour commencer un **nouveau site d'infection** (Scholthof, 2005) (Figure 6).

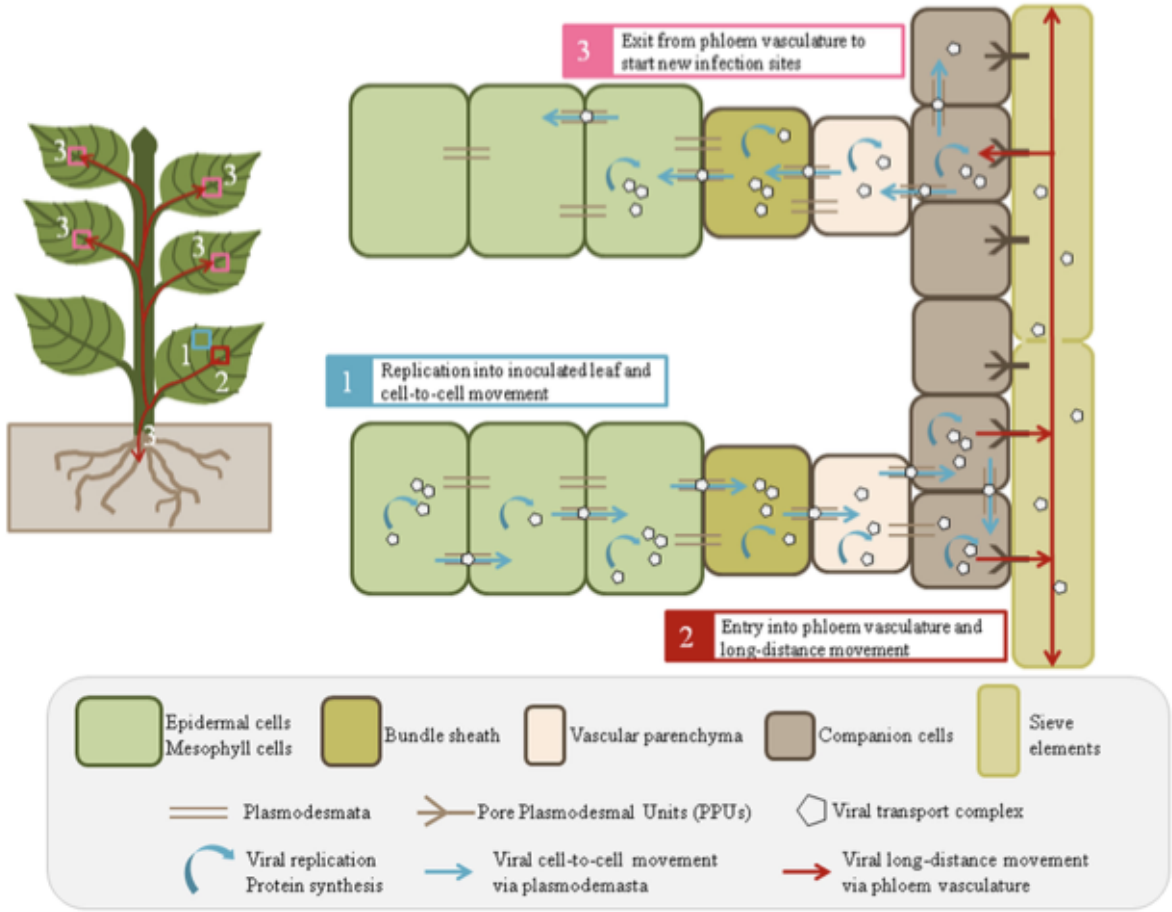


Figure 6: Vue générale du mouvement de cellule à cellule et à longue distance du virus dans les tissus végétaux (d'après Hipper et al., 2013). Après l'inoculation du virus, les virions sont désassemblés dans les cellules de l'épiderme ou du mésophylle pour permettre la réplication et la traduction du génome viral (1). Les protéines virales, parfois associées à des facteurs cellulaires, interagissent avec le génome viral pour former des complexes de transport (virions ou complexes RNP) permettant un mouvement du virus de cellule à cellule par l'intermédiaire des plasmodesmes (1). La réplication virale et le mouvement de cellule à cellule continuent dans, et entre, les cellules du phloème à savoir la gaine vasculaire, les cellules compagnes et le parenchyme vasculaire. Ensuite, les complexes de transport sont chargés dans la sève pour permettre le transport à longue distance (2), avant d'être finalement libérés dans les tissus systémiques pour commencer un nouveau site d'infection (3). L'ensemble du processus nécessite un passage efficace entre les différents types de cellule pour conduire à une infection systémique de la plante.

d. Le « trade-off » entre les traits viraux

L'hypothèse du compromis ou « **trade-off** » est une hypothèse entre les traits viraux mais plus particulièrement entre la virulence et la transmission virale (Anderson and May, 1982). D'après cette hypothèse, un parasite ne peut augmenter sa virulence (et donc écourter la durée d'infection en tuant l'hôte) sans en payer le prix, spécifiquement en terme de diminution des

probabilités de transmission et donc de maintien de la population virale (Anderson and May, 1982; Ewald, 1983; Froissart et al., 2010a). En résumé cette hypothèse postule que même si un niveau élevé de réplication du parasite augmente les possibilités de transmission, une réplication rapide risque également de nuire à l'hôte rapidement (Anderson and May, 1982). Il y aurait donc un niveau **optimal de virulence** intégrant les avantages de la **transmission** et le coût de la **mortalité de l'hôte** (Alizon and Michalakis, 2015; Lipsitch and Moxon, 1997).

Les bases biologiques du compromis entre virulence et transmission du parasite impliquent que l'autoréplication du parasite (accumulation virale) tendrait à maximiser la virulence et la transmission du parasite. En effet, ces deux paramètres sont positivement liés au taux de réplication du parasite dans l'hôte (Froissart et al., 2010a; Lipsitch and Moxon, 1997). Il y a alors apparition d'un compromis évolutif entre virulence et transmission, se traduisant par une évolution vers une virulence intermédiaire optimale (Alizon and Michalakis, 2015). Cette relation est la résultante que la transmission virale et la mortalité (ou la forte réduction de croissance i.e la virulence) induite par un virus sur l'hôte sont des traits positivement corrélés à l'accumulation du parasite intra-hôte et à son effet délétère sur le fonctionnement de l'hôte (Alizon et al., 2009; Lipsitch and Moxon, 1997). De manière plus simple, cette hypothèse repose sur deux hypothèses clés : d'une part, l'accumulation croissante de virus augmente la virulence et d'autre part, l'accumulation croissante de virus augmente la probabilité de transmission du virus à un autre hôte (Alizon et al., 2009; Anderson and May, 1982; Ewald, 1983). L'effet pléiotrope du taux d'accumulation génère un compromis **transmission-virulence** tel qu'il n'est pas possible de maximiser simultanément le taux de transmission et la durée de l'infection (Froissart et al., 2010a).

Cependant, peu de données empiriques permettent d'appuyer cette hypothèse (Alizon et al., 2009). Certaines études suggèrent une corrélation positive entre l'accumulation virale et/ou la virulence et le taux de transmission (Banik and Zitter, 1990; Doumayrou et al., 2013b; Escriu et al., 2000; Wintermantel et al., 2008). Ces résultats restent cependant controversés et semblent dépendre du pathosystème étudié (Froissart et al., 2010a)(Rejeb et al., 2014; Kröel-Dulay et al., 2015; Parmesan and Hanley, 2015). Les études sur l'existence d'une corrélation entre l'accumulation virale et la virulence sont très rares. Dans l'ensemble, les données disponibles ne nous permettent pas de confirmer ou d'infirmer l'existence d'une corrélation systématique entre ces trois traits viraux (Alizon et al., 2009; Froissart et al., 2010a).

Dieter Ebert et James Bull considèrent le modèle comme « trop simpliste ». En effet, en pratique, les relations entre hôtes et parasites sont caractérisées par bien plus que deux paramètres que sont la virulence et la transmission : par exemple, dans le cas des infections multiples (lorsque l'hôte est infecté par différents parasites), il peut y avoir compétition entre eux pour l'accès aux ressources de l'hôte (Ebert and Bull, 2003). Ou encore la prise en compte de la réponse immunitaire de l'hôte peut diminuer la virulence. Le modèle de « trade-off » simplifierait la réalité biologique en considérant que la virulence et la transmission du parasite sont indépendantes des caractéristiques de l'hôte (Ebert and Bull, 2003). Or, en réalité, ces paramètres sont le résultat d'interactions multiples au sein de l'hôte, par exemple le comportement que peut adopter l'hôte pour contrer l'infection ou d'autres mécanismes une fois l'infection engagée ou l'environnement (Ebert and Bull, 2003).

C. Interactions plantes / pathogènes en conditions de stress combinés

1- Les pathogènes dans des environnements changeants : amis ou ennemis ?

Dans des conditions naturelles, de nombreux stress abiotiques et biotiques se produisent simultanément (Kröel-Dulay et al., 2015; Parmesan and Hanley, 2015; Rejeb et al., 2014). Les plantes ont mis au point des mécanismes spécifiques leur permettant de détecter les changements environnementaux et de réagir à des conditions de stress complexes, en minimisant les dommages tout en conservant des ressources précieuses pour la croissance et la reproduction (Herms and Mattson, 1992). Différents facteurs de stress combinés peuvent être considérés comme **additifs**, lorsque ces facteurs de dommages s'accumulent ou **interactifs**, lorsqu'un stress modifie la réponse à un autre stress (Niinemets, 2010). L'interaction entre les facteurs biotiques et abiotiques chez les plantes a souvent été analysée par **extrapolation** de l'information acquise à partir des réponses à des stress isolés. L'environnement peut influencer directement et indirectement les interactions plantes-pathogènes et avoir un effet sur l'incidence et les distributions spatio-temporelles des maladies de plantes dans les écosystèmes naturels (Pandey et al., 2015; Winner and Pell, 2012). Les quelques études récentes combinant les contraintes abiotiques et biotiques démontrent clairement qu'en plus des facteurs liés aux pathogènes et aux génotypes de plantes, ces interactions dépendent également de l'environnement (Fraile and García-Arenal, 2016; Prasch and Sonnewald, 2013; Ramegowda and Senthil-Kumar, 2015; Suzuki et al., 2014; Szczepaniec and Finke, 2019). Il est donc supposé que tout facteur environnemental modifiant le développement, la phénologie ou la

physiologie d'une plante hôte peut également interagir avec des traits viraux majeurs tels que la propagation systémique ou la virulence et affecter la performance de la plante et du virus.

a. L'effet néfaste des pathogènes sur la croissance de leur hôte

Des stress thermique ou hydrique peuvent induire une augmentation de la susceptibilité face à un pathogène. Cela a été observé chez le sorgho (*Sorghum bicolor*) et le haricot (*Phaseolus vulgaris*) soumis à un WD et montrant une plus grande sensibilité au champignon *Macrophomina phaseolina* (Mayek-Pérez et al., 2002). De plus, chez *Nicotiana benthamiana* et *A. thaliana*, les réponses de défense hypersensibles (HR) et des gènes R à *Pseudomonas syringae* et aux éliciteurs viraux semblent compromises à des températures élevées, ce qui permet une croissance accrue de ces agents pathogènes (Wang et al., 2010). Chez le blé, l'augmentation des températures observée sur une période de six ans est corrélée à une sensibilité accrue au champignon *Cochliobolus sativus* (Duveiller and Sharma, 2009). Lors d'une infection virale et d'un stress abiotique, différents comportements ont été observés sur l'effet sur la croissance de la plante. Une étude sur l'infection d'*A. thaliana* (Col-0) par le TuMV (*Turnip mosaic virus*) soumis à une combinaison de chaleur et de WD a mis en évidence que chaque stress induisait une réduction significative de la biomasse et qui devenait exacerbée lorsque les différents stress étaient appliqués ensemble, en particulier sous une combinaison de stress viral et thermique (Prasch and Sonnewald, 2013). De plus, la chaleur seule ou la combinaison de la chaleur et d'un WD augmentent la susceptibilité des plantes à l'infection virale (Prasch and Sonnewald, 2013). De même, en condition de WD les effets délétères du *Maize dwarf mosaic virus* et du *Beet yellows virus* augmentent (Clover et al., 1999; Olson et al., 1990). Par ailleurs, une virulence accrue du *Barley yellow dwarf virus* dans le blé est corrélée avec une augmentation de la température (Nancarrow et al., 2014). Enfin, le changement climatique peut affecter la résistance des plantes aux agents pathogènes (Huang et al., 2012; Lake and Wade, 2009). Par exemple, des taux en CO_2 et O_3 élevés affecteraient l'efficacité des résistances hôtes et supprimeraient l'induction de la résistance par les agents pathogènes (Huang et al., 2012; Lake and Wade, 2009).

b. Quand les pathogènes deviennent bénéfiques pour leur hôte

La combinaison de stress biotiques et abiotiques peut induire des effets bénéfiques sur la croissance des plantes, qu'on appelle le mutualisme. Dans les années 2000, Marylin J.

Roossinck a fait émerger le concept de **virus mutualiste** (Roossinck, 2015a). L'essor de la métagénomique a permis de constater que la majorité des plantes cultivées ou sauvages (70% des plantes dans les écosystèmes naturels) étaient infectées par des phytovirus sans pour autant présenter de symptômes d'infection (Malmstrom et al., 2011; Roossinck, 2012). Cette observation a fait émerger l'hypothèse que certains virus pourraient être **bénéfiques** pour leur plante hôte dans des **conditions extrêmes** (Roossinck, 2015b, 2015a; Xu et al., 2008). Cette idée est connue et bien décrite concernant les champignons ou les bactéries PGPR, cependant, ce concept est assez nouveau concernant les virus (Roossinck, 2015b, 2015a; Singh et al., 2011; Yang et al., 2009). Ainsi, l'infection par le CMV améliore la tolérance au WD de diverses plantes hôtes, de même pour la résistance au froid chez des plants de betterave (Westwood et al., 2013; Xu et al., 2008). Des teneurs en eau plus importantes sont mesurées sur les plantes infectées par le CMV et en WD versus des plantes en WD mais non infectées, traduisant une meilleure rétention d'eau des plantes infectées (Xu et al., 2008). En situation de WD, certains métabolites sont maintenus à des niveaux élevés ou présentent une accumulation accrue, ce qui est en corrélation avec une tolérance accrue au WD chez les plantes infectées (Xu et al., 2008). Bien que les mécanismes sous-jacents ne soient pas clairs, un rôle important de l'ABA - une hormone induite par la sécheresse - et d'autres voies hormonales telles que l'acide salicylique, le jasmonate ou l'éthylène ont été mis en évidence et un certain nombre d'osmos-protecteurs potentiels qui augmentent dans les plantes infectées par le virus pourrait expliquer à la fois la tolérance à la sécheresse et au froid (Xu et al., 2008). L'amélioration de la tolérance au WD d'*A. thaliana* par le CMV serait aussi due à la protéine 2b (Westwood et al., 2013). Cette protéine joue un rôle dans le mouvement local et systémique, dans l'induction des symptômes, dans la suppression du silencing et perturbe la signalisation régulée par SA et JA (Westwood et al., 2013). Le virus engendre une tolérance à la sécheresse en modifiant les caractéristiques des racines et non des tissus aériens (Westwood et al., 2013). De plus, une augmentation de la teneur en CO_2 atmosphérique diminue l'impact du *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) sur la tomate et serait lié a à une altération des voies hormonales SA et JA (Huang et al., 2012). De la même manière, l'association du *Curvularia thermal tolerance* virus (CThTV) avec le champignon endophyte *Curvularia protuberata* permet à la plante *Dichanthelium lanuginosum* de mieux assurer sa croissance à des températures élevées (Marquez et al., 2007). Concernant cette interaction, la seule hypothèse émise est que les endophytes pourraient protéger leur plantes hôtes en « nettoyant » les cellules des molécules ROS toxiques qui sont générées lors

des mécanismes de défense des plantes en réponse à un changement de l'environnement, mais cette hypothèse reste encore incertaine (Chen and Dickman, 2005; Marquez et al., 2007).

Les mécanismes de ces interactions bénéfiques restent cependant encore largement méconnus (Roossinck, 2013). Il semble que les effets positifs des virus sur leur plante hôte ne soient probablement pas dus à une interaction directe du virus avec la plante hôte.

Une conclusion générale des études à ce jour réalisées, est que le rendement de la plante dans des conditions de stress combinés est difficile à prévoir et peut entraîner une performance réduite ou améliorée en fonction de la phénologie, de l'espèce végétale et de l'isolat du pathogène (Ouibrahim and Caranta, 2013; Prasch and Sonnewald, 2013; Ramegowda and Senthil-Kumar, 2015).

2- Des moyens de défense communs des plantes face au stress abiotique et biotique

Ces facteurs communs de réponse sont particulièrement intéressants dans la recherche et pour l'identification de déterminants pouvant par la suite être utilisés dans des programmes de sélection (Atkinson and Urwin, 2012; Rejeb et al., 2014) (Figure 7). Un nombre croissant de données met en évidence un lien étroit entre **les voies physiologiques** de la plante impliquées dans les réponses aux différents **stress abiotiques** et la **défense contre les agents pathogènes** et les herbivores (Pandey et al., 2015; Rejeb et al., 2014).

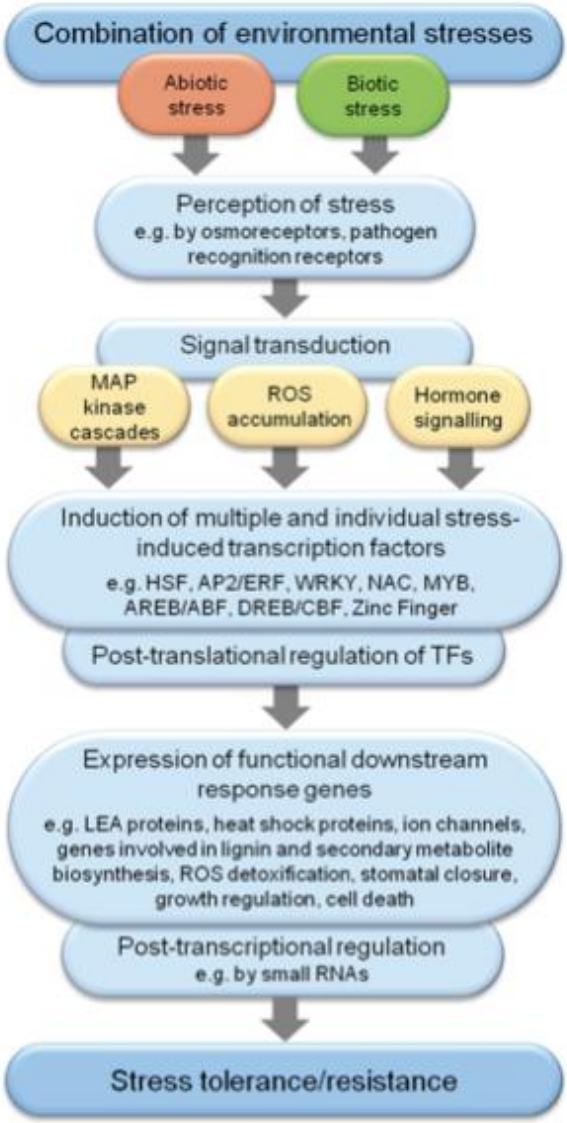


Figure 7: Événements clés de la voie de transduction du signal activés en réponse aux stress combinés biotiques et abiotiques (d'après Atkinson & Urwin, 2012). Les interactions entre stress abiotiques et biotiques sont complexes et mettent en jeu divers facteurs impliqués dans différentes voies de signalisation dont l'objectif est de conférer la tolérance/résistance aux plantes face aux stress. Certains de ces facteurs et de ces voies de signalisation sont communs dans la réponse des plantes à des stress abiotiques et biotiques. Les signaux dans les encadrés jaunes ont été développés dans le corps de texte.

a. La signalisation calcique

Chez les plantes comme chez les animaux, lors d'un stress abiotique ou biotique, la signalisation **calcique** joue un rôle physiologique clé (Dodd et al., 2010; Duchen, 1999; Kudla et al., 2010, 2018). Cela constitue un premier niveau de signalisation très rapide de l'ordre de la milliseconde (White and Broadley, 2003). Lorsque la plante est dans un environnement favorable, les niveaux de Ca^{2+} sont de l'ordre de 1mM dans les réservoirs de Ca^{2+} (i.e. apoplaste, vacuole) et beaucoup plus faible dans le cytosol (environ 0,0001mM) (White and Broadley, 2003). En présence d'un pathogène ou d'un stress abiotique, les ions Ca^{2+} sont rapidement libérés dans le cytosol soit par une entrée de Ca^{2+} d'origine apoplasmique, *via* l'activation de canaux calciques de la membrane plasmique, soit par une libération du Ca^{2+} des réserves

internes (vacuole ou réticulum endoplasmique) avant d'être à nouveau rapidement exportés vers les réservoirs *via* des pompes à calcium (ATPases) (Knight et al., 1997; Verret et al., 2010). Ce va et vient d'ions Ca^{2+} crée des oscillations calciques qui vont déclencher des réactions dans la cellule concernée et qui peut être propagée vers les cellules voisines ou à des distances plus grandes. Par exemple, les sécrétions salivaires émises par un insecte broyeur (*Spodoptera littoralis*) lors de la prise de nourriture sur les plantes émettent des éliciteurs qui, une fois reconnus par la plante, induisent des variations significatives de Ca^{2+} dans le cytosol (Kanchiswamy et al., 2010). De même, une infestation de *M. persicae* sur *A .thaliana* entraîne une surexpression des gènes liés à la signalisation calcique (Vincent et al., 2017). L'alimentation de *M. persicae* provoque des dépolarisations de la membrane plasmique dans les cellules du mésophylle d'*A. thaliana* (Bricchi et al., 2012). Le rôle majeur du Ca^{2+} dans les interactions plantes-pucerons se situerait au niveau du phloème de la plante où le Ca^{2+} bloquerait la circulation de la sève, coupant ainsi les pucerons de leur source d'alimentation (Furch et al., 2009; Kauss et al., 1983).Ces oscillations sont les prémices d'activation d'autres molécules signaux comme les ROS ou les voies de signalisation hormonales (Figure 8) (Gilroy et al., 2016; Mittler, 2006; Mittler and Blumwald, 2015). Les piqûres de pucerons engendrent une cascade de réponses dont la signalisation calcique qui va activer les réactions de défenses de la plante (Vincent et al., 2017).

Cette activation de réactions de défenses via la signalisation calcique est aussi importante pour d'autres stress, comme le WD (Kadota et al., 2015; Kiegle et al., 2001; White and Broadley, 2003).

b. Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ou ROS, pour Reactive Oxygen Species) sont des dérivés de l'oxygène hautement instables (Liu et al., 2002). Cette instabilité provient de la présence d'un électron de valence non apparié susceptible d'intervenir dans l'établissement des liaisons chimiques entres différents atomes pour former une molécule instable (Apel and Hirt, 2004). Les ROS sont généralement considérées comme des molécules phytotoxiques à très forte réactivité capable d'oxyder les protéines, les lipides, les glucides, et les acides nucléiques (Foyer and Noctor, 2005; Sharma et al., 2012). Chez les plantes, 4 formes de ROS sont prédominantes : l'oxygène singulet $^1O_2$, l'anion superoxyde O_2^-, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et pour terminer le plus réactif, le radical hydroxyle HO (Waszczak et al., 2018). Les

plantes utilisent les ROS au sein de leur cellules végétales comme des molécules signaux pour contrôler de nombreux processus biologiques en lien avec leur environnement biotique ou abiotique (Baxter et al., 2014; Liu et al., 2017; Mittler et al., 2011; Suzuki and Katano, 2018; Wojtaszek, 1997).

La signalisation par les ROS lors d'un stress biotique agit en tant que messager secondaire localement et systémiquement pour déclencher des réponses immunitaires (Baxter et al., 2014; Torres and Dangl, 2005; Wojtaszek, 1997). La perception des pathogènes par les plantes conduit à une production rapide, spécifique et forte de molécules ROS, par l'activation principalement des protéines RBOHD et RBOHF (Kadota et al., 2015; Liu and He, 2016; Liu et al., 2017). Ces deux protéines ont un rôle important dans la signalisation et agissent en synergie lors des réponses physiologiques activées par le système immunitaire de la plante (Mittler et al., 2011). Des études ont permis d'identifier que la signalisation ROS, produite par la NADPH oxydase RBOHD, était impliquée dans le contrôle de l'infestation par le puceron *M. persicae*. Ce résultat a été obtenu pour différentes interactions plante-puceron (Czerniewicz et al., 2017; Kerchev et al., 2012; Zhao et al., 2016).

Ces mêmes gènes, *rbohd et rbohf,* sont aussi important lors de stress abiotiques (Jalmi and Sinha, 2015; Jaspers and Kangasjärvi, 2010; Kurusu et al., 2015). L'H_2O_2 produit suite à l'activation de la NADPH oxydase favorise le dépôt de callose et contribue ainsi à l'occlusion des tubes criblés du phloème impactant l'alimentation des pucerons (Louis and Shah, 2013). Les ROS pourraient également affecter d'autres mécanismes de signalisation et de défense (Louis and Shah, 2013). En effet, la production de molécules ROS peut restreindre l'entrée de pathogènes via le déclenchement de processus comme la fermeture des stomates ou le renforcement des parois cellulaire de la plante (Bradley et al., 1992; Macho et al., 2012). Les ROS vont activer également l'expression de gènes importants comme *zat12*, gène impliqué dans la réponse aux stress abiotiques et biotiques ou le gène *zat7* dont le produit confère une tolérance à divers stress abiotiques (salinité, froid) (Atkinson et al., 2013; Davletova et al., 2005; Gadjev et al., 2006). Enfin, une étude récente a souligné encore une fois l'importance des ROS dans la réponse aux stress environnementaux ou biotiques (Choudhury et al., 2017). En effet, Coolen et al (2016) ont réalisé une analyse transcriptomique de la réponse d'*A. thaliana* à trois stress appliqués de façon séquentielle et ont mis en évidence que le set de gènes les plus dérégulés été associé à une seule fonction : les ROS quelle que soit la combinaison des stress (Coolen et al., 2016).

c. Les MAP-kinases

Les cascades de signalisation activées par les MAP-kinases (Mitogen-activated protein kinases ; MAPK) sont cruciales chez les eucaryotes dans la réponse à divers stimuli environnementaux (Pitzschke et al., 2009). Que ce soit pour des stress abiotiques (WD ou chaleur) ou suite à la détection d'un pathogène, il est important pour la plante d'activer la synthèse de protéines de défense (Taj et al., 2010). Suite à une cascade de phosphorylation suivante : une MAPK kinase kinase (ou MAPKKK) va phosphoryler une MAPK kinase (MPAKK) qui elle-même va phosphoryler une MAPK, il y a une mise en place de réponses très rapides (Pitzschke et al., 2009; Zhang and Klessig, 2001). Cette dernière MAPK va activer une ou plusieurs autres protéines en aval, comme par exemple des facteurs de transcription, tels que les WRKY (répresseurs ou activateurs de processus importants pour les défenses de plante) (Pitzschke et al., 2009; Rushton et al., 2010). Cette réorganisation de la transcription nucléaire a pour but d'activer les défenses de la plante, avec pour résultante un renforcement de la paroi ou encore une production de composés antimicrobiens (Zhang and Klessig, 2001). Chez *A. thaliana* 110 gènes codent pour des composants (dont certains putatifs) des voies de signalisation des MAPK, avec environ 20 MAPK, 10 MAPKK et 80 MAPKKK (Pitzschke et al., 2009). La taille imposante de cette famille de protéines suggère que ces molécules sont importantes pour la survie de la plante en réponse à des stimuli externes (Ludwig et al., 2005). Cette hypothèse semble être confirmée par certaines études montrant que de nombreux effecteurs de type III de *Pseudomonas* ciblent des MAPK (Xin and He, 2013). Chez *A. thaliana*, la MAPK6 est activée en réponse au froid et à des stress salins mais également en réponse à des stimuli induits par des agents pathogènes (Nühse et al., 2000; Zhu et al., 2007).

d. La signalisation hormonale

Lors d'un stimulus externe, provoqué par l'environnement abiotique ou par un pathogène, les phytohormones ont également un rôle central tout en assurant la croissance et le développement des plantes (Davies, 2012; Rejeb et al., 2014). Lors d'une réponse à un stimulus extérieur les différentes voies hormonales n'agissent non pas de manière indépendante, mais en interactions synergiques ou antagonistes (Peleg and Blumwald, 2011; Spoel and Dong, 2008). Trois hormones végétales sont connues pour leur rôle majeur dans la réponse à un stress biotique : l'acide salicylique (SA), l'acide jasmonique (JA) et l'éthylène (ET) (Bari and Jones, 2009). En général, l'acide jasmonique et l'éthylène sont associés à des mécanismes de lutte

contre des pathogènes dits nécrotrophes ou contre les insectes herbivores alors que l'acide salicylique joue un rôle important dans l'activation des défenses de la plante contre des pathogènes biotrophes y compris les virus (Bari and Jones, 2009). Plusieurs études ont décrit l'effet inhibiteur de l'acide salicylique sur le mouvement systémique de divers virus (Horváth et al., 2007; Janda and Ruelland, 2015; Naylor et al., 1998). Cette hormone est connue pour induire la réponse SAR (Systemic acquired resistance) mais d'après quelques études, elle cause également un retard dans le mouvement systémique du CMV ainsi qu'une inhibition de ce mouvement chez le CaMV et le *Plum pox virus* (PPV), sans pour autant altérer la réplication ou le mouvement de cellule à cellule de ces virus (Alamillo et al., 2006; Love et al., 2012; Naylor et al., 1998). De plus, l'acide jasmonique semble être important dans la réponse au stress abiotique comme la chaleur ou le stress salin (Kazan, 2015). La voie de l'acide jasmonique intervient aussi dans la résistance contre *M. persicae*. En effet, Ellis et al. (2002) ont mis en évidence que des plantes contenant des niveaux plus élevés en acide jasmonique étaient plus résistantes à une infestation par *M. persicae* (Ellis et al., 2002). De plus, la voie de l'acide jasmonique est connue pour favoriser chez *A. thaliana* l'accumulation de métabolites (phytoalexine, camalexine, N-acétylornithine) qui sont préjudiciables à *M. persicae* en réduisant sa fécondité (Adio et al., 2011). Les voies hormonales de l'acide jasmonique et de l'acide salicylique sont antagonistes ce qui suggère que la réponse des plantes est adaptée au pathogène et à sa stratégie d'infection (Bari and Jones, 2009). Concernant l'éthylène, sa concentration est élevée dans des plantes infestées de pucerons (Argandoña et al., 2001; Mantelin et al., 2009). Différentes expériences ont prouvé que la signalisation de l'éthylène est impliquée dans l'expression de gènes favorisant la résistance à *M. persicae* et à la réponse à des pathogènes (Anstead et al., 2010) et peut médier l'infection virale par les pucerons (Bak et al., 2019). L'acide jasmonique et l'éthylène semblent aussi avoir des rôles importants dans la tolérance à des stress abiotiques comme le WD (Kazan, 2015).

L'ABA (acide abscissique) est une hormone qui a un rôle crucial dans la réponse des plantes à des stress multiples (Wilkinson and Davies, 2002). L'ABA semble être un régulateur négatif des voies de défense SA et JA/éthylène normalement activées lors des stress biotiques (Adie et al., 2007; Kissoudis et al., 2015; Lievens et al., 2017). Il semblerait même que certains pathogènes exploitent ce rôle de l'ABA dans la suppression des mécanismes de défense. Par exemple, *Pseudomonas syringae* type III sécrète des effecteurs (T3SE) qui ciblent la voie de l'ABA chez *A. thaliana* pour déclencher la maladie (Asselbergh et al., 2008). Cependant,

certaines études ont aussi décrit des effets positifs de l'ABA sur les mécanismes de défense à des agents pathogènes. En effet, Melotto et al., ont montré que l'induction de la fermeture des stomates par l'ABA empêcherait l'entrée de certains agents pathogènes (Melotto et al., 2006). L'action de l'ABA sur les mécanismes de défense pourrait donc être dépendante des caractéristiques de l'infection mise en jeu (nature de l'agent pathogène et temps d'infection) (Melotto et al., 2006). L'ABA est une hormone aussi très importante pour répondre en autre au WD en contrôlant la conductance stomatique et la transpiration foliaire (voir chapitre 1).

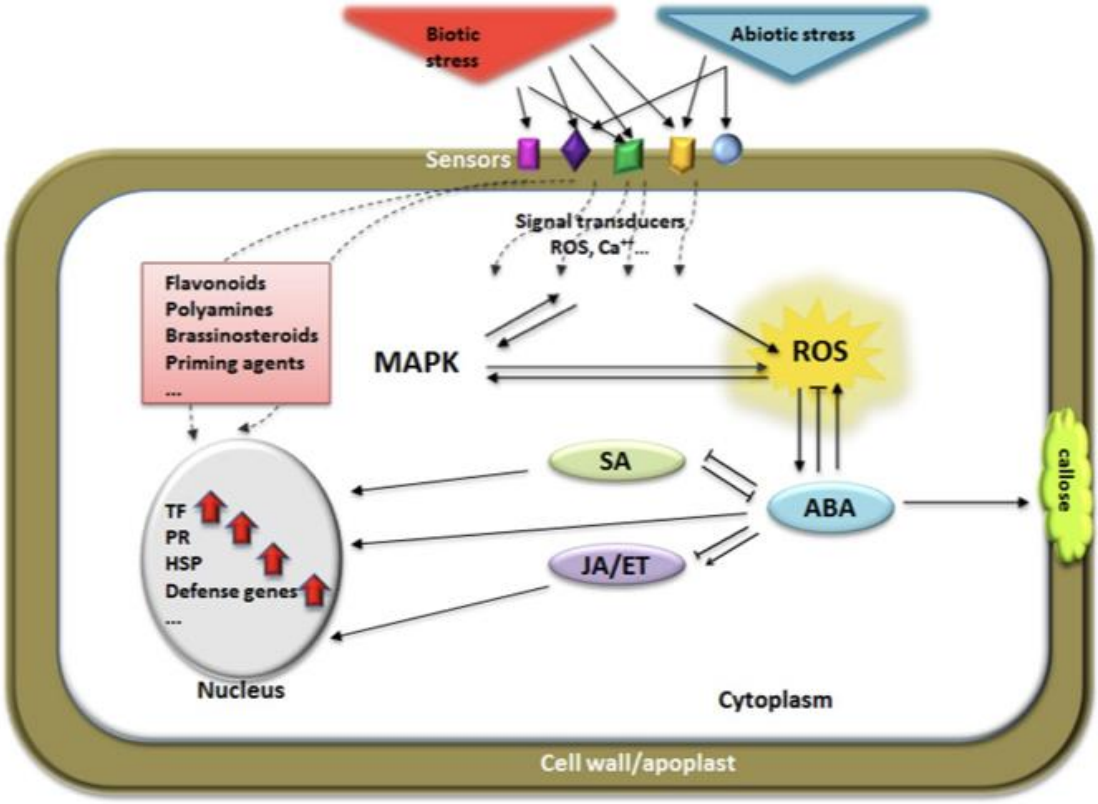


Figure 8 : Modèle représentant les interactions existantes entre un stress abiotique et un stress biotique (d'après Rejeb et al., 2014). Les stress biotiques et abiotiques détectés par la cellule végétale déclenchent une signalisation rapide (ROS, Ca^{2+}) qui vont activer des voies de signalisation communes aux différents types de stress (MAPK et production de ROS). Les MAPK occupent une position centrale dans la diaphonie entre le Ca^{2+} et les ROS ainsi que dans l'émission du signal suite à un stress spécifique. L'importance de la voie de signalisation ROS a également été décrite que ce soit pour les stress abiotiques ou biotiques et peut donc constituer un élément crucial de réponses croisées. La signalisation hormonale est majeure dans l'adaptation aux stress. Alors que l'ABA est principalement impliqué dans l'adaptation au stress abiotique, l'acide salicylique (SA), le jasmonate et l'éthylène (JA / ET) sont davantage impliqués dans les réponses aux stress biotiques. Ces différentes voies de signalisation hormonale peuvent interagir de manière synergique ou antagoniste et ce, de manière très complexe.

3- Interactions entre les stress abiotiques et les traits viraux

a. Modification de l'accumulation virale dans l'hôte par l'environnement

Des travaux récents montrent que les virus phytopathogènes réagissent à différents stress abiotiques imposés à la plante hôte, notamment en termes d'augmentation de l'accumulation virale dans les plantes (Aguilar et al., 2015; Canto and Palukaitis, 2002; Dorokhov et al., 2012; Huang et al., 2012; Matros et al., 2006; Parizipour et al., 2018; Suntio and Mäkinen, 2012; Szczepaniec and Finke, 2019; Zhang et al., 2012).

En condition de stress salin ou lors d'une blessure, l'expression du *Potato virus A* dans les feuilles de tabac infectées (*Nicotiana benthamiana*) augmente et est certainement liée à la signalisation calcique (Suntio and Mäkinen, 2012). En général, en condition de CO_2 atmosphérique élevé, l'accumulation virale est diminuée. En effet, l'accumulation virale du TYLCV (*Tomato yellow leaf curl virus*) chez la tomate (*Solanum lycopersicum*) ou du PVY chez le tabac sont réduites (Huang et al., 2012; Matros et al., 2006). Cette réduction de l'accumulation induit une plus faible virulence chez les plantes et semble lié à une altération des voies de signalisation SA et JA (Huang et al., 2012; Matros et al., 2006). De même pour le pathosystème PVX (*Potato virus X*) et le tabac (Aguilar et al., 2015).

En condition de haute température, l'accumulation du *Potato virus A*, du *Peanut stunt virus* ou du PVY augmentent chez le tabac (Chung et al., 2016; Obrępalska-Stęplowska et al., 2015). *A contrario*, l'accumulation virale diminue dans les pathosystèmes blé / orge (*Triticum aestivum* / *Hordeum vulagare*) et *Wheat dwarf virus*, tabac / *Tobacco mosaïc virus* ou *A. thaliana / Turnip crinkle virus* (Canto and Palukaitis, 2002; Parizipour et al., 2018; Zhang et al., 2012).

De plus, aucun effet a été montré sur l'accumulation du *Barley yellow dwarf virus* et du *Cereal yellow dwarf virus* lors d'une augmentation importante de la nutrition du sol (P et N) dans des plants d'avoine (*Avena sativa*) (Lacroix et al., 2017). Enfin, lors d'un stress lumineux, l'accumulation du *Turnip crinkle virus* chez *A. thaliana* est modifiée en fonction de l'intensité lumineuse (Ballaré, 2014; Chandra-Shekara et al., 2006). Une forte intensité lumineuse augmente la multiplication du TuMV ou diminue celle du CMV chez plusieurs accessions naturelles d'*A. thaliana* (Montes and Pagán, 2019).

Par conséquent, suivant les conditions environnementales et le pathosystème étudié, l'accumulation virale *in planta* peut diminuer ou augmenter. La réponse à l'environnement en termes d'accumulation virale semble difficile à prédire.

b. Altération de la transmission virale suite à une modification de l'environnement abiotique

La transmission virale est une étape clé qui assure la survie du pathogène dans son environnement (Bragard et al., 2013). Dans le cas de la transmission vectorielle, qui représente la très grande majorité des cas, celle-ci est largement conditionnée par des caractéristiques liées au vecteur (e.g. comportement alimentaire, temps de développement, longévité, fécondité, migration) (Bragard et al., 2013; Fereres and Moreno, 2009; Nachappa et al., 2016; Scherm, 2004). Dans ce cadre, l'impact de l'environnement abiotique sur la biologie du vecteur a été étudié comme facteur pouvant influencer la transmission sans pour autant l'évaluer expérimentalement jusqu'à très récemment (Chung et al., 2016; Dáder et al., 2016; van Munster et al., 2017; Nachappa et al., 2016; Yvon et al., 2017).

Ainsi, il semblerait que la transmission de certains virus comme le CaMV et le TuMV soit directement affectée par le statut physiologique de la plante hôte (van Munster et al., 2017). Dans ces expériences un WD appliqué à des plants de navets (*Brassica rapa*) infectés optimise la transmission du CaMV et du TuMV par le puceron vecteur *M. persicae* (van Munster et al., 2017). Même si une altération du comportement alimentaire du puceron n'est pas complètement écartée il semblerait que cette augmentation de la transmission soit plutôt due à la capacité du virus à réagir à des modifications de son environnement (Gutiérrez et al., 2013; Martinière et al., 2013). Ces deux virus transmis selon le mode non circulant sont capables de percevoir la présence du vecteur ou un signal de stress abiotique (CO_2, H_2O_2) et réagir en conséquence en modifiant leur comportement intracellulaire (Berthelot et al., 2019; Martinière et al., 2013).

Dans le cas du CaMV, suite à la piqure du puceron, la protéine Helper P2 se relocalise instantanément sur les microtubules, facilitant l'acquisition du complexe transmissible (Martinière et al., 2013). Ce phénomène est réversible et la protéine P2 réintègre le corps à transmission (lieu de stockage cellulaire de cette protéine virale) une fois le signal de stress disparu (Martinière et al., 2013). Très récemment, un phénomène similaire a été démontré dans le cas du TuMV (Berthelot et al., 2019). Dans ce cas, la protéine Helper (protéine HC-pro) suite

à un signal de stress de type H_2O_2 s'associe sous forme de polymères grâce à l'induction de ponts cystéine intermoléculaires afin de former un complexe transmissible corrélé à une augmentation du taux de transmission (Atreya et al., 1992; Berthelot et al., 2019). A ce jour ce sont les deux seuls virus de plantes pour lesquels ce phénomène « d'activation de la transmission » a été décrit.

En revanche, lorsqu'un WD est cette fois appliqué à des plants d'*A. thaliana* infectés par le *Turnip yellows virus* (TuYV), un virus circulant appartenant à la famille des lutéovirus le taux de transmission est fortement réduit (Yvon et al., 2017). Il semblerait dans ce cas que ce soit le comportement alimentaire du puceron qui soit en cause. L'acquisition de ce virus circulant au niveau du phloème serait altérée par le WD, se traduisant par une accumulation virale dix fois moins importante dans les pucerons se nourrissant sur ces plantes comparée à des pucerons se nourrissant sur des plantes contrôle infectées (Yvon et al., 2017). Les pucerons sur plantes stressées compenseraient la baisse de pression osmotique en se nourrissant davantage dans les vaisseaux du xylème où ce virus est absent (le TuYV est un virus restreint au phloème) (Esau and Hoefert, 1972; Vickers, 2012).

Lorsque d'autres types de stress abiotiques sont appliquées, l'effet sur la transmission peut être différent. Il a été observé une diminution de la transmission du CMV (Dáder et al., 2016) (*Cucumber mosaic virus*) chez des plants de poivrons (*Capsicum annuum*) lorsque les plantes receveuses étaient soumises à une augmentation de la teneur de CO_2 atmosphérique. Cette diminution de transmission semble liée à une diminution du temps de salivation des pucerons *M. persicae* mais pas à la phase d'ingestion dans le phloème. De plus, elle semble liée à une qualité tissulaire inférieure ainsi qu'un ratio C / N défavorable des plants de poivrons (Dáder et al., 2016; Sun et al., 2016). Cette baisse de transmission a aussi été observé sur des plantes sources ayant poussées en condition de CO_2 atmosphérique élevé et de forte température (30°C) chez le pathosystème *Potato virus Y* / tabac et le puceron *M. persicae* (del Toro et al., 2019). L'intensité lumineuse modifie également la transmission, *via* les graines, du TuMV chez plusieurs accessions naturelles d'*A. thaliana* alors que ce même stress n'a aucun effet sur la transmission verticale du CMV chez ces mêmes accessions (Montes and Pagán, 2019).

Il semblerait donc que selon le couple virus-plante hôte, les réponses en termes de transmission soient différentes et très complexes. A ce jour les facteurs pouvant expliquer une

meilleure ou plus faible transmission en condition de stress abiotique ne sont pas clairs et peu connus.

D. Le modèle *Arabidopsis thaliana / Cauliflower mosaic virus*

1- *Arabidopsis thaliana* : plante modèle

Arabidopsis thaliana (L.) Heyn (2n = 10) couramment appelée l'Arabette des dames est une plante annuelle en forme de rosette appartenant à la famille des *Brassicaceae* (Alonso-Blanco and Koornneef, 2000). Le genre *Arabidopsis* comprend neuf espèces (e.g. *A. halleri, A. lyrata*) dont *A. thaliana* et huit sous-espèces différentes (O'Kane and Al-Shehbaz, 1997). Cette classification est assez récente et est fondée sur les études phylogéniques, morphologiques et moléculaires de O'Kane & Al-Shehbaz (O'Kane and Al-Shehbaz, 1997, 2003). La plupart des espèces sont localisées en Europe, mais *A. thaliana* présente une distribution mondiale occupant des habitats très variés mais majoritairement prépondérante sur des sols sablonneux ou argileux, souvent dans des zones labourées et cultivées (Baduel et al., 2016; Koornneef et al., 2004; Li et al., 1998). Des caractéristiques spécifiques liées à son cycle de vie (germination et initiation de la floraison) pourraient expliquer cette large distribution géographique et son adaptation à différents habitats (O'Kane and Al-Shehbaz, 1997). Sur la base de ces deux traits, deux groupes de plantes sont décrites :

- Les accessions annuelles hivernales germent à la fin de l'été / début de l'automne et passent l'hiver sous la forme végétative (rosette) puis initient leur floraison au printemps, suivant l'accession, la phénologie peut être très rapide (moins de 20 jours) ou très longue (plus de 100 jours) (Shindo et al., 2007).
- Les accessions annuelles estivales réalisent l'ensemble de leur cycle de vie au cours de l'été tant que les conditions sont favorables à la production de graine et donc sur une plus courte période (en moyenne 6 semaines) (Shindo et al., 2007).

En général au vu des conditions climatiques, les accessions du nord de l'Europe sont des plantes annuelles hivernales alors que dans le sud et l'est de l'Europe les deux catégories d'accessions sont retrouvées (Koornneef et al., 2004; Shindo et al., 2007). Au sein de ces deux

groupes, un grand nombre d'accessions présentent des caractéristiques différentes, à la fois morphologiques, physiologiques, phénologiques et par leur réponse à l'environnement biotique et abiotique (Koornneef et al., 1991, 2004; Lee et al., 1993; Vaughn et al., 2007; Weigel, 2012).

Arabidopsis thaliana, plante modèle, possède un génome d'environ 120 Mb constitué de 5 chromosomes (Shindo et al., 2007; Theologis et al., 2000). Son cycle de vie court et son génome réduit en font un outil moléculaire privilégié (croisements entre accessions ; mutants) (Alonso-Blanco and Koornneef, 2000). Ces caractéristiques ont ainsi permis de décortiquer des mécanismes physiologiques primordiaux (i.e. voies hormonales, gènes impliqués dans la croissance, la floraison). Les nouvelles technologies d'édition du génome comme les CRISPR-Cas9 ont permis de créer des nouveaux mutants de manière peu couteuse et ciblé, et de créer une grande banque de mutants pour étudier la fonction de gènes (Zhang et al., 2016). De plus, la grande variabilité naturelle d'accessions, permet de réaliser des études à la fois de GWAS (Genome-Wide Association Study) ou de QTL (Quantitative Trait Locus) (Alonso-Blanco et al., 2016; Filiault and Maloof, 2012; Korte and Farlow, 2013; Rubio et al., 2019). Ces études, réalisées sur un grand nombre d'accessions, permettent de détecter des gènes ou des locus sur le génome de la plante importants pour la réponse à l'environnement ou à la résistance à des pathogènes qu'on peut retrouver dans des populations naturelles. De plus, des projets comme le 1001 génomes (http://1001genomes.org) ont permis d'enrichir les bases de données et les ressources génétiques disponibles (annotation de gènes) ce qui permet d'avoir accès à une grande collection de mutants (Alonso-Blanco et al., 2016). Enfin, il est possible de retrouver un ensemble de données transcriptomique, protéomique et métabolomique dans diverses conditions environnementales ou de stades de développement (Alonso-Blanco et al., 2016; Garcia-Hernandez et al., 2002; Lamesch et al., 2012; Swarbreck et al., 2008).

En virologie *A. thaliana* représente également une plante modèle car c'est une plante hôte compatible pour de nombreuses espèces virales, environ 40 espèces virales et 18 genres (i.e. *Alfalfa mosaic virus, Turnip crinkle virus, Cucumber mosaic virus, Plum pox virus, Turnip yellow mosaic virus, Faba bean necrotic yellow virus*) (Ouibrahim and Caranta, 2013). Ces différentes espèces virales peuvent se multiplier dans *A. thaliana* et s'accumuler en induisant des symptômes d'infection et des effets sur la croissance (Ouibrahim and Caranta, 2013).

Cependant, notre connaissance sur la capacité de ces virus à infecter *A. thaliana* en condition naturelle reste rare. Une seule étude rapporte la surveillance au champ de cinq espèces

virales, le CaMV, le *Turnip crinkle virus* (TCV), le *Turnip mosaic virus* (TuMV), le *Cucumber mosaic virus* (CMV), le *Turnip yellow mosaic virus* (TYMV) dans six populations sauvages d'*A. thaliana* originaire du centre de l'Espagne au cours d'une période de quatre ans (Pagán et al., 2010). À l'exception du TCV et du TYMV, qui n'ont pas été détectés au cours de la première année de l'étude, tous les virus ont été détectés chaque année dans au moins une population d'*A. thaliana*. L'incidence rapportée était maximale pour le CMV, avec une moyenne de 24% de plantes infectées sur tous les sites et toutes les années. La co-infection était très fréquente, les pourcentages de plantes infectées par le CaMV, le CMV, le TYMV, le TCV et le TuMV co-infectés par un autre virus atteignant 58,2%, 32,9%, 64,7%, 76% et 69,2% respectivement (Pagán et al., 2010). Le fait que tous ces virus infectent les espèces de *Brassicaceae* dans leurs habitats naturels suggère que d'autres virus adaptés aux crucifères, tels que TMV (*Tobacco mosaic virus*), BWYV (*Beet western yellow virus*) ou le TRV (*Tobacco rattle virus*) pourraient également être des agents pathogènes naturels d'*A. thaliana*. Certaines études ont mis en évidence aussi qu'il existe des gènes de résistance qui permettent à certaines accessions (p. ex accession En-2 et CaMV) de bloquer la propagation du virus ou des gènes de tolérance qui vont permettre de limiter l'accumulation virale ou la sévérité des symptômes (Adhab et al., 2018; Leisner et al., 1993). *A. thaliana* est d'ailleurs considérée comme une source pour l'identification de nouvelles résistances aux virus (Adhab et al., 2018; Callaway et al., 1996; Ouibrahim and Caranta, 2013).

2- Un Caulimovirus : le *Cauliflower mosaic virus* (CaMV)

Le virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV pour *Cauliflower mosaic virus*) appartient à la famille des Caulimoviridae (Cecchini et al., 1998). Le CaMV infecte principalement les plantes appartenant à la famille des *Brassicaceae* telles que *Brassica rapa* ou *A. thaliana* et quelques Solanacées (Schoelz et al., 1986). Il existe une grande diversité d'isolats de CaMV (Cecchini et al., 1998). Ces isolats induisent sur les plantes hôtes sensibles une variété de symptômes allant d'une chlorose au niveau des feuilles (décoloration des nervures, marbrures/gaufrage des feuilles), une réduction de la croissance sans pour autant entrainer de dégâts majeurs au niveau de la production (Doumayrou et al., 2013a; Melcher, 1989). Ces symptômes sont plus ou moins importants selon la nature de l'hôte (Leisner and Howell, 1992).

Les particules virales sont icosaédriques, de 520 Å de diamètre. La particule est constituée de trois niveaux concentriques formé par 420 sous unités de la protéine de capside

(P4), entourant une grande cavité d'un diamètre d'environ 250 Å comprenant le génome viral (Hoh et al., 2010). Celui-ci est constitué d'une molécule d'ADN circulaire double brin de 8 000 pb, comportent sept grandes ORFs dont six codant pour des protéines essentielles à sa multiplication, au mouvement et sa transmission par vecteur (Haas et al., 2002). Le génome du CaMV est le premier génome viral de plante à avoir été entièrement séquencé (Franck et al., 1980).

Lors de l'entrée du CaMV dans la cellule hôte, les particules virales sont importées vers le noyau où il y a formation d'un mini chromosome (Olszewski et al., 1982). Par la suite, l'ARN polymérase II cellulaire synthétise deux transcrits majeurs (l'ARNm 35S et l'ARNm 19S) qui sont exportés dans le cytoplasme de la cellule où ils seront traduits (Mazzolini et al., 1985). Dans un premier temps la protéine P6 codée par l'ARNm 19S va être synthétisée (Bureau et al., 2004). Celle-ci est indispensable à la traduction du brin d'ARNm 35S polycistronique qui va produire toutes les autres protéines virales (Haas et al., 2002). Il y a ensuite un mouvement de cellule à cellule des particules virales via les plasmodesmes (Haas et al., 2002).

P1 (40 kDa) est la protéine de mouvement intervenant dans le déplacement de cellule à cellule et est capable d'interagir avec les plasmodesmes afin de former des structures tubulaires à l'intérieur desquels les virions vont pouvoir passer dans les cellules adjacentes (Perbal et al., 1993; Schoelz et al., 2015). P2 (18 kDa) joue un rôle essentiel dans la transmission du virus par les pucerons et fait le lien entre le virion (capside contenant le génome viral et décorée de la protéine P3) et des récepteurs présents dans les stylets du puceron (Drucker et al., 2002; Martinière et al., 2009; Uzest et al., 2007; Webster et al., 2018). La protéine P3 (15 kDa) est indispensable à l'infection systémique des plantes et est associée à la capside virale (Cheng et al., 1992; Dautel et al., 1994; Dixon et al., 1983). Ces deux protéines (P2 et P3) sont indispensables pour la transmission du virus par le vecteur en participant au complexe transmissible (Figure 8C) (Haas et al., 2002). Le produit du gène IV est la protéine de capside, qui est synthétisée sous forme de précurseur qui est ensuite maturée par plusieurs clivages réalisés par la protéase virale codée par le gène V (Torruella et al., 1989). La protéine de capside possède plusieurs motifs particuliers (e.g. motif PEST, NLS) qui sont tous indispensables à la mise en place de l'infection virale (Karsies et al., 2001). La protéine P5 est une polyprotéine multifonctionnelle de 78 kDa indispensable à la réplication de virus. Elle a une activité protéase aspartique en N-terminal qui permet sa propre maturation et celle de la protéine de capside (Torruella et al., 1989). La protéine P6 est une protéine multifonctionnelle de 62 kDa traduite

dans le cytoplasme de manière plus précoce que les autres protéines. C'est la protéine la plus abondante dans les cellules infectées puisqu'elle est le constituant majeur des usines virales et indispensable pour la traduction de l'ARNm 35S (Haas et al., 2005). Elle est impliquée dans la symptomatologie et dans la détermination du spectre d'hôte (Schoelz et al., 1986).

La synthèse des protéines se déroulent au niveau des corps d'inclusion denses qu'on appelle aussi usines virales (VF) présentes en grands nombres dans chaque cellule infectée et qui contiennent les virions assemblés (Martinière et al., 2009). Il existe un autre type de corps d'inclusion, généralement unique par cellule, qui se forme au cours de l'infection : le corps à transmission (TB) contenant la totalité des protéines P2 ainsi que quelques molécules P3 et quelques rares particules virales (Khelifa et al., 2007).

Le CaMV est l'un des virus les mieux étudiés en ce qui concerne la transmission non circulante. Il est transmis par une trentaine d'espèces de pucerons (e.g. *Brevicorynae brassicae, Acyrthosiphon pisum, Megoura viciae, Rhopalosiphum padi, Aphis fabae*) et en particulier *Myzus persicae* (Stratford and Covey, 1989). La transmission du CaMV par tout autre type de vecteur ou par l'intermédiaire de graines ou de pollen n'a jamais été rapportée dans la nature, et aucune propagation par contact plante à plante ne semble se produire, bien que le CaMV puisse être facilement inoculé mécaniquement aux plantes hôtes (Markham et al., 1987; Moreno et al., 2005). Lors de la transmission, la piqûre du puceron vecteur dans une cellule infectée va provoquer une contrainte mécanique (mouvement des stylets) et / ou une contrainte chimique (par exemple, provoquée par des composants de la salive) (Vos and Jander, 2009). Ce stress est immédiatement perçu par la plante et peut induire des réponses ultérieures de défenses. Le signal initial de reconnaissance du puceron génère un afflux de tubuline dans le TB (Blanc et al., 1996). Dans une deuxième étape, le TB se désintègre rapidement, et toute la P2 ainsi que des particules virales vont se relocaliser sur les microtubules corticaux. Les complexes P2-virus transmissibles sont ainsi répartis de façon homogène sur tout l'ensemble de la cellule, ce qui augmente considérablement les chances de succès de liaison de P2 et de virus aux stylets de l'insecte vecteur et donc augmente les chances de transmission du CaMV. Après le départ du puceron vecteur (chargé de P2 et virus), un nouveau TB se reforme et la cellule infectée revient dans l'état « initial d'attente » (Martinière et al., 2013).

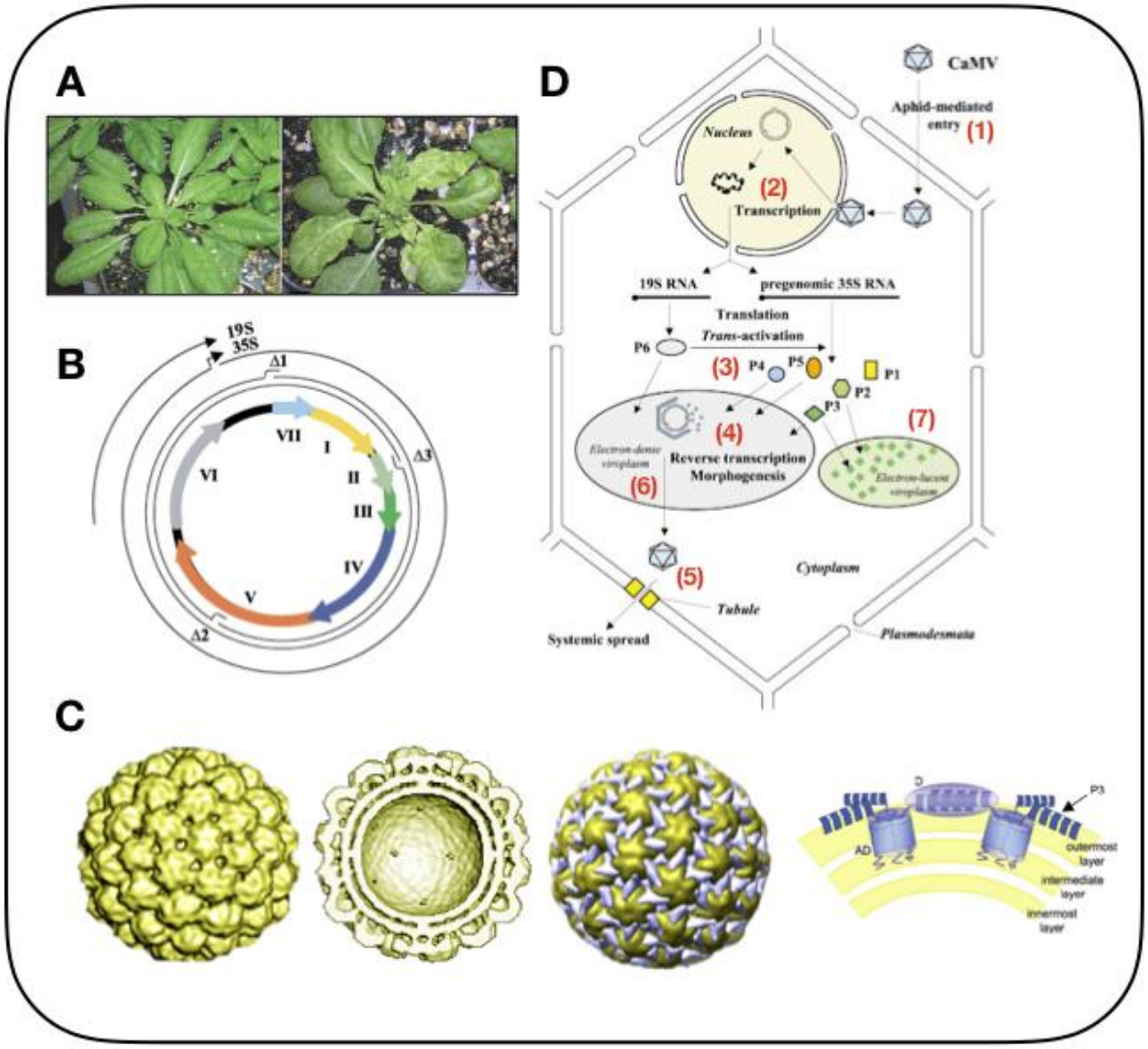


Figure 9: Informations concernant le virus CaMV, ses symptômes, sa multiplication, son génome et sa transmission (d'après Haas et al., 2002 and Hoh et al., 2010). (A) Le CaMV provoque des maladies qui se manifestent par des symptômes du type « mosaïque ». (B) Le génome du CaMV est composé de sept grandes ORFs qui sont représentées par un code couleur et des flèches et qui sont décrites dans le corps de texte. (C) Modèle structural. Reconstruction par cryo-microscopie de la particule virale P4 (en jaune) décorée par les protéines P3 (en bleu). (D) Les principales étapes du cycle viral sont: (1) l'entrée du virus dans la cellule hôte médiée par le puceron, (2) transport des particules virales vers le noyau, désassemblage et transcription des ARNm (3) Après exportation des ARNm 19S et 35S dans le cytoplasme, traduction des différentes protéines virales, (4) formation de nouveaux virions dans les usines virales, (5 et 6) export des particules virales et mouvement de cellule à cellule via les plasmodesmes, (7) accumulation de la totalité de la protéine P2 produite dans le corps à transmission.

3- PHENOPSIS : une plateforme de phénotypage à haut débit

L'étude de la génomique via *A. thaliana* permet de mieux comprendre les processus impliqués dans les réactions des plantes aux stimuli environnementaux (O'Kane and Al-Shehbaz, 1997). Actuellement, le principal défi est l'analyse phénotypique de cette variabilité génétique, qui nécessite l'analyse simultanée de centaines, voire de milliers de plantes. Le phénotypage est relativement facile à réaliser lorsque les caractéristiques des plantes sont définies de manière binaire (i.e. floraison / non floraison, mort / vivant) et lorsque les conditions environnementales sont définies comme le résultat d'une simple action (allumer / éteindre, arroser / ne pas arroser) (Granier et al., 2006). Cependant, le phénotypage est plus complexe lorsque les caractères étudiés sont quantitatifs (i.e. croissance, photosynthèse) et lorsque les conditions environnementales varient quantitativement ou naturellement (i.e. intensité lumineuse ou état hydrique du sol). L'analyse quantitative de la variation des traits complexes nécessite la mise en place d'un cadre analytique robuste, tel que développé dans le domaine de la génétique quantitative (Frankham, 1999). Dans ce cas, le phénotype n'est pas statique et est mieux défini par une série de courbes de réponse aux stimuli environnementaux (Reymond et al., 2003; Tardieu, 2003). L'inconvénient de ces analyses de « courbes de réponse » est qu'elles prennent beaucoup de temps et nécessitent le contrôle précis des conditions environnementales de sorte que la seule variable environnementale qui change soit celle qui nous intéresse. Pour pallier à ces contraintes, une plateforme de phénotypage à haut débit PHENOPSIS a été mise en place il y a quelques années au sein du LEPSE (Granier et al., 2006; Rymaszewski et al., 2018). Cet automate a été mis en place dans une chambre de culture où les conditions environnementales sont strictement contrôlées (Granier et al., 2006).

Cet automate a permis d'étudier l'impact de plusieurs stress environnementaux (i.e. WD, haute température, CO2, stress salin) sur la croissance de plante (e.g. *A. thaliana*, colza, tomate), la photosynthèse, la morphologie des feuilles (Aguirrezabal et al., 2006; Bresson et al., 2015; Koch et al., 2018; Rymaszewski et al., 2017; Vasseur et al., 2014, 2018; Vile et al., 2012). L'effet additif ou en interaction de plusieurs stress comme la température et le WD ont également été étudiés (Vile et al., 2012). L'étude de plusieurs génotypes d'*A. thaliana* au sein de l'automate a permis aussi de valider des hypothèses écologiques importantes liées à l'acquisition ou à la conservation des ressources (Vasseur et al., 2012, 2018). De plus, cet

automate a été utilisé pour étudier l'effet d'un agent biotique (PGPR) sur la croissance des plantes lors d'un stress environnemental (WD) (Bresson et al., 2013).

Cet automate est composé d'un cadre en acier supportant 14 plateaux noirs comportant 36 alvéoles (chaque alvéole pouvant supporter un pot). Il est équipé d'un bras amovible, une station d'irrigation, une station de pesée et une station d'imagerie permettant d'acquérir des données phénotypiques non destructives. Le système de pesée et d'irrigation permet d'ajuster précisément la teneur en eau des plantes. Les informations plus techniques sont développées dans le chapitre Matériel et Méthode de ce manuscrit.

E. Objectifs de la thèse

L'objectif général de ma thèse est de comprendre les interactions virus - plante - vecteur en contexte de déficit hydrique. La finalité de mon sujet de thèse est d'acquérir de nouvelles connaissances sur l'impact de l'environnement abiotique sur les traits viraux ainsi que l'impact d'une combinaison de stress abiotique et biotique sur la performance de la plante hôte. Ces nouvelles connaissances seront un point de départ à l'étude plus approfondie des mécanismes sous-jacent à ces différentes réponses. Pour répondre à notre problématique, nous avons mis en place un travail transdisciplinaire alliant les compétences de virologues, d'écophysiologistes et d'écologues.

Cette étude a pour objectif de répondre à plusieurs questions :

- Quel est l'effet de la combinaison du WD et de l'infection par le CaMV sur la croissance des plantes ?
- Le déficit hydrique peut-il modifier les traits viraux du CaMV ?
- Qu'en est-il des relations entre les traits viraux en condition optimale d'irrigation et lors d'un WD ?
- Est-ce que des traits fonctionnels de la plante sont liés à des traits viraux ?
- Dans quelle mesure la tolérance de la plante au CaMV et au WD sont liés aux traits et stratégies écologiques inhérentes de la plante ?

Pour répondre à ces questions, ce travail de thèse est divisé en trois chapitres rédigés sous forme d'articles. Le premier chapitre est une étude préliminaire sur 9 génotypes d'*Arabidopsis thaliana* soumis à un déficit hydrique et à l'infection par le CaMV (Article 1 :

Interactions between drought and plant genotype change epidemiological traits of Cauliflower mosaic virus). Cette étude préliminaire a mis en évidence une réponse de plantes en termes de croissance face à un stress combiné génotype-dépendant. De plus, nous avons montré que le déficit hydrique modifiait la transmission par vecteur et l'accumulation virale de certains génotypes sans corrélation entre ces deux traits. Enfin, nous avons mis en évidence une corrélation positive entre le niveau de virulence du CaMV et le taux de transmission par vecteur. Lors d'un WD appliqué aux plantes sources, cette corrélation entre ces deux traits viraux disparait.

Le deuxième chapitre décrit deux expériences réalisées à la fois sur la phase végétative mais aussi reproductive de 44 génotypes d'*A. thaliana* soumis à un déficit hydrique et à l'infection par le CaMV (Article 2 *: Genetic variation of Arabidopsis thaliana responses to Cauliflower Mosaic Virus infection upon water deficit).* Suivant les prévisions de la théorie du triangle CSR de Grime sur les stratégies écologiques des plantes (stratégie compétitive, tolérante aux stress ou rudérale), nous avons testé l'hypothèse voulant que le caractère rudéral d'un génotype de plante soit positivement associé à la tolérance à l'infection virale, et ce, quelle que soit la disponibilité en eau du sol. Nos résultats ont montré que l'infection au CaMV diminuait les performances végétatives des plantes et annihilait le succès de reproduction de tous les génotypes. En général, le WD diminue les performances de la plante mais ne modifie pas le classement de tolérance au CaMV des génotypes retrouvés en condition de WW. La rudéralité varie significativement d'un génotype à l'autre, elle est positivement corrélée à la tolérance du génotype à l'infection virale en condition optimale d'irrigation et dans une moindre mesure dans des conditions de WD. De plus, conformément au caractère rudéral du génotype, nos résultats suggèrent que la tolérance du génotype aux deux stress est positivement corrélée à une floraison précoce. Enfin, nos résultats montrent que la survie des plantes à l'infection par le CaMV pourrait être augmentée sous WD.

Le troisième chapitre décrit l'impact du WD sur la modification des traits du CaMV lors de l'infection de 24 génotypes d'*A. thaliana* (Article 3 : *Water deficit changes the relationships between viral traits of the Cauliflower Mosaic Virus across Arabidopsis thaliana genotypes).* Nous avons testé l'hypothèse selon laquelle des effets perturbateurs du WD sur les caractères morphologiques ou physiologiques des plantes entraîneraient des modifications de certains caractères viraux, tels la virulence, l'accumulation au sein de l'hôte et le taux de transmission par vecteur. Les relations entre ces traits viraux ont également été analysées en condition

optimale ou de WD, et comparées. Nos résultats montrent que le WD modifie significativement la transmission virale et l'accumulation virale chez certains génotypes. Dans des conditions optimales d'irrigation, la transmission est positivement corrélée à l'accumulation du CaMV dans la plante. De même, un génotype qui accumule fortement le CaMV semble plus tolérant à l'infection virale. Sous WD, la corrélation entre la transmission et l'accumulation de CaMV est inversée et devient significativement négative. La relation entre l'accumulation et la virulence du CaMV est également modifiée. De plus, une caractéristique morphologique importante des plantes, le LDMC (densité tissulaire des feuilles), souvent considéré comme lié à la robustesse des feuilles, est négativement relié à la transmission et à l'accumulation du CaMV.

-CHAPITRE 1-

Étude préparatoire de l'impact du déficit hydrique et de l'infection par le CaMV sur la croissance de neuf génotypes d'*A.thaliana* et sur les traits du CaMV

Article 1: Interactions between drought and plant genotype change epidemiological traits of Cauliflower mosaic virus

Objectifs du chapitre :

Le déficit hydrique et les infections virales sont des stress majeurs qui impactent la productivité et la croissance des plantes. Au sein d'un écosystème, ces deux contraintes peuvent être présentes de manière simultanée. Dans cette étude préparatoire réalisée sur neuf génotypes d'*Arabidopsis thaliana* infectés par le CaMV et soumis à un déficit hydrique les traits viraux ainsi que les paramètres physiologiques de la plante hôte ont été étudiés.

Les principales questions abordées ont été :

- Le déficit hydrique peut-il modifier les traits viraux du CaMV (i.e. la transmission, l'accumulation virale ou la mise en place de la systémie) ?
- Quel est l'effet de la combinaison du déficit hydrique et de l'infection par le CaMV sur la croissance de la plante ?
- Les traits viraux sont-ils affectés par un déficit hydrique subi par la plante hôte ?

Cette étude qui a été publiée dans *Frontiers in Plant Science* a mis en évidence un effet majeur du stress abiotique, en l'occurrence le déficit hydrique, sur la croissance des plantes comparé au stress biotique (infection virale). L'effet du double stress, a quant à lui un effet délétère sur la croissance de la plante plus important que l'application d'un stress unique. La tolérance des génotypes au déficit hydrique ne semble pas associée à une meilleure tolérance au CaMV.

Le développement de l'infection dans la plante hôte a été suivi quotidiennement dans des plantes se développant dans des conditions optimales ou de déficit hydrique. Nous avons ainsi montré que le déficit hydrique avait un effet négatif sur le développement de l'infection dans certains génotypes. De plus, nous avons montré que dans quelques génotypes d'*A. thaliana* l'application d'un déficit hydrique modifiait l'efficacité de deux traits viraux : la transmission par vecteur et l'accumulation intra-plante sans qu'il y ait un lien direct entre ces deux traits (e.g. une plus forte accumulation corrélée à une meilleure transmission). Enfin, il a été possible de détecter une corrélation positive entre le niveau de virulence du CaMV et sa transmission par vecteur dans des conditions de culture optimales. En revanche lors d'un déficit hydrique cette relation est rompue.

Ces résultats laissent supposer que la virulence optimale d'un virus, comme discuté dans l'hypothèse du compromis évolutif du « trade-off » entre virulence et transmission virale, est fortement dépendante de l'environnement abiotique et des paramètres physiologiques de l'hôte considéré. Cependant, avant de valider ces résultats, des expériences complémentaires faisant intervenir une large diversité de souches virales et de génotypes de plantes doivent être réalisées.

frontiers in Plant Science

ORIGINAL RESEARCH
published: 24 May 2018
doi: 10.3389/fpls.2018.00703

Interactions Between Drought and Plant Genotype Change Epidemiological Traits of *Cauliflower mosaic virus*

Sandy E. Bergès[1,2], Denis Vile[2], Cecilia Vazquez-Rovere[2,3], Stéphane Blanc[1], Michel Yvon[1], Alexis Bédiée[2], Gaëlle Rolland[2], Myriam Dauzat[2] and Manuella van Munster[1]**

[1] BGPI, CIRAD, INRA, Montpellier SupAgro, Université de Montpellier, Montpellier, France, [2] LEPSE, INRA, Montpellier SupAgro, Université de Montpellier, Montpellier, France, [3] LABINTEX Europe, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária, Montpellier, France

OPEN ACCESS

Edited by:
Muthappa Senthil-Kumar, National Institute of Plant Genome Research (NIPGR), India

Reviewed by:
Kazuo Nakashima, Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Japan
Aarti Gupta, National Institute of Plant Genome Research (NIPGR), India
Nobuhiro Suzuki, Sophia University, Japan

****Correspondence:***
Denis Vile
denis.vile@inra.fr
Manuella van Munster
manuella.van-munster@inra.fr

Specialty section:
This article was submitted to Plant Abiotic Stress, a section of the journal Frontiers in Plant Science

Received: *16 February 2018*
Accepted: *08 May 2018*
Published: *24 May 2018*

Citation:
Bergès SE, Vile D, Vazquez-Rovere C, Blanc S, Yvon M, Bédiée A, Rolland G, Dauzat M and van Munster M (2018) Interactions Between Drought and Plant Genotype Change Epidemiological Traits of Cauliflower mosaic virus. Front. Plant Sci. 9:703. doi: 10.3389/fpls.2018.00703

Plants suffer from a broad range of abiotic and biotic stresses that do not occur in isolation but often simultaneously. Productivity of natural and agricultural systems is frequently constrained by water limitation, and the frequency and duration of drought periods will likely increase due to global climate change. In addition, phytoviruses represent highly prevalent biotic threat in wild and cultivated plant species. Several hints support a modification of epidemiological parameters of plant viruses in response to environmental changes but a clear quantification of plant–virus interactions under abiotic stresses is still lacking. Here we report the effects of a water deficit on epidemiological parameters of *Cauliflower mosaic virus* (CaMV), a non-circulative virus transmitted by aphid vectors, in nine natural accessions of *Arabidopsis thaliana* with known contrasted responses to water deficit. Plant growth-related traits and virus epidemiological parameters were evaluated in PHENOPSIS, an automated high throughput phenotyping platform. Water deficit had contrasted effects on CaMV transmission rate and viral load among *A. thaliana* accessions. Under well-watered conditions, transmission rate tended to increase with viral load and with CaMV virulence across accessions. Under water deficit, transmission rate and virulence were negatively correlated. Changes in the rate of transmission under water deficit were not related to changes in viral load. Our results support the idea that optimal virulence of a given virus, as hypothesized under the transmission-virulence trade-off, is highly dependent on the environment and growth traits of the host.

Keywords: plant growth traits, viral load, viral transmission, virulence, tolerance, plant–virus interactions, water deficit

INTRODUCTION

Under field conditions, plants are exposed to various biotic and abiotic stresses that can impact their performance and their population dynamics and ecology (Suzuki et al., 2014; Pandey et al., 2015; Prasch and Sonnewald, 2015; Ramegowda and Senthil-Kumar, 2015; Aou-ouad et al., 2017). In particular, soil water deficit (WD) and plant virus diseases are major abiotic and biotic constraints impacting plant physiology and growth as well as agricultural

productivity worldwide (Zhang and Sonnewald, 2017). The relationships between host plants and viruses appear more complex than previously described, particularly regarding the role of perturbing environmental factors. To date, environmental conditions and plant physiological mechanisms that can lead to contrasted relationship with viruses, from mutualism to increased pathogenicity, remain poorly studied (Roossinck, 2015). Few recent investigations combining abiotic and biotic stresses clearly demonstrate that in addition to factors related to the virus and plant genotype the fate of plant–virus interactions also depends on the abiotic environment (Prasch and Sonnewald, 2013; Ramegowda and Senthil-Kumar, 2015; Fraile and García-Arenal, 2016; Aguilar et al., 2017; Carr, 2017). A growing body of data is uncovering the intimate entanglement of the plant physiological pathways involved in responses to various abiotic stresses and in defense against pathogens and herbivores (Bostock, 2005; Pandey et al., 2015; Nejat et al., 2016). For instance, antiviral plant immune responses may interact with responses to additional environmental changes through cross-talks among hormonal pathways (Alazem and Lin, 2015; Nejat et al., 2016).

On the one hand, it has been shown that heat, drought or salt stress enhance plant susceptibility to pathogens (Atkinson et al., 2013; Kissoudis et al., 2015). On the another hand, viruses can enhance the ability of plants to counteract abiotic stresses by inducing drought or cold tolerance (Xu et al., 2008; Hily et al., 2016). Although the mechanisms involved are not clear, the authors evoked the increase of potential osmoprotectants in virus-infected plants (Xu et al., 2008). In the case of *Cucumber mosaic virus* (CMV), drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* is triggered by the 2b viral RNA silencing suppressor protein, a viral protein interfering with abscisic acid-mediated plant signaling (Westwood et al., 2013). It has been speculated that this effect of 2b may ultimately serve viruses by aiding host plants to survive periods of environmental stress (Westwood et al., 2013).

Virus transmission is a key epidemiological parameter for which most plant viruses rely on arthropods vectors (Bragard et al., 2013). Impacts of abiotic stresses on virus spread have long focused on the vector biology (e.g., developmental time, longevity, fecundity, migration) and ecology (Nancarrow et al., 2014; Davis et al., 2015). While most of these studies speculated on a possible impact of environmental changes on the rate of virus transmission, direct experimental support was only brought very recently (Dáder et al., 2016; Nachappa et al., 2016; van Munster et al., 2017; Yvon et al., 2017). Because some studies suggest that transmission should be positively correlated to virulence, due to their shared relationship with viral accumulation (Alizon et al., 2009; Froissart et al., 2010) and that the environment may change viral transmission rate, abiotic stresses may also affect the relationship between these epidemiological parameters. Unfortunately, the plant's surrounding environment is most often ignored when studying such epidemiological correlations (Fraile and García-Arenal, 2016).

In the present study, we monitored the effect of WD on various important viral life traits, such as viral accumulation, virulence and transmission. In order to explore the genetic variability of these traits and their relationships we selected nine wild accessions of *A. thaliana* (L.) Heynh (*Brassicaceae*) with known contrasted responses to WD (Rymaszewski et al., 2017). All accessions were infected with the *Cauliflower mosaic virus* (CaMV; *Caulimoviridae*), a non-circulative virus transmitted by aphids, and grown under strictly controlled environmental conditions in the high throughput phenotyping platform PHENOPSIS (Granier et al., 2006). Interestingly, our results suggest that the perturbing effects of WD on plant growth traits can change the trade-off between virus accumulation, virulence and transmission rate.

MATERIALS AND METHODS

Plant Material and Growth Conditions

We selected nine natural accessions of *A. thaliana* (Mr-0, Col-0, Ct-1, Sha, Cvi-0, Mt-0, Bay-0, Ler-1 and Est-1) based on their contrasted responses to drought (Rymaszewski et al., 2017). Three to five seeds were sown at soil surface in 225 ml pots filled with a 30:70 (v/v) mixture of clay and organic compost (Substrate SP 15% KLASMANN). Soil water content was estimated for each pot before sowing, as previously described (Granier et al., 2006). Subsequent changes in pot weight were attributed to change in water status. Soil surface was moistened with a modified one-tenth strength Hoagland solution, and pots were placed in the PHENOPSIS growth chamber (Granier et al., 2006) in the dark for 2 days at 12°C air temperature and 70% air relative humidity. Pots were dampened with sprayed deionized water three times a day until germination. During germination phase (7 days), plants were cultivated under 8 h day length (200 μmol m^{-2} s^{-1} photosynthetic photon flux density, at plant height), air temperature was set to 20°C, and air relative humidity was adjusted in order to maintain constant water vapor pressure deficit (VPD) at 0.6 kPa. Then, plants were thinned to one plant per pot and grown at 21/18°C day/night while VPD was set at 0.75 kPa. Each pot was daily weighed and watered with the modified Hoagland solution to reach the target soil relative water content (RWC_{soil}). RWC_{soil} was maintained at 1.6 g H_2O g^{-1} dry soil until application of the WD treatment. One week before the application of the WD treatment, watering was done with deionized water until the end of the experiment (**Figure 1A**).

Virus Purification and Plant Inoculation

The CaMV isolate Cabb B-JI (Delseny and Hull, 1983) efficiently transmitted following a non-circulative strategy by the aphid species *Myzus persicae*, was used in this study. Virus particles were purified from CaMV-infected *Brassica rapa* cv. "Just Right" (turnip) plants according to Hull and Shepherd (1976). The quality and the quantity of purified virus were assessed by polyacrylamide gel electrophoresis under denaturing conditions (12% SDS-PAGE) and by spectrometric measurements at 230, 260, and 280 nm (NanoDrop 2000 spectrophotometer). Virus concentration was estimated by spectrometry using the formula described by Hull and Shepherd (1976).

One-month-old *A. thaliana* plants (20 plants per accession per treatment) were mechanically inoculated as previously described

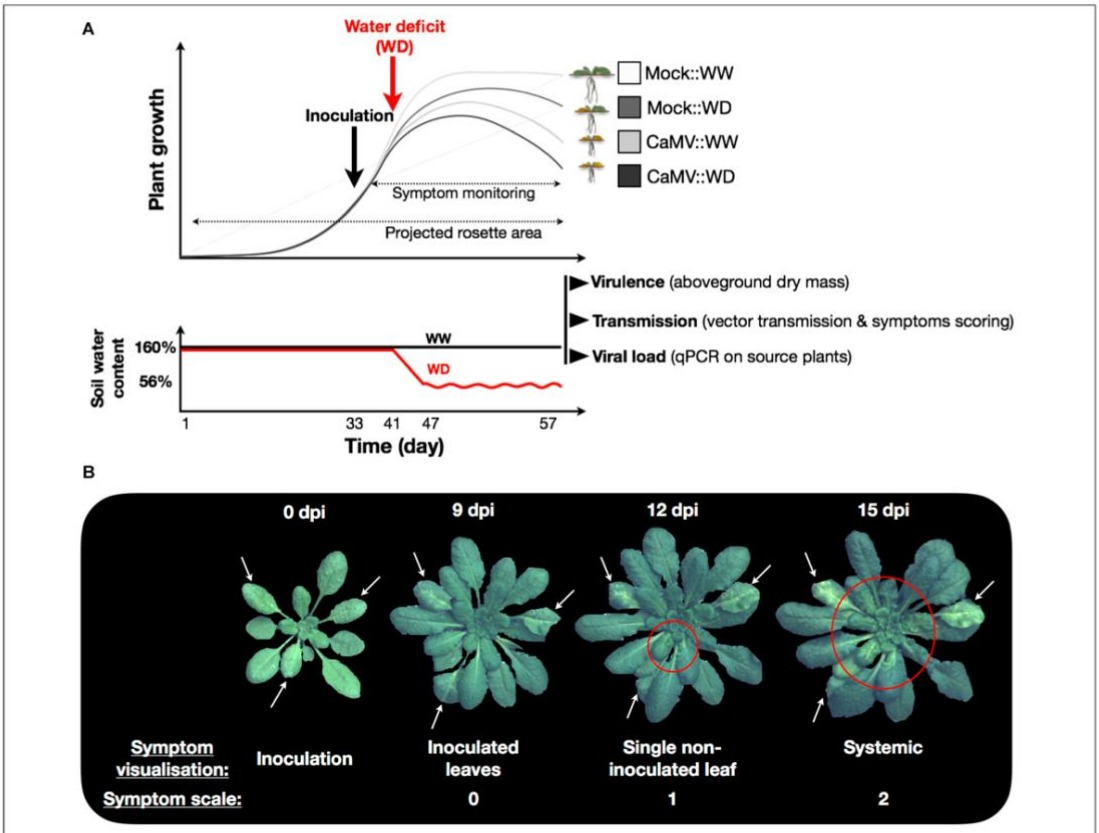


FIGURE 1 | Schematic representation of the experiment and timing of measurements. **(A)** Plant inoculation (mock- or CaMV; black arrow) was realized 33 days after germination and corresponds to the beginning of symptom scoring. One week later, soil water deficit treatment (WD; red arrow) was applied by stopping watering. Mean soil water content of individual pots during the course of the experiment is represented in the second panel. Soil relative water content was maintained at 160% in the control treatment (WW; black line) while stopping irrigation in the WD treatment brought the soil water content to 56% after 7 days and was maintained to this value by an adequate water supply (WD; red line). At the end of the experiment (day 57), viral traits (virulence, transmission efficiency and viral accumulation in source plants) were estimated. **(B)** Symptom monitoring was performed daily (from 9 to 25 dpi) on CaMV-infected:WW ($n = 20$) and CaMV-infected:WD ($n = 20$) plants. Symptoms were scaled 0, 1, or 2 for no symptom (symptom on inoculated leaves), presence of symptoms on a single non-inoculated leaf, or systemic symptoms, respectively.

(Blanc et al., 1993) with a mix containing CaMV-infected turnip extract enriched with the virus purification. Briefly, CaMV-infected turnip extract was prepared from 1 g of infected leaf material [leaves presenting systemic symptoms collected at 21 days post inoculation (dpi)] grinded in 1 ml of distilled water. Purified CaMV particles were then added to this mix at a final concentration of 0.2 mg ml^{-1} to optimize infection success. For each inoculated plant, three leaves of median rank in the rosette were rubbed with a small pestle soaked in the solution described above. Control group (eight plants per accession and per watering treatment) was mock-inoculated in a similar way to mimic the wound induced by mechanical inoculation. Mock-inoculation was performed with a mix containing non-infected plant extract and the buffer used for virus purification (100 mM Tris-HCl, 2.5 mM $MgCl_2$, pH 7). All plants were inoculated in a random order, independent of their accession and of the watering regime. In summary, four conditions representing mock-inoculated:WW ($n = 8$), mock-inoculated:WD ($n = 8$), CaMV-infected:WW ($n = 20$) and CaMV-infected:WD ($n = 20$) plants per accession were analyzed.

Water Deficit Treatment

One week after inoculation, corresponding to the approximate time of appearance of the first symptoms, irrigation of half of the CaMV- and mock-inoculated plants was stopped to reach the WD treatment at 0.56 H_2O g^{-1} dry soil (this value was reached after 7 days of water deprivation). RWC_{soil} was then maintained to this value until the end of the experiment. In the well-watered

treatment (WW) RWC_{soil} was maintained at 1.6 g H_2O g^{-1} dry soil (**Figure 1A**).

Measurement of Plant Traits and Symptoms Development

Projected rosette area (7–10 plants per accession and treatment) was estimated from automated daily pictures using a semi-automatic procedure developed in the image analysis environment Image J (Research Services National Institute of Mental Health, Bethesda, MD, United States) and downloadable on the PHENOPSIS web site (Fabre et al., 2011). For each accession and watering treatment (WW and WD), four mock-inoculated and ten CaMV-infected individual plants were harvested 25 dpi and individual aboveground dry mass was determined after 5 days at 60°C.

Symptom monitoring was performed daily (from 9 to 25 dpi) on CaMV-infected:WW (n = 20) and CaMV-infected:WD (n = 20) plants for each accession. The symptoms were scaled 0, 1, or 2 for no symptom, presence of symptom on a single non-inoculated leaf, or systemic symptoms, respectively (see illustration on **Figure 1B**). Time of symptoms appearance, rate of systemic spread, and maximum proportion of infected plants were then calculated from logistic regressions fitted to these observations.

Aphid Rearing

The colony of the aphid-vector species *M. persicae*, collected over 30 years ago in the south of France was maintained on eggplants (*Solanum melongena*) in insect-proof cages, in a growth chamber at 23/18°C with a photoperiod of 14/10 h (day/night), in conditions ensuring clonal reproduction. Aphids were transferred to new cages and to new non-infested host plants (*Solanum melongena)* every 2 weeks, in order to avoid overcrowding and induction of the development of winged morphs.

Aphid Transmission Assays

Transmission efficiency of CaMV was assessed at 25 dpi (Supplementary Figure S1). Batches of 20 *M. persicae* larvae (L2-L4 instars) were starved for 1 h before being transferred at the rosette center of a source plant for virus acquisition. Ten symptomatic source plants were used per accession and watering treatment. When aphids stopped walking and inserted their stylets into the leaf surface, they were allowed to feed for a short 2-min period. Viruliferous aphids were then immediately collected in a Petri dish and individually transferred to 1-month-old Col-0 plantlets (test plants) grown under non-stressing conditions (one aphid per test plant; nine test plants per source plant). After an inoculation period of 3 h, aphids were eliminated by insecticide spray (0.2% Pirimor G). Test plants were then placed in a growth chamber with the same conditions of air humidity, temperature and light as source plants and maintained under non-stressing conditions. Symptoms of virus infection were recorded 21 days later by visual inspection on test plants, as previously reported (Doumayrou et al., 2013; van Munster et al., 2017) and virus transmission rate was then calculated. After transmission assays, three leaves were randomly collected on each source plants and stored at −80°C for further nucleic acid extraction and quantification of the virus accumulation.

Plant DNA Extraction

Total DNA from CaMV-infected leaf samples (pool of the three leaves collected per plant) was extracted according to a modified Edwards protocol (Edwards et al., 1991) with an additional washing step with 70% ethanol (10 biological replicates per accession and treatment). DNA was resuspended in 50 µl of distilled water, and 10-fold dilutions were used as qPCR templates. The quality and quantity of the extracted total nucleic acid were assessed by spectroscopic measurements at 230, 260, and 280 nm (NanoDrop 2000 spectrophotometer).

DNA Quantification by qPCR

DNA quantification (10 biological replicates per accession and treatment, Supplementary Figure S1) was performed as duplicated qPCR in 384-well optical plates using the LightCycler FastStart DNA Master Plus SYBRGreen I kit (Roche) in a LightCycler 480 (Roche) thermocycler according to the manufacturer's instructions. Specific primers designed for the quantification of CaMV genome (Ca4443-F: 5′-GACCTA AAAGTCATCAAGCCCA-3′ and Ca4557-R: 5′-TAGCTTT GTAGTTGACTACCATACG-3′) and *A. thaliana* ubiquitin-conjugating enzyme 21 gene (UBC21; UBC21_At_F: 5′-TGCA ACCTCCTCAAGTTCGA-3′ and UBC21_At_R: 5′-GCAGG ACTCCAAGCATTCTT-3′) were used at a final concentration of 0.3 µM. All qPCR reactions were performed with 40 cycles (95°C for 15 s, 62°C for 15 s and 72°C for 15 s) after an initial step at 95°C for 10 min. The qPCR data were analyzed with the LinReg PCR program to account for the efficiency of every single PCR reactions (Ruijter et al., 2009). The absolute initial viral concentration in *A. thaliana* plants, expressed in arbitrary fluorescence units (N_0 CaMV) was divided by that of *A. thaliana UBC21* gene (N_0 UBC21; Genbank accession DQ027035), in order to normalize the amount of plant material analyzed in all samples.

Data Analyses

For each accession, the effects of the treatments on aboveground dry mass, transmission rate and viral load were analyzed by non-parametric Kruskal–Wallis tests. Time of symptoms appearance, rate of systemic spread, and maximum proportion of infected plants were extracted for each accession and watering treatment from logistic regression using the equation $A/(1 + \exp((4 * \mu / A) * (\lambda - t) + 2))$, where A is the maximum rate of infection, λ is the time necessary for the appearance of a systemic symptom on a non-inoculated leaf and μ is the time necessary to detect systemic symptoms on the full plant. The effect of watering on transmission rate was tested in a generalized linear model (glm) model with the binomial link function. Response ratios of aboveground plant dry mass (the ratios of mean outcome in the experimental group to that in the control group) were used to quantify the response of each genotype to watering and viral infection (i.e., virulence). We tested the significance of the relationships between

epidemiological parameters with the Spearman's rank correlation test.

All analyzes were performed in the programming environment R (R Core Team, 2017). Kruskal–Wallis tests were performed using the corresponding function in AGRICOLAE package. Bootstrapped 95% confidence intervals (CI) of mean trait values were computed following the *mean_cl_boot* procedure of the HMISC package. Non-linear models were fitted using the *nls* function and 95% confidence intervals for the parameters of fitted models were computed with *confint* function of the package MASS. Generalized linear models were tested using the *glm* function of the STAT package. Mean response ratios and corresponding 95% confidence intervals were calculated using *sci.ratio* of the MRATIO package.

RESULTS

Systemic Spread Varies Between *A. thaliana* Accessions and, in Some Accessions, It Is Conditioned by Watering Treatment

CaMV isolate Cabb B-JI successfully infected plants of all *A. thaliana* accessions selected. Symptoms, i.e., chlorotic lesions and vein-clearing of rosette leaves, were similar across accessions though their timing of appearance and intensity was greatly variable as detailed below. The proportion of CaMV-inoculated plants showing characteristic virus symptoms 25 dpi varied from 96 to 100% across accessions whatever the soil watering treatment (**Figure 2**). In WW condition, the mean time of systemic symptoms appearance on the first non-inoculated leaf (±95% CI) was 12.3 (±1.9) dpi (**Figure 3A**). However, lag time of systemic symptoms varied significantly between accessions from 10 (±0.3) dpi in Bay-0 to 14.7 (±0.2) dpi in Sha. Lag time did not change in response to WD in five accessions whereas it was significantly lower (i.e., faster appearance of firsts symptoms) in three accessions and higher in one accession (**Figure 3A**). For all accessions, the rate of systemic spread was lower under WD than in WW (**Figure 3B**). In particular, it was significantly reduced for Mr-0, Col-0, Ct-1, Sha and Cvi-0 (**Figure 3B**).

Plant Growth Response to Water Deficit and Viral Infection Vary Across Natural Accessions

We selected nine natural accessions of *A. thaliana* (Mr-0, Col-0, Ct-1, Sha, Cvi-0, Mt-0, Bay-0, Ler-1 and Est-1) based on their contrasted responses to drought (**Figure 4A**). Plant aboveground dry mass (±SD) ranged from 0.21 (±0.02) g (Ler-1) to 0.46 (± 0.04) g (Mr-0) under WW condition (**Figure 4B**). As determined 19 days after the start of the treatment, WD reduced aboveground dry mass production (20–25% reduction) in the four accessions the less tolerant to WD: Mr-0, Col-0, Ct-1 and Sha. Growth reduction due to WD was marginally significant in Cvi-0 ($P = 0.083$), and not significant in Mt-0, Bay-0, Ler-1 and Est-1, which are accessions the most tolerant to WD (**Figure 4B**).

As determined at 25 dpi, CaMV virulence under WW, calculated as CaMV-infected:WW/mock-inoculated:WW for aboveground biomass, varied significantly among accessions. CaMV infection significantly reduced aboveground dry mass (10–21% reduction) in all accessions but Ct-1, Sha and Est-1 (**Figure 4B**). In particular, aboveground dry mass of CaMV-infected plants was significantly reduced in Bay-0 ($P = 0.0072$), Col-0 ($P = 0.048$) and Mt-0 ($P = 0.047$).

In general, the combination of WD and viral infection tended to be more deleterious than each of the two stresses taken separately. However, plant responses differed widely between accessions. For example, WD and CaMV infection combination did not have a significant effect on aboveground mass of Est-1 and Ler-1 compared to the mock-inoculated:WW condition, whereas a 13–40% significant reduction was found in five other accessions ($P < 0.05$; **Figure 4B**). However, in two accessions, Sha and Ct-1, stress combination was less severe than the effect of WD alone although it was no significant (Sha: $P = 0.15$ and Ct-1: $P = 0.20$; **Figure 4B**). Similar trends were observed for the projected rosette area since this trait was highly significantly correlated to aboveground dry mass ($R^2 = 0.68$, $P < 0.001$; Supplementary Figure S2). Response ratios of aboveground biomass of each accession and for the different combinations of treatment are presented in Supplementary Figure S3.

Variation of Viral Load and Transmission Rate Under WD Is Dependent on the Accession

Preliminary experiments showed that CaMV transmission rate (from a virus donor infected plant) did not vary significantly according to the identity of the accession used as test plant (receptor plant) in transmission experiments (data not shown). For practical reasons, we therefore used Col-0 as test plants in subsequent transmission assays. Whatever the watering treatment and accession, transmission rate varied from 30 to 57% (**Figure 5A**). Surprisingly, while in most accessions WD did not significantly affect the transmission rate or marginally reduced it (Ler-1, from 55 to 38%, $P < 0.10$), we observed a significant increase of transmission rate in Mr-0 and Sha (**Figure 5A**). In these two latter accessions transmission rate increased from 35–51% to 38–57%, respectively ($P < 0.05$). Noteworthy, a similar trend was observed for Ct-1 and Est-1 (**Figure 5A**).

Viral load, i.e., CaMV accumulation in source plants, significantly decreased when plants were grown under WD compared to WW condition for Mr-0, Ct-1, and Sha (10–25% reduction, $P < 0.05$), and tended to decrease in Col-0, Cvi-0, Mt-0 and Ler-1 (**Figure 5B**). No correlation was found between viral load and transmission rate across accessions whatever the watering condition (Spearman's $r = 0.40$, $P = 0.29$ in WW; Spearman's $r = 0.40$, $P = 0.17$ in WD).

Water Deficit Alters the Relationship Between Transmission Rate and Virulence

A significant positive correlation between CaMV virulence (i.e., CaMV-infected:WW/mock-inoculated:WW response ratio

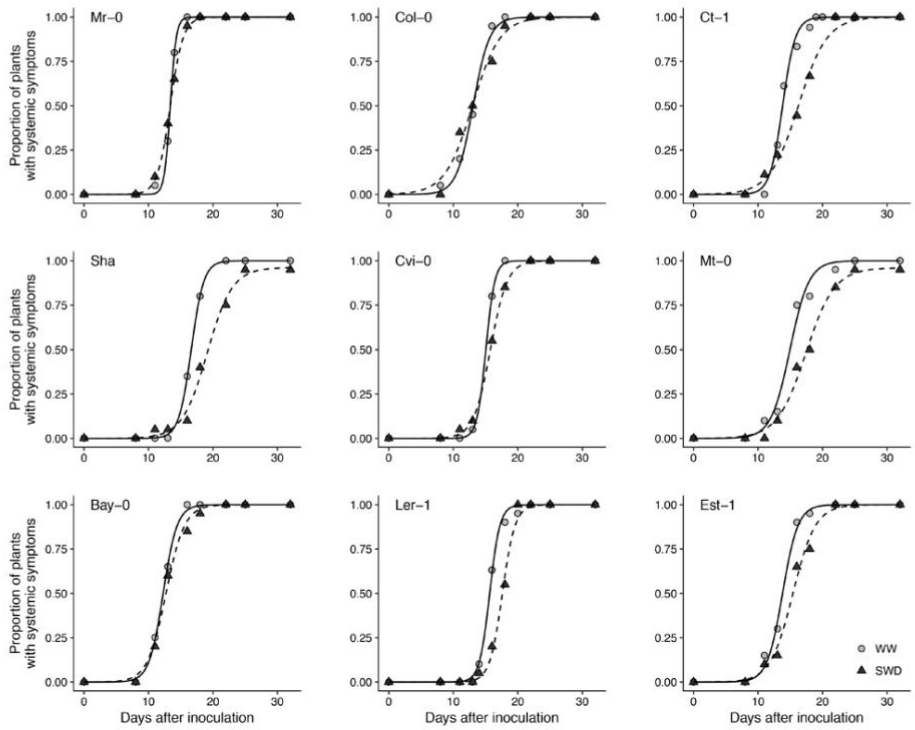


FIGURE 2 | Symptom dynamics in nine *A. thaliana* accessions inoculated with CaMV and grown under two watering conditions. Each panel represents one accession grown under well-watered (gray circles) and water deficit (black circles), respectively. Points are means of the proportion of plants with systemic symptoms ($n = 20$ plants per accession and watering treatment). Curves are logistic fitting following equation $A/(1 + \exp((4^* \mu/A)^*(\lambda - t) + 2))$, where t is the number of days after inoculation, A is the maximum rate of infection, λ is the time necessary for the appearance of symptoms on a non-inoculated leaf and μ is the time required to visualize systemic symptoms.

of aboveground dry mass) and transmission rate was found under WW (Spearman's $r = 0.68$, $P < 0.05$; **Figure 6**). In other words, transmission rate was higher in accessions the most susceptible to CaMV infection in terms of aboveground mass. Under WD, transmission rate increased in accessions that were the most tolerant to CaMV while the reverse trend was observed in accessions more susceptible to CaMV. As a result, a significant negative correlation between transmission rate under WD and CaMV virulence was found (Spearman's $r = -0.75$, $P < 0.02$; **Figure 6**). The relationship between virulence and transmission was distorted regardless of the response ratio calculated for virulence (Supplementary Figures S4, S5).

DISCUSSION

We investigated plant responses to simultaneous exposure to WD and infection with one isolate of the CaMV in nine wild accessions of *A. thaliana* (L.) Heynh. We tested the hypothesis that perturbing effects of WD on plant growth traits would lead to changes in key epidemiological parameters such as systemic spread, virulence, viral load and transmission rate. Our results showed that under WD, viral infection spread into the plant was slower compared to WW treatment. Furthermore, WD had contrasted effects on CaMV transmission rate and viral load among *A. thaliana* accessions. Under WW, transmission rate tended to increase with the susceptibility of the accession to CaMV. Under WD, transmission rate and susceptibility were negatively correlated.

Most plant viruses move in a systemic way within the host plant (Matthews, 1991; Leisner et al., 1993). After inoculation by an aphid vector or by mechanical inoculation like in the present study, CaMV re-initiate infections in different and distant tissues, and such viral spread guarantees its survival (Schoelz et al., 2015). Virus spread within the host plant happens through cell-to-cell movement (via plasmodesmata) and long-distance movement mainly through phloem vessels (Matthews, 1991; Stavolone et al., 2005). It is known that the time at which viruses move out of the inoculated leaf into the rest of the plant varies widely depending on factors such as host and virus species,

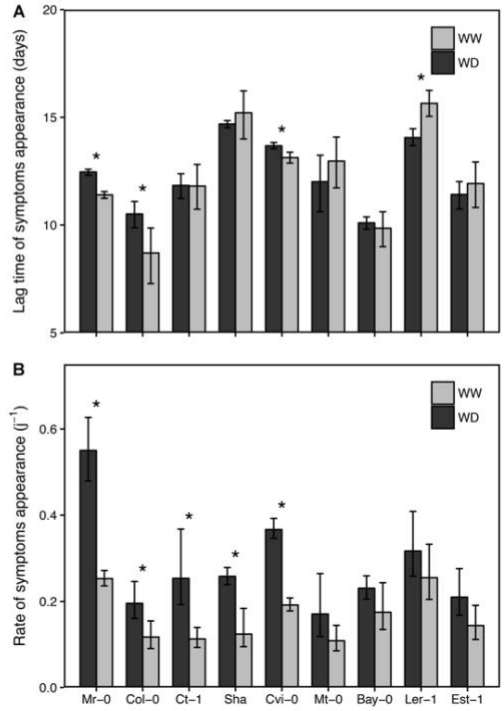


FIGURE 3 | Lag time and rate of CaMV symptoms appearance in nine *A. thaliana* accessions grown under two watering conditions. Bars and error bars are means and bootstrapped 95% confidence intervals of lag time **(A)** and rate **(B)** of symptoms appearance extracted from sigmoidal curve fitting of symptom dynamics (see **Figure 1**) under well-watered (gray bars) and water deficit (black bars), respectively. Stars indicate significant difference between watering treatment for each accession (nonparametric Kruskal–Wallis tests; $P < 0.05$). Accessions are ordered according to increasing tolerance to WD.

age of the host, method of inoculation and abiotic constraints (Jensen, 1973; Ismail and Milner, 1988). In this study, we showed that the lag time to symptoms appearance (the mean time for symptoms to appear in the first non-inoculated leaf) and rate of systemic spread (the time required for all the plants of an accession to exhibit systemic symptoms) of CaMV was affected by accession identity and WD. Previous studies have already shown that inherent differences in development, particularly flowering phenology, and growth, can affect the dynamics of viral infection across accessions (Leisner et al., 1993). Virus spread is also influenced by the flow of metabolites in the plant (Bennett, 1940). Since WD may affect the relationship between carbon availability and sink organ growth (Muller et al., 2011), it can be assumed that long-distance transport of viral particles through phloem will also be affected, leading to slower systemic movement (Córdoba et al., 1991; Leisner et al., 1993; Leisner and Howell, 1993). Here, correlated with the negative effects of WD on plant growth and development we observed a significant reduction in the rate of systemic symptoms appearance in the most WD-sensitive accessions such as Mr-0 and Ct-1. This reinforces the idea of a strong interaction between growth, phenology and viral infection dynamics. These observations are confirmed by the negative correlation between time or rate of systemic spread and tolerance to WD but also with the time of appearance of flowering buds (i.e., bolting) among accessions (not shown).

Regarding the impact of each independent stress on growth, CaMV infection had a generally lower negative effect on plant growth than WD since the virulence of the viral strain Cabb B-JI on vegetative growth was not too deleterious for most accessions studied. The effect of double stress was even more detrimental to rosette growth compared to control conditions. There was no correlation between tolerance to WD and tolerance to CaMV infection. Despite several reports on virus capacity to improve plant tolerance to abiotic stresses (Xu et al., 2008; Westwood et al., 2013), we could not find any significant positive effect of virus infection on plant tolerance to WD.

The success of transmission from infected to healthy host plants is crucial for the survival of all plant viruses. Interestingly, we showed that a WD triggered a significant increase of transmission rate in Sha and Mr-0, two accessions among the most sensitive to WD as previously described (Rymaszewski et al., 2017). These results are consistent with the earlier report of increased transmission of CaMV and *Turnip mosaic virus* (TuMV) from *B. rapa* plants submitted to WD (van Munster et al., 2017). However, the variation of transmission rate under abiotic stress depends on the plant-virus-vector pathosystem and on the type of abiotic stress (Dáder et al., 2016; Nachappa et al., 2016; Yvon et al., 2017). It has been anticipated that abiotic stresses can impact multiple steps of the intricate plant–virus–vector interactions and so modify the transmission rates in many different ways (Mauck et al., 2012; Blanc and Michalakis, 2016). For example, it was demonstrated that the CaMV can 'sense' the aphid feeding activity and immediately produce transmissible morphs, and that this viral "behavior" is also triggered by some abiotic stresses (Martinière et al., 2013). This remarkable phenomenon has been designated 'transmission activation' (Martinière et al., 2013). It is most probably triggered by activation of plant defense pathways against aphid attacks, and that some abiotic stresses induce similar effects is likely due to partially overlapping pathways (Kiegle et al., 2000; Fujita et al., 2006; Suzuki et al., 2014; Pandey et al., 2015). In our study, we revealed that most WD-sensitive accessions have an increased CaMV transmission rate under WD, despite a reduced virus accumulation. This surprising observation might reflect a higher induction of signaling/defense pathways than in others accessions, and thus potentially, a stronger 'transmission activation' of the CaMV.

Virus accumulation in source plants was evaluated as a potential explanatory factor of the altered transmission efficiency. Indeed, it has been reported that abiotic stresses modify viral load of several viruses, such as *Tobacco mosaic virus* and *Potato virus A*, within stressed host plants (Dorokhov et al., 2012; Suntio and Mäkinen, 2012). Moreover, a positive correlation between virus load and transmission efficiency has also been reported in

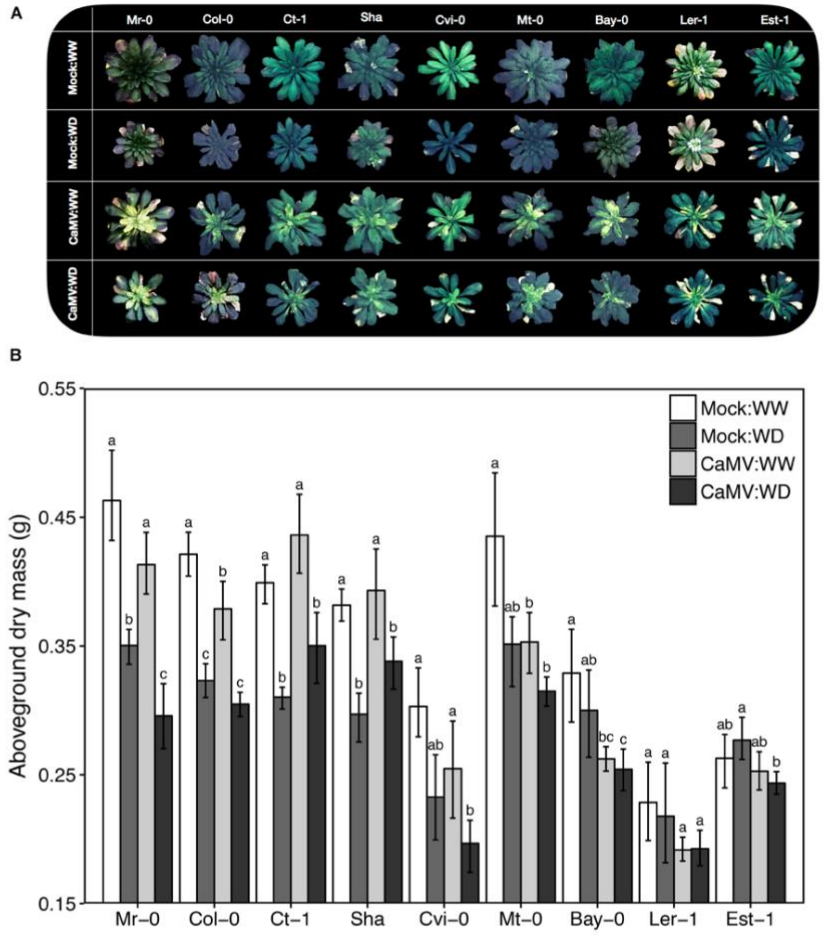


FIGURE 4 | Illustrative photographs of the rosettes and aboveground dry mass of nine *A. thaliana* accessions inoculated with CaMV and grown under two watering conditions. **(A)** Illustrative photographs of the rosettes of nine *A. thaliana* accessions (Mr-0, Col-0, Ct-1, Sha, Cvi-0, Mt-0, Bay-0, Ler-1 and Est-1) inoculated with a mock treatment or with CaMV and grown under well-watered (WW) or water deficit (WD) conditions. All photographs were taken 24 days postinoculation (dpi), 1 day before the transmission test. **(B)** Aboveground dry mass of nine *A. thaliana* accessions. Bars and error bars are means ± bootstrapped 95% confidence intervals of aboveground dry mass 25 dpi and 19 days after the start of water deficit treatment (WD). Mock-inoculated:WW (white bars, $n = 8$), mock-inoculated:WD (dark gray bars, $n = 8$), CaMV-infected:WW (light gray bars, $n = 20$) and CaMV-infected:WD (black bars, $n = 20$) conditions. Different letters indicate a significant difference between treatments for each accession (nonparametric Kruskal–Wallis tests; $P < 0.05$). Error bars were not used to interpret the results. Accessions are ordered according to increasing tolerance to WD.

some instances (Froissart et al., 2010; Doumayrou et al., 2013). In our study, we could not find any significant correlation between these two traits, i.e., a higher viral particles accumulation in the plant did not invariably correlate with a higher transmission. In addition to the phenomenon of the transmission activation discussed above, we also emphasize that many other unknown factors may be responsible for the observed altered transmission under water deficit condition. For example, feeding behavior of the aphid vector may differ on WD infected plants as a consequence of change in plant quality such as changes in carbon-to-nitrogen ratio (Gutiérrez et al., 2013; Prasch and Sonnewald, 2013; Trębicki et al., 2016) and/or morpho-anatomical changes (Carmo-Sousa et al., 2014; Dáder et al., 2017).

In our CaMV-Arabidopsis pathosystem, virulence, as measured by the response ratio of aboveground dry mass, was significantly positively and linearly correlated to transmission rate under WW. The positive relationship between basal virulence and transmission is in accordance with evolutionary

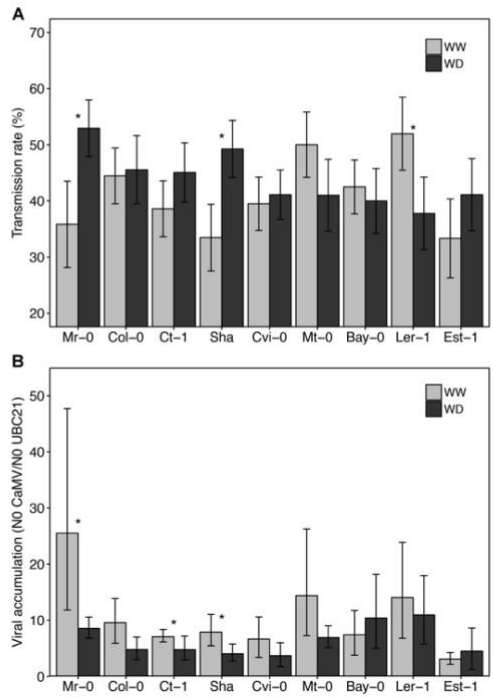


FIGURE 5 | CaMV transmission rate and accumulation in nine *A. thaliana* accessions grown under two watering conditions. Transmission rate **(A)**, i.e., mean proportion of infected test plants ($n = 9$ per source plant) and viral load **(B)** of source plants ($n = 10$) of each accession grown under well-watered (gray bars) and water deficit (black bars), 25 dpi and 19 days after the start of water deficit treatment, respectively. Stars indicate a statistically significant difference between watering treatment for each accession (nonparametric Kruskal–Wallis tests; $P < 0.05$). Error bars represent bootstrapped 95% confidence intervals but were not used to interpret the results. Accessions are ordered according to increasing tolerance to WD.

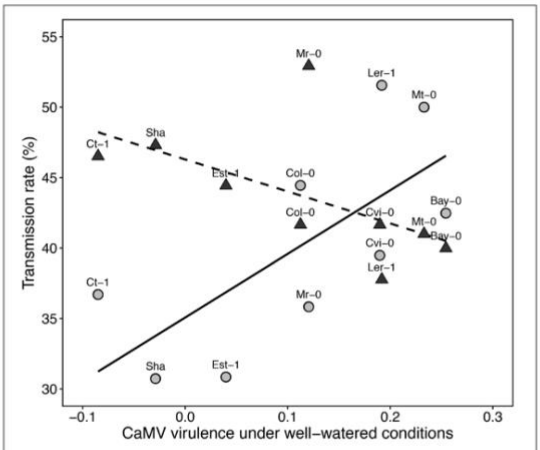


FIGURE 6 | Relationship between virulence and transmission rate of CaMV in nine *A. thaliana* accessions. Each labeled point represents CaMV virulence under well-watered and transmission rate under well-watered (gray circles) and water deficit (black triangles) for each accession. Lines represent linear regressions under well-watered (solid line; Spearman's $r = 0.68$, $P = 0.05$) and water deficit (dashed line; Spearman's $r = -0.75$, $P = 0.019$), respectively.

expectations as well as other empirical observations (Asplen et al., 2012; Doumayrou et al., 2013; Alizon and Michalakis, 2015). The 'trade-off hypothesis' postulates that increased virulence of a parasite is a viable evolutionary strategy if and only if its costs (mortality of the host) are counterbalanced by an increased transmission efficiency (Pagán et al., 2007). For instance, a positive relationship but with a saturating trend between these two traits was found in the CaMV-*Brassica rapa* pathosystem by Doumayrou et al. (2013) when testing different natural CaMV isolates on one cultivar of *B. rapa*. Surprisingly, we showed that WD had a significant reversing effect on this relationship. Indeed, CaMV transmission rate from the most virus-tolerant *A. thaliana* accessions (Sha, Ct-1, Est-1) significantly increased under WD while it decreased or did not change in other accessions. To our knowledge, this is the first study showing an alteration of the relationship (here reversed) between viral tradeoffs due to a change in abiotic conditions (Fraile and García-Arenal, 2016).

CONCLUSION

Our results support the idea that optimal virulence of a given virus, as hypothesized under the transmission-virulence trade-off, is highly dependent on the environment and growth traits of the host. The multi-faceted relationships between virulence, viral load and transmissibility according to the environmental conditions experienced by the host will require further theoretical and experimental investigations. In particular, investigations concerning the behavior of the aphid (alteration of its behavior by the environment) but also on the implication of plant and virus genetic diversity. Especially if these relationships have to be incorporated into models of virus epidemiology under scenarios of climate changes.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

SEB, MvM, SB, and DV conceptualized the study. SEB, MvM, MD, AB, CV-R, GR, MY, and DV performed the experiments. SEB, MvM, and DV analyzed the data and wrote the original draft. All coauthors edited and reviewed the final version of the paper.

FUNDING

This work was supported by the European Union and the Region Languedoc-Roussillon "Chercheur d'Avenir" (FEDER FSE IEJ 2014-2020; Grant Project "APSEVIR" #2015005464).

ACKNOWLEDGMENTS

We thank G. Fleury, A. Pepey, and L. Kohan for the technical support and image analysis during the experiments and S. Leblaye and J.-L Macia for aphid rearing.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.00703/full#supplementary-material

REFERENCES

Aguilar, E., Cutrona, C., del Toro, F. J., Vallarino, J. G., Osorio, S., Pérez-Bueno, M. L., et al. (2017). Virulence determines beneficial trade-offs in the response of virus-infected plants to drought via induction of salicylic acid: trade-offs in virus-infected plants to drought. *Plant Cell Environ.* 40, 2909–2930. doi: 10.1111/pce.13028

Alazem, M., and Lin, N.-S. (2015). Roles of plant hormones in the regulation of host–virus interactions. *Mol. Plant Pathol.* 16, 529–540. doi: 10.1111/mpp.12204

Alizon, S., Hurford, A., Mideo, N., and Van Baalen, M. (2009). Virulence evolution and the trade-off hypothesis: history, current state of affairs and the future. *J. Evol. Biol.* 22, 245–259. doi: 10.1111/j.1420-9101.2008.01658.x

Alizon, S., and Michalakis, Y. (2015). Adaptive virulence evolution: the good old fitness-based approach. *Trends Ecol. Evol.* 30, 248–254. doi: 10.1016/j.tree.2015.02.009

Aou-ouad, H. E., Pou, A., Tomàs, M., Montero, R., Ribas-Carbo, M., Medrano, H., et al. (2017). Combined effect of virus infection and water stress on water flow and water economy in grapevines. *Physiol. Plant* 160, 171–184. doi: 10.1111/ppl.12541

Asplen, M. K., Bruns, E., David, A. S., Denison, R. F., Epstein, B., Kaiser, M. C., et al. (2012). Do trade-offs have explanatory power for the evolution of organismal interactions? *Evolution* 66, 1297–1307. doi: 10.1111/j.1558-5646.2011.01573.x

Atkinson, N. J., Lilley, C. J., and Urwin, P. E. (2013). Identification of genes involved in the response of Arabidopsis to simultaneous biotic and abiotic stresses. *Plant Physiol.* 162, 2028–2041. doi: 10.1104/pp.113.222372

Bennett, C. W. (1940). Relation of food translocation to movement of virus of *Tobacco mosaic*. *J. Agric. Res.* 60, 361–390.

Blanc, S., Cerutti, M., Usmany, M., Vlak, J. M., and Hull, R. (1993). Biological Activity of *Cauliflower mosaic virus* aphid transmission factor expressed in a heterologous system. *Virology* 192, 643–650. doi: 10.1006/viro.1993.1080

Blanc, S., and Michalakis, Y. (2016). Manipulation of hosts and vectors by plant viruses and impact of the environment. *Curr. Opin. Insect Sci.* 16, 36–43. doi: 10.1016/j.cois.2016.05.007

Bostock, R. M. (2005). Signal crosstalk and induced resistance: straddling the line between cost and benefit. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43, 545–580. doi: 10.1146/annurev.phyto.41.052002.095505

Bragard, C., Caciagli, P., Lemaire, O., Lopez-Moya, J. J., MacFarlane, S., Peters, D., et al. (2013). Status and prospects of plant virus control through interference with vector transmission. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51, 177–201. doi: 10.1146/annurev-phyto-082712-102346

Carmo-Sousa, M., Moreno, A., Garzo, E., and Fereres, A. (2014). A non-persistently transmitted-virus induces a pull–push strategy in its aphid vector to optimize transmission and spread. *Virus Res.* 186, 38–46. doi: 10.1016/j.virusres.2013.12.012

Carr, J. P. (2017). Exploring how viruses enhance plants' resilience to drought and the limits to this form of viral payback. *Plant Cell Environ.* 40, 2906–2908. doi: 10.1111/pce.13068

Córdoba, A. R., Taleisnik, E., Brunotto, M., and Racca, R. (1991). Mitigation of tomato spotted wilt virus infection and symptom expression by water stress. *J. Phytopathol.* 133, 255–263. doi: 10.1111/j.1439-0434.1991.tb00160.x

R Core Team (2017). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.

Dáder, B., Fereres, A., Moreno, A., and Trębicki, P. (2016). Elevated CO2 impacts bell pepper growth with consequences to *Myzus persicae* life history, feeding behaviour and virus transmission ability. *Sci. Rep.* 6:19120. doi: 10.1038/srep19120

Dáder, B., Then, C., Berthelot, E., Ducousso, M., Ng, J. C. K., and Drucker, M. (2017). Insect transmission of plant viruses: multilayered interactions optimize viral propagation: virus-insect-plant interactions in transmission. *Insect Sci.* 24, 929–946. doi: 10.1111/1744-7917.12470

Davis, T. S., Bosque-Pérez, N. A., Foote, N. E., Magney, T., and Eigenbrode, S. D. (2015). Environmentally dependent host–pathogen and vector–pathogen interactions in the *Barley yellow dwarf virus* pathosystem. *J. Appl. Ecol.* 52, 1392–1401. doi: 10.1111/1365-2664.12484

Delseny, M., and Hull, R. (1983). Isolation and characterization of faithful and altered clones of the genomes of *Cauliflower mosaic virus* isolates Cabb B-JI, CM4-184, and Bari I. *Plasmid* 9, 31–41. doi: 10.1016/0147-619X(83)90029-X

Dorokhov, Y. L., Komarova, T. V., Petrunia, I. V., Frolova, O. Y., Pozdyshev, D. V., and Gleba, Y. Y. (2012). Airborne signals from a wounded leaf facilitate viral spreading and induce antibacterial resistance in neighboring plants. *PLoS Pathog.* 8:e1002640. doi: 10.1371/journal.ppat.1002640

Doumayrou, J., Avellan, A., Froissart, R., and Michalakis, Y. (2013). An experimental test of the transmission-virulence trade-off hypothesis in a plant virus. *Evolution* 67, 477–486. doi: 10.1111/j.1558-5646.2012.01780.x

Edwards, K., Johnstone, C., and Thompson, C. (1991). A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucleic Acids Res.* 19:1349. doi: 10.1093/nar/19.6.1349

Fabre, J., Dauzat, M., Nègre, V., Wuyts, N., Tireau, A., Gennari, E., et al. (2011). PHENOPSIS DB: an information system for *Arabidopsis thaliana* phenotypic data in an environmental context. *BMC Plant Biol.* 11:77. doi: 10.1186/1471-2229-11-77

Fraile, A., and García-Arenal, F. (2016). Environment and evolution modulate plant virus pathogenesis. *Curr. Opin. Virol.* 17, 50–56. doi: 10.1016/j.coviro.2016.01.008

Froissart, R., Doumayrou, J., Vuillaume, F., Alizon, S., and Michalakis, 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. doi: 10.1098/rstb.2010.0068

Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., et al. (2006). Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9, 436–442. doi: 10.1016/j.pbi.2006.05.014

Granier, C., Aguirrezabal, L., Chenu, K., Cookson, S. J., Dauzat, M., Hamard, P., et al. (2006). PHENOPSIS, an automated platform for reproducible phenotyping of plant responses to soil water deficit in *Arabidopsis thaliana* permitted the identification of an accession with low sensitivity to soil water deficit. *New Phytol.* 169, 623–635. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01609.x

Gutiérrez, S., Michalakis, Y., Van Munster, M., and Blanc, S. (2013). Plant feeding by insect vectors can affect life cycle, population genetics and evolution of plant viruses. *Funct. Ecol.* 27, 610–622. doi: 10.1111/1365-2435.12070

Hily, J.-M., Poulicard, N., Mora, M.-Á., Pagán, I., and García-Arenal, F. (2016). Environment and host genotype determine the outcome of a plant–virus interaction: from antagonism to mutualism. *New Phytol.* 209, 812–822. doi: 10.1111/nph.13631

Hull, R., and Shepherd, R. J. (1976). The coat proteins of *Cauliflower mosaic virus*. *Virology* 70, 217–220. doi: 10.1016/0042-6822(76)90257-9

Ismail, I. D., and Milner, J. J. (1988). Isolation of defective interfering particles of Sonchus yellow net virus from chronically infected plants. *J. Gen. Virol.* 69, 999–1006. doi: 10.1099/0022-1317-69-5-999

Jensen, S. G. (1973). Systemic movement of barley yellow dwarf virus in small grains. *Phytopathology* 63, 854–856. doi: 10.1094/Phyto-63-854

Kiegle, E., Moore, C. A., Haseloff, J., Tester, M. A., and Knight, M. R. (2000). Cell-type-specific calcium responses to drought, salt and cold in the *Arabidopsis* root. *Plant J.* 23, 267–278. doi: 10.1046/j.1365-313x.2000.00786.x

Kissoudis, C., Chowdhury, R., van Heusden, S., van de Wiel, C., Finkers, R., Visser, R. G. F., et al. (2015). Combined biotic and abiotic stress resistance in tomato. *Euphytica* 202, 317–332. doi: 10.1007/s10681-015-1363-x

Leisner, S. M., and Howell, S. H. (1993). Long-distance movement of viruses in plants. *Trends Microbiol.* 1, 314–317. doi: 10.1016/0966-842X(93)90009-G

Leisner, S. M., Turgeon, R., and Howell, S. H. (1993). Effects of host plant development and genetic determinants on the long-distance movement of *Cauliflower mosaic virus* in Arabidopsis. *Plant Cell* 5, 191–202. doi: 10.1105/tpc.5.2.191

Martinière, A., Bak, A., Macia, J.-L., Lautredou, N., Gargani, D., Doumayrou, J., et al. (2013). A virus responds instantly to the presence of the vector on the host and forms transmission morphs. *eLife* 2:e00183. doi: 10.7554/eLife.00183

Matthews, C. (1991). *Plant Virology*. San Diego, CA: Academic Press.

Mauck, K., Bosque-Pérez, N. A., Eigenbrode, S. D., De Moraes, C. M., and Mescher, M. C. (2012). Transmission mechanisms shape pathogen effects on host–vector interactions: evidence from plant viruses. *Funct. Ecol.* 26, 1162–1175. doi: 10.1111/j.1365-2435.2012.02026.x

Muller, B., Pantin, F., Génard, M., Turc, O., Freixes, S., Piques, M., et al. (2011). Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *J. Exp. Bot.* 62, 1715–1729. doi: 10.1093/jxb/erq438

Nachappa, P., Culkin, C. T., Saya, P. M., Han, J., and Nalam, V. J. (2016). Water stress modulates soybean aphid performance, feeding behavior, and virus transmission in soybean. *Front. Plant Sci.* 7:552. doi: 10.3389/fpls.2016.00552

Nancarrow, N., Constable, F. E., Finlay, K. J., Freeman, A. J., Rodoni, B. C., Trebicki, P., et al. (2014). The effect of elevated temperature on *Barley yellow dwarf virus*-PAV in wheat. *Virus Res.* 186, 97–103. doi: 10.1016/j.virusres.2013.12.023

Nejat, N., Rookes, J., Mantri, N. L., and Cahill, D. M. (2016). Plant–pathogen interactions: toward development of next-generation disease-resistant plants. *Crit. Rev. Biotechnol.* 37, 229–237. doi: 10.3109/07388551.2015.1134437

Pagán, I., Alonso-Blanco, C., and García-Arenal, F. (2007). The relationship of within-host multiplication and virulence in a plant-virus system. *PLoS One* 2:e786. doi: 10.1371/journal.pone.0000786

Pandey, P., Ramegowda, V., and Senthil-Kumar, M. (2015). Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: physiological and molecular mechanisms. *Front. Plant Sci.* 6:723. doi: 10.3389/fpls.2015.00723

Prasch, C. M., and Sonnewald, U. (2013). Simultaneous application of heat, drought, and virus to Arabidopsis plants reveals significant shifts in signaling networks. *Plant Physiol.* 162, 1849–1866. doi: 10.1104/pp.113.221044

Prasch, C. M., and Sonnewald, U. (2015). Signaling events in plants: stress factors in combination change the picture. *Environ. Exp. Bot.* 114, 4–14. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.06.020

Ramegowda, V., and Senthil-Kumar, M. (2015). The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: mechanistic understanding from drought and pathogen combination. *J. Plant Physiol.* 176, 47–54. doi: 10.1016/j.jplph.2014.11.008

Roossinck, M. J. (2015). Plants, viruses and the environment: ecology and mutualism. *Virology* 479–480, 271–277. doi: 10.1016/j.virol.2015.03.041

Ruijter, J. M., Ramakers, C., Hoogaars, W. M., Karlen, Y., Bakker, O., van den Hoff, M. J., et al. (2009). Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res.* 37:e45. doi: 10.1093/nar/gkp045

Rymaszewski, W., Granier, C., Vile, D., Dauzat, M., Hennig, J., Kamrowska, D., et al. (2017). Stress-response gene expression reflects morpho-physiological responses to water deficit. *Plant Physiol.* 174, 1913–1930. doi: 10.1104/pp.17.00318

Schoelz, J. E., Angel, C. A., Nelson, R. S., and Leisner, S. M. (2015). A model for intracellular movement of *Cauliflower mosaic virus*: the concept of the mobile virion factory. *J. Exp. Bot.* 67, 2039–2048. doi: 10.1093/jxb/erv520

Stavolone, L., Villani, M. E., Leclerc, D., and Hohn, T. (2005). A coiled-coil interaction mediates *Cauliflower mosaic virus* cell-to-cell movement. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 6219–6224. doi: 10.1073/pnas.0407731102

Suntio, T., and Mäkinen, K. (2012). Abiotic stress responses promote *Potato virus A* infection in *Nicotiana benthamiana*: Ca2+ and Potato virus A infection. *Mol. Plant Pathol.* 13, 775–784. doi: 10.1111/j.1364-3703.2012.00786.x

Suzuki, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., and Mittler, R. (2014). Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytol.* 203, 32–43. doi: 10.1111/nph.12797

Trębicki, P., Vandegeer, R. K., Bosque-Pérez, N. A., Powell, K. S., Dader, B., Freeman, A. J., et al. (2016). Virus infection mediates the effects of elevated CO2 on plants and vectors. *Sci. Rep.* 6:22785. doi: 10.1038/srep22785

van Munster, M., Yvon, M., Vile, D., Dader, B., Fereres, A., and Blanc, S. (2017). Water deficit enhances the transmission of plant viruses by insect vectors. *PLoS One* 12:e0174398. doi: 10.1371/journal.pone.0174398

Westwood, J. H., Mccann, L., Naish, M., Dixon, H., Murphy, A. M., Stancombe, M. A., et al. (2013). A viral RNA silencing suppressor interferes with abscisic acid-mediated signalling and induces drought tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant Pathol.* 14, 158–170. doi: 10.1111/j.1364-3703.2012.00840.x

Xu, P., Chen, F., Mannas, J. P., Feldman, T., Sumner, L. W., and Roossinck, M. J. (2008). Virus infection improves drought tolerance. *New Phytol.* 180, 911–921. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02627.x

Yvon, M., Vile, D., Brault, V., Blanc, S., and van Munster, M. (2017). Drought reduces transmission of *Turnip yellows virus*, an insect-vectored circulative virus. *Virus Res.* 241, 131–136. doi: 10.1016/j.virusres.2017.07.009

Zhang, H., and Sonnewald, U. (2017). Differences and commonalities of plant responses to single and combined stresses. *Plant J.* 90, 839–855. doi: 10.1111/tpj.13557

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

The reviewer AG and handling Editor declared their shared affiliation.

Copyright © 2018 Bergès, Vile, Vazquez-Rovere, Blanc, Yvon, Bédiée, Rolland, Dauzat and van Munster. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

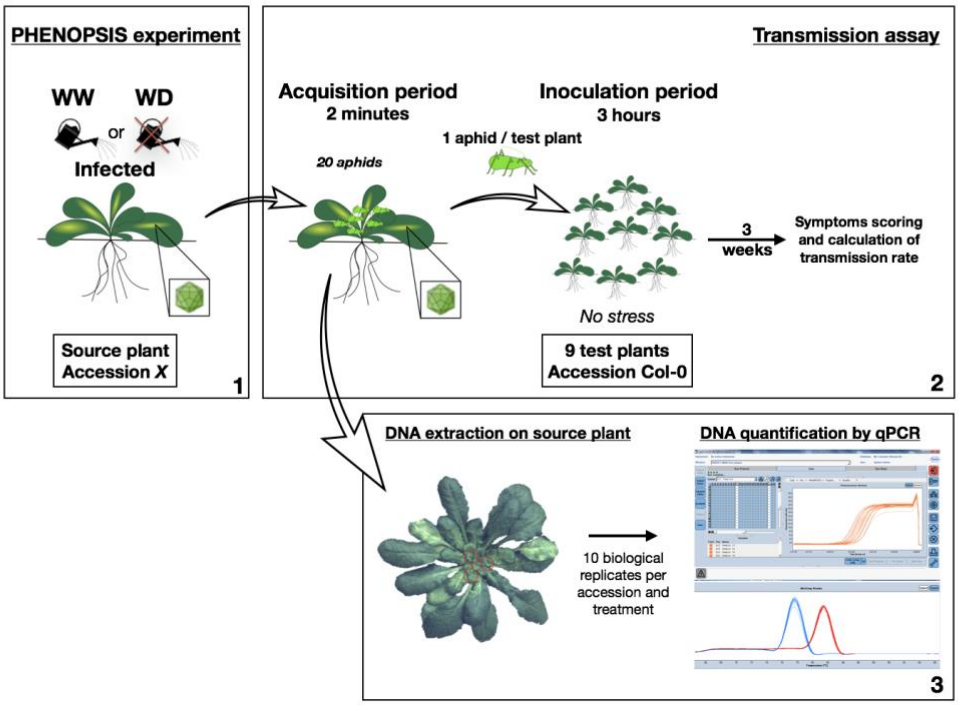


Figure S1. Experimental design for CaMV transmission assay and qPCR experiment. (1) Source plant development in PHENOPSIS platform under two water soil conditions, CaMV-WW (well-watered) or CaMV-WD (water deficit). **(2)** Transmission efficiency of CaMV was assessed at 25 dpi. Batches of 20 *M. persicae* larvae (l2-L4 instars) were transferred on the rosette center of a source plant for virus acquisition. Ten symptomatic source plants were tested per accession and watering treatment. When aphids stopped walking and inserted their stylets into the leaf surface, they were allowed to feed for a short two-minutes period. Viruliferous aphids were then immediately collected in a Petri dish and individually transferred to one-month-old Col-0 plantlets (test plants) grown under no stress conditions (one aphid per test plant; nine test plants per source plant). After an inoculation period of three hours, aphids were eliminated by insecticide spray (0.2% Pirimor G). Test plants were then placed in a growth

chamber with the same conditions of air humidity, temperature and light as source plants and maintained under no stress conditions. Symptoms of virus infection were recorded 21 days later by visual inspection on test plant and virus transmission rate was calculated. **(3)** After transmission assays, three leaves were randomly (red circles) collected on each source plants and stored at -80 °C for further nucleic acid extraction and quantification of virus accumulation by qPCR.

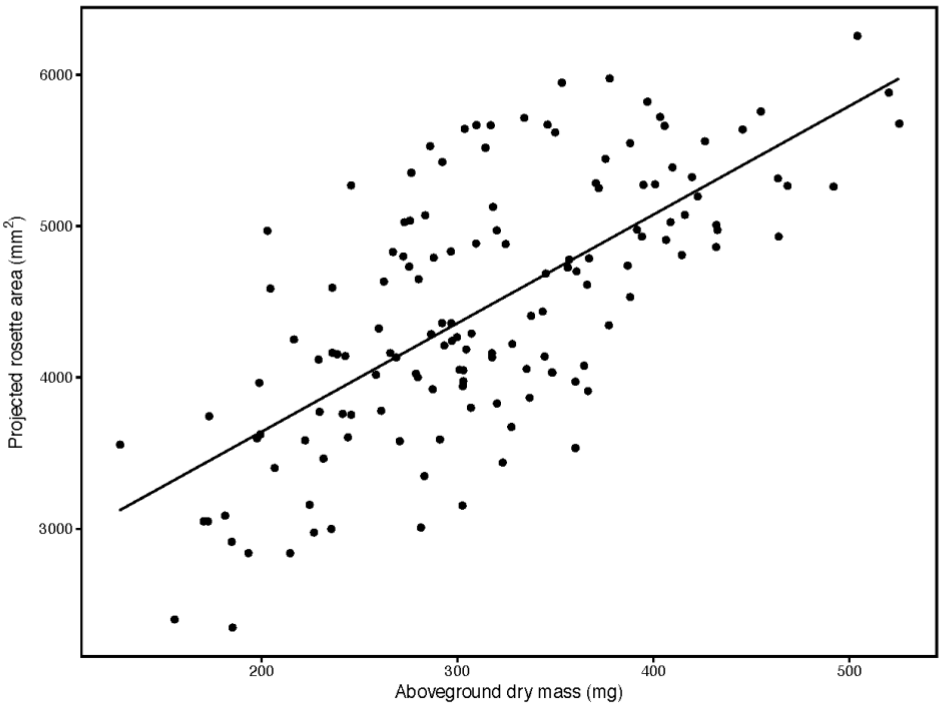


Figure S2. Relationship between aboveground dry mass (mg) and projected rosette area (mm^2). Linear regression includes all accessions regardless of water treatment or viral infection ($R^2 = 0.68$, $P < 0.001$).

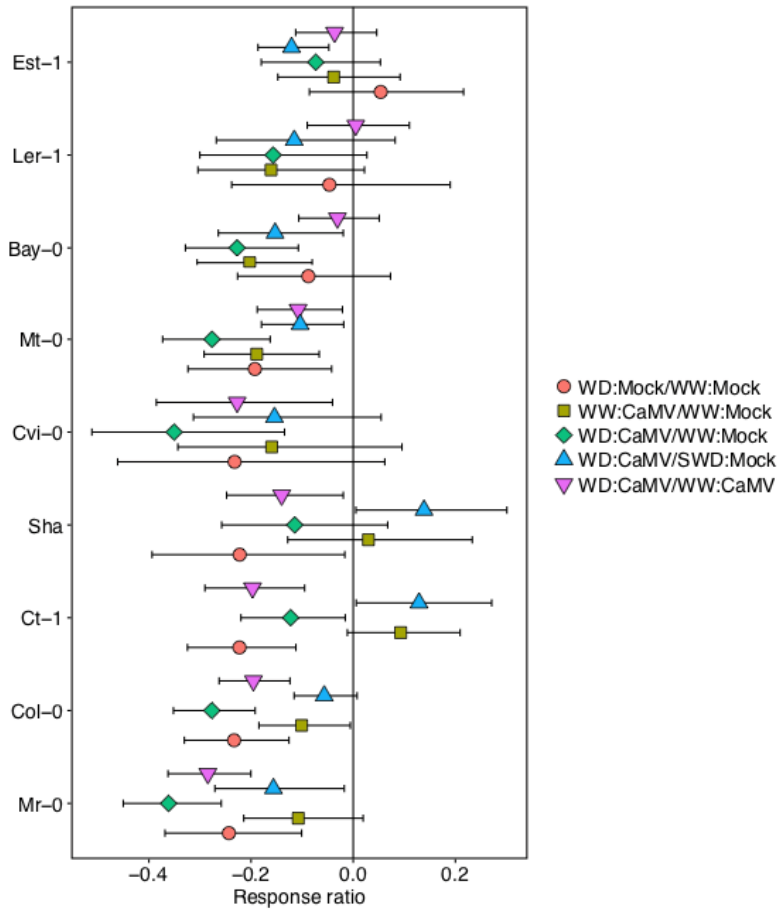


Figure S3. Response ratios of aboveground biomass for each accession. Mean response ratios of mock-inoculated plants to WD (red circle), CaMV-infection under WW conditions (green square), CaMV infection under WD compared to WW:mock-inoculated (green diamond), CaMV infection under WD compared to WD:mock-inoculation (blue triangle) and CaMV infection under WD compared to WW-CaMV inoculated (pink upside-down triangle). Mean response ratios are sorted by the less tolerant accession to WD at bottom to the most tolerant one on top, and are surrounded by 95% confidence intervals. Differences were significant when 95% confidence intervals did not overlap zero.

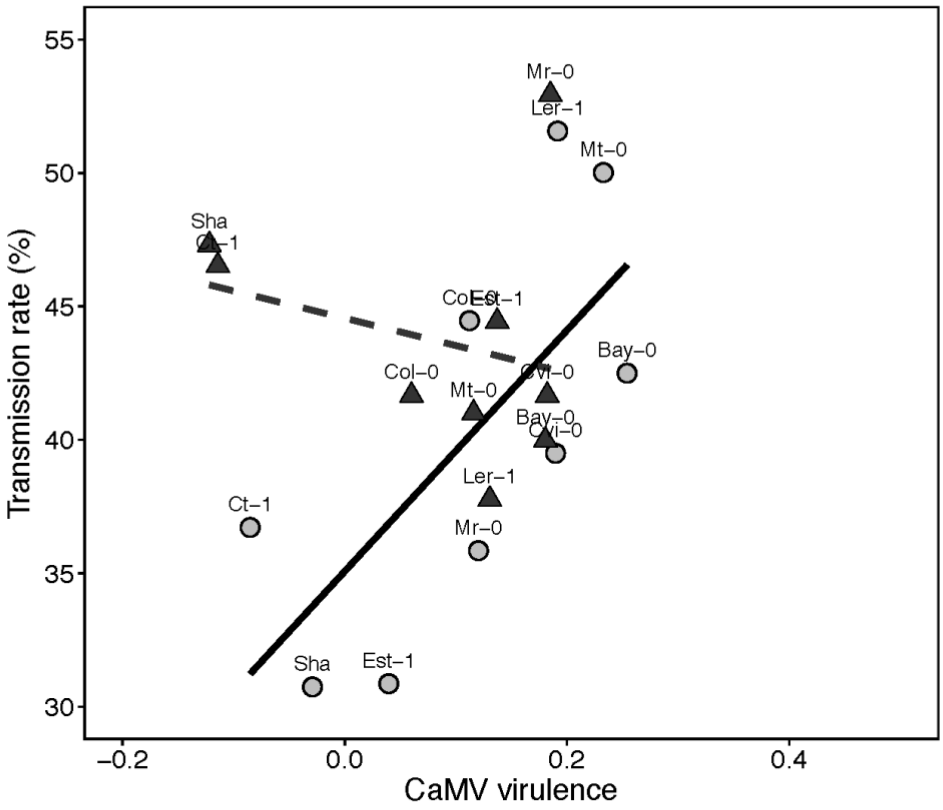
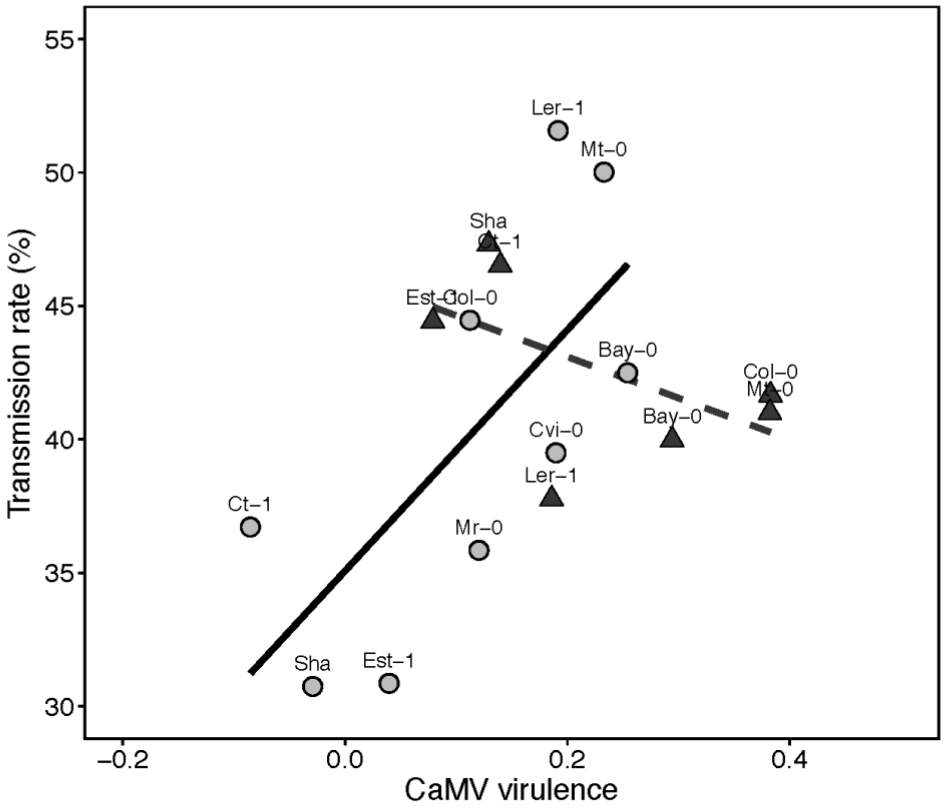


Figure S4. Relationship between virulence (response ratio of aboveground dry mass mock-inoculated under water deficit (WD)/CaMV-infected under WD condition and transmission rate of CaMV in nine *A. thaliana* accessions. Labelled points represent CaMV virulence calculated as the response ratio of aboveground dry mass mock-inoculated/CaMV-infected under well-watered (WW) condition, and CaMV transmission rate under WW (grey circles), or CaMV virulence calculated as the response ratio of aboveground dry mass mock-inoculated under WD/CaMV-infected under WD, and CaMV transmission rate under WD (black triangles) for each accession. Lines represent linear regressions under WW (solid line; $r_{Spearman} = 0.68$, $P = 0.05$) and SWD (dashed line; $r_{Spearman} =$, $P = 0.81$), respectively.



Figure

Figure S5. Relationship between virulence (the response ratio of aboveground dry mass mock-inoculated under WW/CaMV-infected under WD condition) and transmission rate of CaMV in nine *A. thaliana* accessions. Labelled points represent CaMV virulence calculated as the response ratio of aboveground dry mass mock-inoculated/CaMV-infected under well-watered (WW) condition, and CaMV transmission rate under WW (grey circles), or CaMV virulence calculated as the response ratio of aboveground dry mass mock-inoculated under WW/CaMV-infected under WD condition, and CaMV transmission rate under WD (black triangles) for each accession. Lines represent linear regressions under WW (solid line; $r_{Spearman} = 0.68$, $P = 0.05$) and WD (dashed line; $r_{Spearman} =$, $P = 0.95$), respectively.

-CHAPITRE 2-

Étude de l'impact du déficit hydrique sur les réponses végétatives et reproductives de divers génotypes d'*A. thaliana* infectés par le CaMV

Article 2: Genetic variation of Arabidopsis thaliana responses to Cauliflower Mosaic Virus infection upon water deficit

Objectifs du chapitre :

Pour assurer leur survie et leur reproduction, les plantes doivent réagir de manière appropriée et efficace aux changements biotiques et abiotiques auxquels elles sont confrontées tout au long de leur développement. Au niveau interspécifique, la variation inhérente de traits fonctionnels majeurs reflète les différences de stratégies écologiques entre les espèces et leur capacité à résister à différentes combinaisons et niveaux de stress. *A. thaliana* est une espèce annuelle présente dans une large gamme de climats. Comme la plupart des plantes annuelles, cette espèce en forme de rosette se reproduit rapidement et investit préférentiellement dans la production et la dispersion de propagules. Elle est présente dans les habitats perturbés et elle est donc considérée comme une espèce rudérale. Dans ce chapitre nous avons réalisé deux expériences sur 44 génotypes d'*Arabidopsis thaliana* soumis à la fois à un déficit hydrique et à une infection par le *Cauliflower mosaic virus* (CaMV).

Les principales questions abordées ont été :

- La tolérance de la plante au CaMV et au déficit hydrique est-elle liée aux traits et stratégies inhérentes de la plante ?
- Quel est l'effet de la combinaison du déficit hydrique et de l'infection par le CaMV sur la croissance végétative et reproductive d'*A. thaliana* ?
- Est-ce que la ruderalité d'*A.thaliana* est liée au niveau de tolérance des plantes au CaMV indépendamment du statut hydrique des plantes ?

Cette étude soumise à *PLOS Pathogens* a pu mettre en évidence des réponses contrastées des différents génotypes d'*A. thaliana* soumis à un des stress de manière isolé. En particulier, l'infection par le CaMV en stress isolé diminue les performances végétatives des plantes de manière plus ou moins importante et annihile totalement le succès de reproduction de tous les génotypes testés. Nous avons observé un effet en interaction des stress sur la croissance. Au cours de cette étude, nous avons également trouvé une corrélation positive entre le niveau de tolérance au déficit hydrique et le niveau de tolérance au CaMV. Les génotypes les plus

tolérants au CaMV en condition optimale sont également les plus tolérants à l'infection en condition de déficit hydrique.

La rudéralité, quantifiée à partir des caractères foliaires (LDMC, SLA et LA), varie significativement d'un génotype à l'autre. De plus, elle est positivement corrélée à la tolérance à l'infection virale quelle que soit la condition hydrique. En outre, cette tolérance à l'infection virale semble positivement corrélée à la floraison précoce, en lien avec le caractère rudéral du génotype.

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont montré de manière surprenante une meilleure survie des plantes en double stress comparé à des plantes infectées en conditions optimales d'irrigation. De manière générale, les interactions complexes existants entre la plante hôte, le virus et l'environnement abiotique semblent modulées par les stratégies écologiques inhérentes du génotype de la plante hôte.

Genetic variation of Arabidopsis thaliana responses to Cauliflower Mosaic Virus infection upon water deficit

Sandy E. Bergès[1,2], Alexis Bediée[1], Gaëlle Rolland[1], Diane Masclef[1], Myriam Dauzat[1], Manuella van Munster[2*], Denis Vile[1*]

[1]LEPSE, Univ Montpellier, INRA, Montpellier SupAgro, Montpellier, France

[2]BGPI, Univ Montpellier, CIRAD, INRA, Montpellier SupAgro, Montpellier, France.

***Corresponding authors**: Denis Vile (denis.vile@inra.fr); Manuella van Munster (manuella.van-munster@inra.fr)

Keywords: phytovirus; functional strategies; Grime's CSR triangle; water deficit; plant tolerance; survival; reproductive success.

Number of words: 7582

Number of figures: 8

Running title: Plant responses to virus infection under water deficit

Abstract

Plant viruses pathogenicity is expected to vary upon changes in the abiotic environment that affect plant physiology. Here we investigated the vegetative and reproductive performance of 44 wild plant genotypes of *A. thaliana* originating from the Iberian Peninsula upon simultaneous exposure to soil water deficit (WD) and viral infection by the *Cauliflower Mosaic Virus* (CaMV). Following the predictions of Grime's CSR triangle theory of plant ecological strategies, we tested the hypothesis that the ruderal character of a plant genotype is positively related to its tolerance to virus infection whatever the soil water availability. Our results showed that CaMV infection decreased plant vegetative performance and annihilates reproductive success of all genotypes. In general, WD decreased plant performance but despite differences in genotypes behavior, the ranking of genotypes tolerance to CaMV was conserved under WD. Ruderality, as quantified from leaf traits following previously published procedure, varied significantly among genotypes, and was positively correlated with genotype tolerance to viral infection under well-watered as well as under WD conditions, though to a lesser extent. Also, in accordance with the ruderal character of the genotype and previous findings, our results suggest that genotype tolerance to CaMV infection is positively correlated with early flowering. Finally, our results showed that plant survival to CaMV infection can be increased under WD. The complex interactions between the plant, the virus and the abiotic environment are discussed regarding the variation of inherent plant ecological strategies at the intraspecific level.

Author summary

Viruses pathogenicity may be influenced by the abiotic environment. This is the case of soil water deficit which is detrimental to plant productivity, whose occurrence is expected to increase due to climate changes, and that has been shown to interfere with plant-virus interactions. We investigated the performance of 44 wild plant genotypes of *A. thaliana* infected by the *Cauliflower Mosaic Virus* (CaMV) under well-watered and soil water deficit conditions. We showed that viral infection decreased plant vegetative performance and annihilates reproductive success of all genotypes, and that these pathogenic effects were increased by the water deficit. We also showed that the intrinsic characteristics of the genotypes were related to their tolerance to the virus so that the genotypes with low leaf tissue density and rapid growth rate were more tolerant to viral infection regardless of the watering condition. Finally, we showed that plant survival to viral infection can be increased under water deficit. We discuss

the role of intrinsic characteristics of plants, seen as inherent ecological strategies, for plant tolerance to viral infections under contrasting environmental conditions, and the consequences for the study of viral epidemiology.

Introduction

To ensure their survival and successful reproduction, plants must respond appropriately and effectively to biotic and abiotic changes in their environment. At the interspecific level, inherent variation in key functional traits reflect the differences in ecological strategies between species and their capacity to withstand different combinations and levels of stresses [1–3]. Among the different frameworks proposed to evaluate these differences, Grime's CSR triangle theory [4] has been outstanding, even at the intraspecific level, where natural selection basically operates [5,6]. This framework assumes that ecological strategies are shaped by two kinds of factors: disturbance and stress. Disturbance refers to any environmental factor that causes partial or total destruction of plant biomass, which includes pathogens**,** grazing, trampling and mowing, but also extreme climatic events such as severe drought, frost and fire. Stress involves any factor or combination of factors, such as the shortage of water**,** nutrient and light resources, that reduce plant growth. Differences in disturbance and stress intensity are expected to result in quantitative variation of three ecological strategies: (1) competitors (C) in highly productive habitats with low stress intensity and disturbance, which invest resources in the rapid growth of large organs to outcompete neighbors; (2) stress-tolerant (S) in stressed, resource-poor habitats with low disturbance, which invest resources to protect tissue from stress damages; and (3) ruderals (R) in resource-rich environments associated with repeated disturbance, which invest resources in rapid reproduction and propagule dispersal [4,7,8].

Infection by pathogenic viruses is one of the major biotic constraints that strongly impact on plant performance at both the vegetative and reproductive levels. The success of viral infection and its quantitative variation of pathogenicity – 'aggressiveness', following [9], or virulence – depends on the physiological machinery of the host plant, and thus any other environmental change that will affect plant physiology may also affect the outcome of viral infection. As a consequence, plant development rate is an important parameter of virus aggressiveness. Indeed, it has been demonstrated that systemic spread of the *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) was reduced in early flowering genotypes of *Arabidopsis thaliana* that produced a limited number of invaded leaves and thus rosettes with fewer symptoms [10]. In these plants, there does not appear to be any impediment to virus replication or symptom production *per se*. The resistance results from a mismatch between the kinetics of virus movement and the rate of development of the infected plant. Further studies showed that the relationships between plant development

rate and virulence is dependent on the genotype, the timing of infection and the abiotic environment [11–16]. For instance, *A. thaliana* genotypes with inherently longer life span are more tolerant to infection by *Cucumber mosaic virus* (CMV) [15,17,18].

On the abiotic side, limited availability of soil water is also a major constraints to plant growth and productivity, and can interact with plant response to virus infection [12,19,20]. Depending on the specific drought scenario and the time of its occurrence during their life cycle, plants combine different strategies involving short-term and long-term responses driven by intricate regulatory networks [21]. Soil water deficit (WD) often leads to a decrease in plant growth rate and/or to changes in plant development, including the reproductive period [22,23]. Reduced growth rate and subsequent total leaf area both account for decrease in productivity but they also advantageously reduce potential loss of water through transpiration and are thus part of a water saving strategy to increase water use efficiency. Reduced growth and development rate in response to WD can lead to delayed development of – a smaller number of – reproductive organs. However, in some instances such as a severe or sudden WD or combinations of WD with other stresses, hastened development of reproductive organs can be observed and interpreted as an escape strategy [21].

As such, the effects of virus infection on the vegetative and reproductive performance of plants are expected to vary with changes in soil water availability. Indeed, we recently showed in nine *A. thaliana* genotypes that the effect of a combination of CaMV infection and WD was more detrimental to rosette vegetative growth compared to viral infection and WD alone, and that spread of CaMV infection into the plants was slower under WD [12]. *A. thaliana* is an annual species which occurs in a large range of climates [24]. Like most annual plants, this rosette-shaped species reproduces quickly and preferentially invests resources in the production and dispersal of propagules, is commonly found in disturbed habitats and is thus considered as a ruderal species [4]. However, *A. thaliana* exhibits significant intraspecific phenotypic variation among genotypes [25–28] that translates into significant intraspecific variation in ecological strategies [29], especially along the ruderality (R) axis of Grime's CSR framework [5,6,30]. In this framework, ruderality is associated with acquisitive resource use (characterized by short-lived, thin leaves with high nutrient concentration and high net photosynthetic rate), whereas stress tolerance is associated with conservative resource use (characterized by long-lived, tough leaves with low nutrient concentration and low net photosynthetic rate). Two leaf traits are commonly used as indicators of resource-use variation: the ratio of leaf dry mass to leaf area

(LMA), the inverse of specific leaf area (SLA), and leaf dry matter content (LDMC), i.e. the ratio of leaf dry mass to leaf water-saturated fresh mass. These two traits are easy-measurable and are related to key leaf and whole-plant functions, such as net photosynthetic rate, leaf lifespan, reproductive development, and water loss through transpiration which are critical for plant responses to stresses [3,6,30–34].

In the present study, we investigated the effects of a WD on the vegetative and reproductive performance of 44 wild genotypes of the model plant species *A. thaliana* (*Brassicaceae)* infected by the *Cauliflower mosaic virus* (CaMV; *Caulimoviridae*), a non-circulative virus transmitted by aphids. We quantified developmental, growth and morpho-physiological traits measured at the whole-plant and leaf levels, as well as traits related to reproductive success under strictly controlled environmental conditions in the high throughput phenotyping platform PHENOPSIS [35]. Leaf area (LA), LMA and LDMC were used to quantify the C:S:R score of Grime's framework of functional strategies following the procedure provided by Pierce et al. (2017). We then tested to what extend plant tolerance to viral infection and WD are related to trait values and inherent plant functional strategies. Specifically, we tested the hypothesis that ruderality is positively related to plant tolerance to virus infection whatever the condition of water availability.

Results

Genetic variability in plant growth response to CaMV depends the watering level

To quantify the genetic diversity of tolerance of *A. thaliana* to both CaMV infection and soil water deficit, we selected 44 natural genotypes originating from the Iberian Peninsula (Experiment 1, n = 39; Experiment 2, n = 20; 15 genotypes in common; S1 Table). CaMV (isolate Cabb B-JI) successfully infected plants of all *A. thaliana* genotypes selected. Production of vegetative aboveground dry mass (ADM) of each genotype was measured on individual plants 30 days after CaMV- or mock-inoculation, under well-watered (WW) and water deficit (WD) conditions at 8-h day length (Experiment 1). We chose this photoperiod to favor a longer vegetative phase that allows to determine traits relative to growth. A highly significant variation of plant biomass was found among the 39 genotypes assessed in this experiment (Fig 1). Under WW, mean ADM ranged from 267 ± 36 mg (Lch-0) to 697 ± 81 mg (Fel-2) (Fig 1). This variation reflected the strong differences observed in inherent growth rate among genotypes (S1 Fig). Moreover, these genotypes exhibited highly significant variation in

responses to CaMV infection, WD and combination of these two stresses was found among the genotypes (Fig 1; all interaction effect terms were significant; S2 Table).

A clustering based on conjoint Euclidean distance of the responses of ADM production to the three treatments revealed five major groups of genotypes showing similar responses in terms of vegetative growth (Fig 1). CaMV infection significantly reduced ADM (from 25 to 65%) in most of genotypes whatever the watering treatment (Fig 1). However, in six genotypes (Lch-0, Lam-0, Sfb-6, Orb-10, Se-0 and Sf-2; mainly on brown and red branch of the dendrogram in Fig 1), CaMV infection did not affect the production of dry mass even if these plants showed clear viral symptoms (data not shown). These CaMV-tolerant genotypes grouped in the same cluster whereas CaMV-susceptible genotypes clustered in different groups (Fig 1).

WD also significantly reduced ADM production (25-60%) in almost all genotypes (diamonds in Fig 1, right panel). Only few genotypes were not strongly affected by WD (ADM production reduced by 5-25%; e.g. Bos-0, Ndc-0, Sfb-6, Mat-0, Se-0 or Moe-0; Fig 1). Both types of genotypes clustered in different groups (violet and brown branches of the dendrogram in Fig 1). In addition, some WD-tolerant genotypes (e.g. Sfb-6, Mat-0, Se-0, Moe-0) clustered in the same group that was also characterized by lower aggressiveness of CaMV (brown branch of the dendrogram in Fig 1). Other CaMV-tolerant genotypes, Lam-0 and Lch-0 or Lac-0, Ang-0, Ovi-1 and Co, were not particularly tolerant to WD and thus grouped in different clusters (red and violet dendrogram branches in Fig 1). The pattern of combinations of tolerance/susceptibility to both CaMV and WD translated into a significantly positive correlation between changes in ADM in response to each stress (Pearson's $r = 0.39$; $P = 0.015$; S2A Fig).

Overall, combination of WD and viral infection tended to be more deleterious than each of the two stresses taken separately. ADM significantly decreased in all genotypes in response to the combination of WD and viral infection. Noteworthy, the level of plant response in terms of ADM varied considerably between genotypes (30 % reduction for Mat-0 to 70 % reduction for Ini-0; squares in Fig 1 right panel). Several patterns of responses were observed depending of the genotype. Some genotypes such as Lac-0, Ang-0, Ovi-1, Co, Cdm-0 and Bla-1 (violet branch of the dendrogram in Fig 1) were mildly susceptible to CaMV infection (10-20 % reduction of ADM) while highly susceptible to WD (40-50 %; Fig 1). In that case, effect of combined stresses was similar to that of WD alone (40-50 %; Fig 1). Tol-7 and Cho-0 (blue

branch of the dendrogram in Fig 1) had a similar susceptibility to WD or CaMV but combination of both stresses raised their level of susceptibility. Some genotypes were very susceptible to both CaMV or WD but the effect of their combination was close to one or both of the individual stresses. Some genotypes were particularly tolerant to CaMV infection, not very susceptible to WD (10-25 %), but susceptible to stress combination (brown branch of the dendrogram in Fig 1). Finally, Lch-0 or Lam-0 genotypes were also tolerant to CaMV, but more susceptible to WD and even more susceptible to the double stress (red branch of the dendrogram in Fig 1).

These combinations of tolerance levels to both stresses led to significant positive correlations between CaMV infection or WD alone and combined stress conditions (Pearson's $r = 0.54$; $P < 0.001$ and $r = 0.41$; $P = 0.003$; Fig 2 and S2B Fig, respectively). In other words, in terms of dry mass accumulation, tolerant (or susceptible) genotypes to CaMV infection were also tolerant (or susceptible) to the double stress CaMV x WD (Fig 2A). This observation is exemplified in the genotypes Se-0, Sfb-6, Orb-10 and especially Mat-0 (brown branch in the dendrogram in Fig 1) which were particularly tolerant to CaMV infection and remain CaMV tolerant under WD while the genotypes from the green branch of the dendrogram in Fig 1 such as Ini-0, Gua-1 or Pva-1 susceptible to CaMV infection were also highly susceptible to the stress combination (Fig 2A). However, dispersion of the genotypes within this correlation indicated that all the genotypes did not respond in the same way. This was especially true for genotypes from blue and violet clusters which had similar tolerance to CaMV under WW but contrasted responses to the virus under WD (Fig 2A) that was apparently not explained by the similarity of responses to WD (S2 Fig). Lch-0 and Lam-0 were highly tolerant to CaMV infection (even though plants showed viral symptoms) under WW but were highly susceptible to the virus when a WD was applied in addition to CaMV infection (65% reduction of ADM). Several other genotypes showed increased susceptibility to CaMV infection upon WD that was not explained by the response to WD alone, i.e. ADM under WD was more affected in CaMV-infected than in mock-inoculated plants.

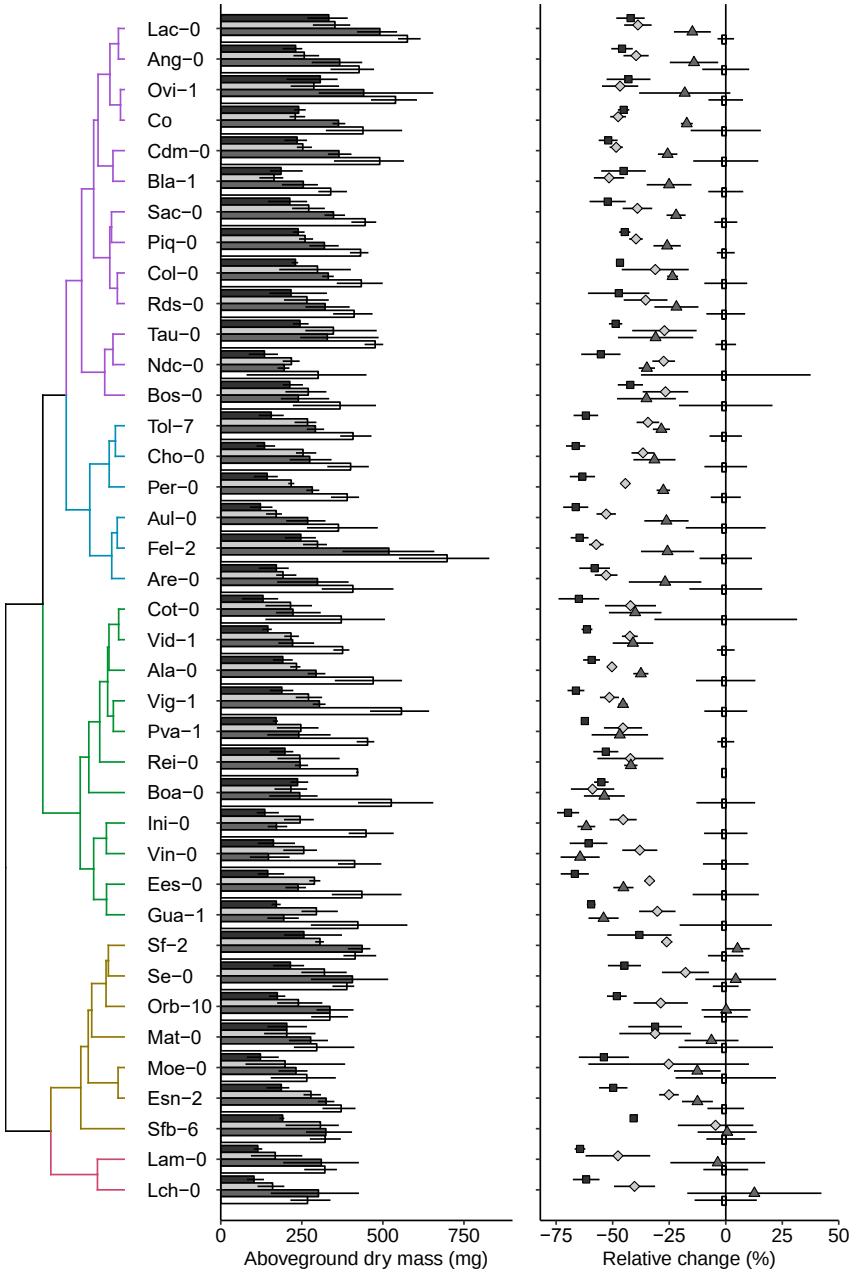


Fig 1. Effects of CaMV infection and watering on growth of 39 genotypes of A. thaliana. (Left) Clustering based on joint Euclidean distance of the changes of aboveground dry mass (ADM; %) production in response to infection with CaMV, soil water deficit (WD) and combination of both stresses, relatively to mock-inoculation under well-watered (WW) conditions. Color of the branches in the dendrogram highlights five clusters of genotypes with similar responses. (Middle) Bars are mean ± 95% CI of ADM (mg) at 30 dpi (n = 3) of plants grown in mock-inoculated:WW (white bars), CaMV-infected:WW (dark grey bars), mock-inoculated:WD (light grey bars) and CaMV-infected:WD (black bars) conditions. (Right) Relative change (± se) of ADM (%) in mock-inoculated:WW (white circle), CaMV-

infected:WW (dark grey triangle), mock-inoculated:WD (light grey diamond) and CaMV-infected:WD (black square) conditions. Data are from Experiment 1 (8-h day length).

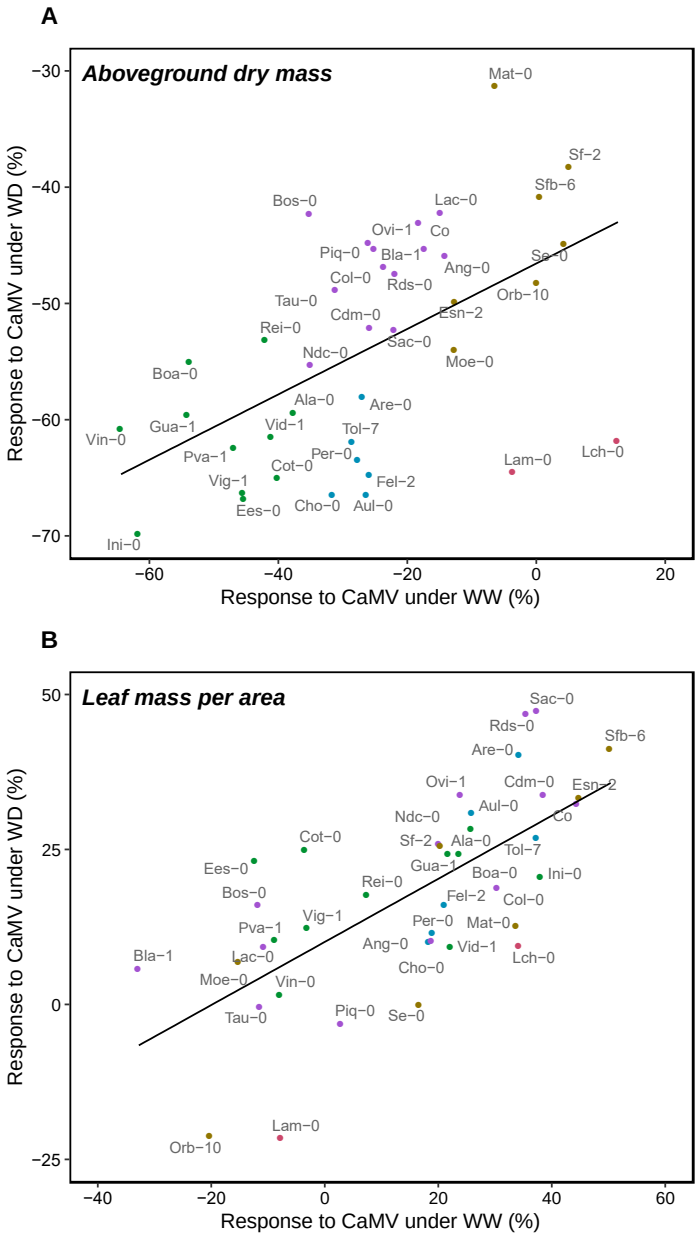


Fig. 2. Growth and leaf morphological responses of A. thaliana to CaMV under well-watered and water deficit conditions. (A) Relative change of aboveground dry mass production (ADM; %). (B) Relative change of leaf mass per area (LMA; %). Each point represents the mean relative change of each genotype. Point colors refers to the different clusters as determined in Fig 1. Lines represent significant linear regressions and statistical analyses were done using a Pearson's chi-squared test ($P < 0.001$). Data are from Experiment 1 (n = 39 genotypes, 8-h day length). WW: well-watered conditions; WD: water deficit.

Co-variations of leaf functional traits upon combination of virus infection and water deficit

To determine the genetic variability of leaf morpho-physiological responses to applied stresses, we quantified leaf mass per area (LMA) and leaf dry matter content (LDMC), two easily measurable leaf functional traits. Both traits were significantly correlated whatever the photoperiod used during cultivation, and exhibited significant variation among genotypes both in means and in relative responses to isolated stresses (CaMV infection, WD) or in stress combination (S3 and S4 Fig; significant interaction effect terms; S3 and S4 Table). When significant, both leaf traits generally increased in response to the different stresses (S3 and S4 Fig), i.e. leaves were denser and/or thicker, and/or had lower water content in response to CaMV infection, WD or both.

A significant and positive correlation was detected between the responses of LMA and LDMC to CaMV infection in each watering treatment ($r = 0.87$, $P < 0.001$ for WW and $r = 0.83$, $P < 0.001$ for WD; Fig 3). However, the slopes of the regressions were significantly different ($P < 0.001$; Fig 3) because of larger changes of LDMC compared to LMA. Indeed, we found that the relative responses of LMA to CaMV under WW and WD were significantly correlated ($r = 0.68$, $P < 0.001$; Fig 2B). In other words, WD did not perturbate too much the ranking of changes in LMA due to CaMV infection among genotypes.

Genotype tolerance to viral infection increases with ruderality

To determine the relationships between the genetic variability of stress tolerance and plant functional strategies, we tested the relationships between changes in ADM due to stresses and the ruderality index (R) obtained from C:S:R scores calculated from leaf traits of healthy plants under well-watered conditions. We first compared the correlations of growth rate and leaf traits of the genotypes between the two experiments performed at 8 or 12-h day length to test the generality of the relationships (S5 Fig). Correlations between LMA and LDMC were highly significant and similar at both 8 and 12-h day length ($r = 0.87$ and $r = 0.88$, both $P < 0.001$ respectively; S5A and B Fig), with no or only marginally significant interaction effect of CaMV infection and watering treatment (S5 Table). The maximum rate of leaf expansion of the rosettes measured from daily pictures was different among genotypes and between experiments (S5C Fig; n = 15). However, a highly significant positive correlation was found between the two experiments ($r = 0.71$; $P = 0.003$; S5C Fig). The ranking across genotypes between experiments at 8 and 12-h day length was significantly conserved for LMA and LMDC when four genotypes

susceptible to photoperiod (Orb-10, Vig-1, Lam-0, Moe-0) were excluded from the analyses (Spearman's $r = 0.44$, $P = 0.003$; $r = 0.41$, $P = 0.007$, respectively; n = 43).

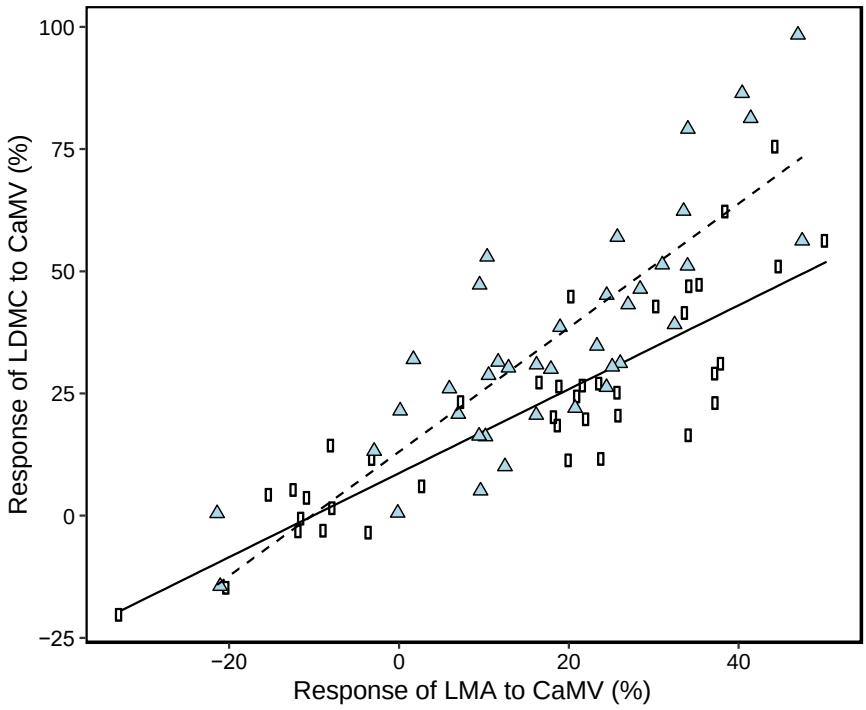


Fig. 3. Relationship between relative change of leaf morphological traits of CaMV-infected A. thaliana genotypes under well-watered and water deficit conditions. Each point represents a genotype under well-watered (WW; dark blue circle) or water deficit (WD; light blue triangle) conditions. Lines represent significant linear regressions for WW (solid line) and WD (dashed line) conditions and statistical analyses were done using a Pearson's chi-squared test ($P < 0.001$). Data are from Experiment 1 (n = 39 genotypes, 8-h day length).

The pattern of variation of Grime's CSR functional strategies across genotypes of *A. thaliana* assayed here was similar to that found in a larger set of natural genotypes of the same species (Vasseur et al. 2018; gray circles; Fig 4A). As expected for an annual ruderal species, all genotypes had high R scores (mean ± SE = 85.1 ± 0.43%) ranging from 80.2 to 90.8% (legend circle in Fig 4A). Under WW, position of a genotype along the R-axis was significantly correlated with plant tolerance to CaMV infection as determined by change in ADM ($r = 0.53$, $P < 0.001$; Fig 4B). Under WD, a positive but weaker relationship was also found ($r = 0.31$, $P = 0.052$; Fig 4B). Finally, R-score was marginally positively correlated with plant tolerance to WD ($r = 0.31$, $P = 0.053$; Fig 4C). Thus, inherent ruderality of a genotype as determined in its

vegetative phase, was positively related to its capacity to tolerate virus infection and to a lesser extent WD. Accordingly, significant negative correlations were found between LDMC determined under control conditions (Mock:WW; 8-h day length) at whole-plant level (Pearson's r = –0.63, $P < 0.001$; Fig 4D) or leaf level (r = –0.43, $P = 0.007$; Fig S6A) and ADM change due to CaMV infection. The correlation between LDMC and CaMV virulence under WD was significantly negative for whole-plant LDMC (r = –0.41, $P < 0.008$; Fig 4D) but not for leaf-level LDMC (r = –0.20; $P = 0.23$; S6A Fig). Similar negative correlations were found with LMA (Mock:WW; 8-h day length and CaMV virulence; S6B Fig). Therefore, genotypes with inherently lower leaf tissue density and/or thinner leaf lamina were more tolerant to CaMV infection.

Since plant reproductive phenology is a factor of tolerance to both virus infection and WD, and since it is an important component of plant functional strategies we investigated the relationships between leaf traits, R-score (from 29,8 to 80 %; square legend in Fig 4A) and the timing of reproduction. For this purpose, we used data from the 12-h day length experiment since this photoperiod favors reproductive development in *A. thaliana*. Under control conditions, the number of days to bolting and to flowering varied from 32 to 60 and from 39 to 67 respectively, among the 20 genotypes assessed (S7 Fig). We found a significantly positive and strong correlation between days to bolting (or days to flowering) and LDMC (Mock:WW; $r = 0.91$, $P < 0.001$; Fig 5A and $r = 0.89$, $P < 0.001$; Fig 5D, respectively). Similar positive correlations were found with days to bolting (or days to flowering) and LMA (Mock:WW; $r = 0.89$, $P < 0.001$; Fig 5B and $r = 0.84$, $P < 0.001$; Fig 5E, respectively).

Genotypes with early bolting or flowering have lower leaf tissue density and/or thinner leaves and may therefore be more tolerant to CaMV infection. However, since we did not determine ADM in the 12-h day length experiment since we focused on reproductive success (see below), we were unable to test this assertion. Moreover, position of a genotype along the R-axis was significantly negatively correlated with days to bolting and days to flowering (r = –0.90, $P < 0.001$; Fig 5C and r = –0.88, $P < 0.001$; Fig 5F, respectively). Thus, inherent ruderality of a genotype as determined in its vegetative phase, was positively correlated to early reproduction.

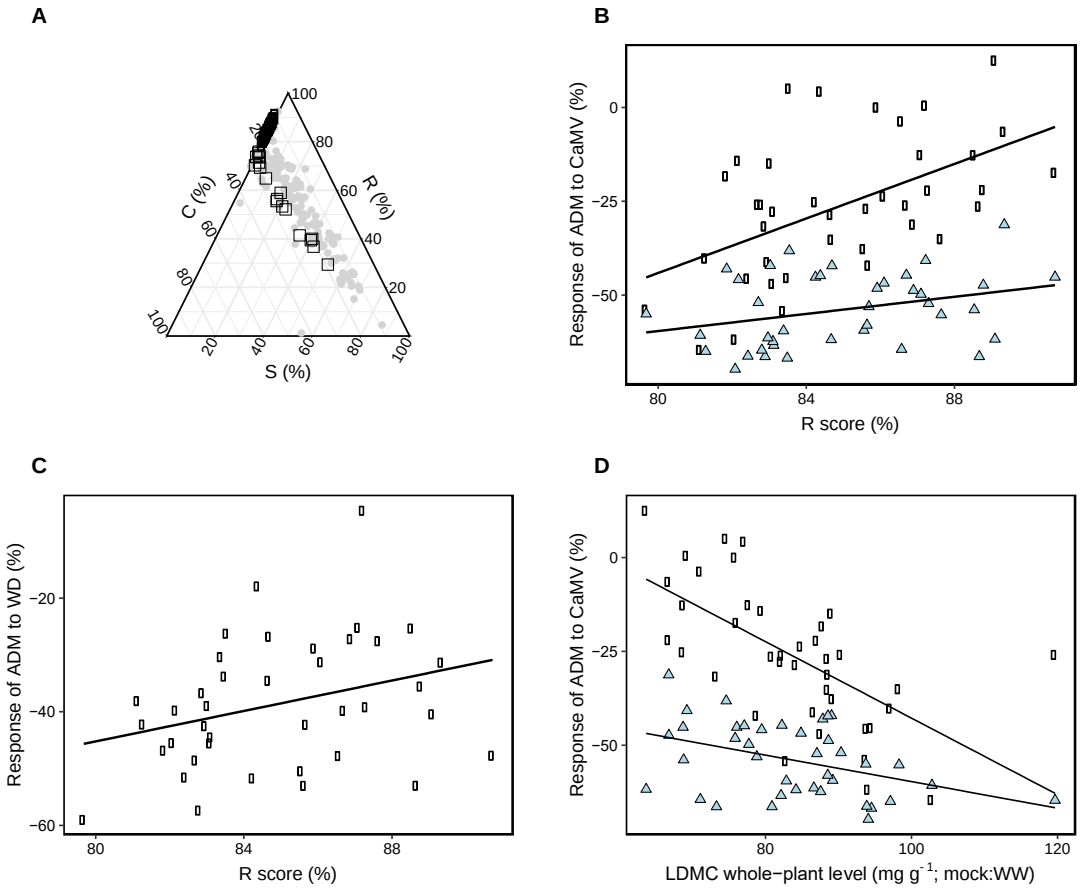


Fig. 4. Grime's CSR framework and response of 39 A. thaliana genotypes to CaMV infections under well-watered and water deficit conditions. (A) CSR representation of 44 genotypes from two independent experiments (Experiment 1, n = 39 genotypes, 8-h day length, circles; Experiment 2, n = 20 genotypes, 12-h day length, squares). Grey circles represent the data extracted from Vasseur et al., 2019. (B) Relationship between relative change of aboveground dry mass (ADM, %) of CaMV-infected plants under WW (dark blue circles) and WD (light blue triangles) and ruderality (R) score (%). (C) Relationship between relative change of ADM (%) of plants grown under WD and R score (%). (D) Relationship between relative change of ADM (%) of CaMV-infected plants under WW (dark blue circles) and WD (light blue triangles) and leaf dry matter content (LDMC; mg g-1) measured under control (mock:WW) conditions. Each point represents a genotype under a specific condition. Lines represent linear regressions and statistical analyses were done using a Pearson's chi-squared test: (B) r = 0.53, P < 0.001 for WW and r = 0.31, P = 0.052 for WD; (C) r = 0.31, P = 0.053; (D) r = –0.63, P < 0.001 for WW and r = –0.41, P < 0.008 for WD.

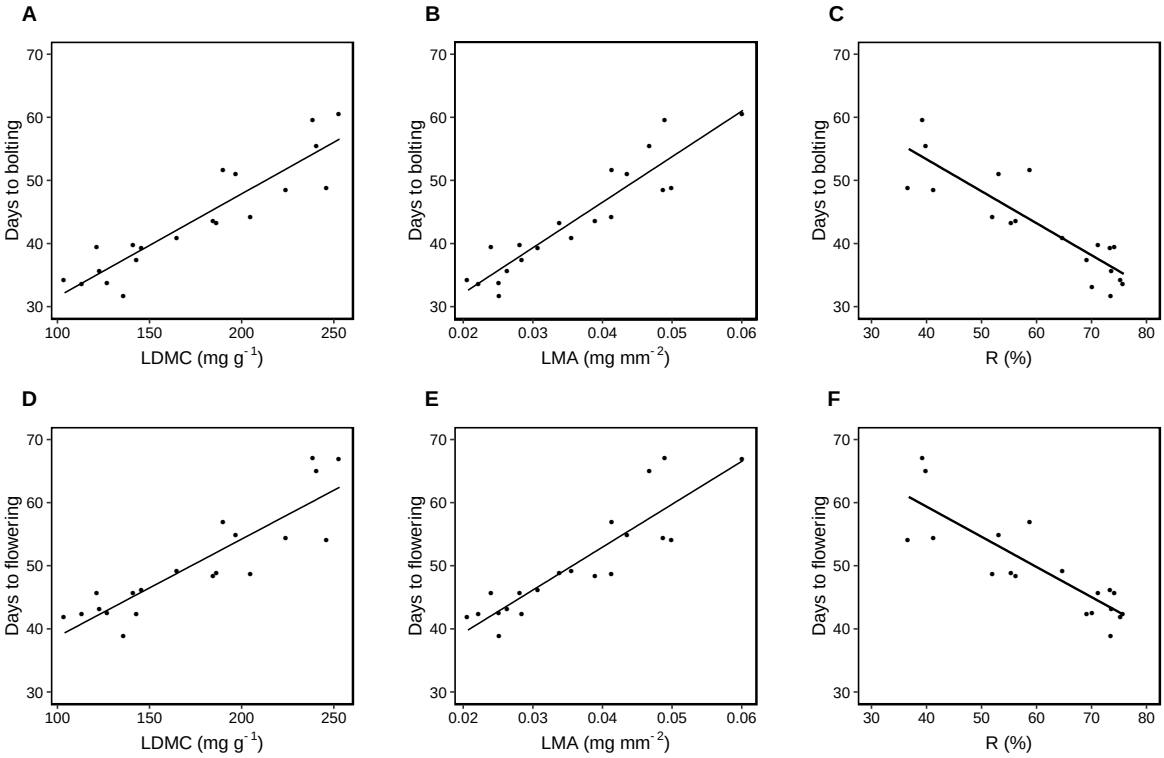


Fig. 5. Relationships between leaf morphological traits, ruderality and phenology of 20 genotypes of A. thaliana. Relationships of days to bolting vs. (A) leaf dry matter content (LDMC; mg g-1), (B) leaf mass per area (LMA; mg.mm-2), and (C) ruderal score (R), and days to flowering vs. (D) LDMC, (E) LMA, and (F) R. Each point represents a genotype grown under the control condition (well-watered x mock-inoculation). Line are significant linear regressions and statistical analyses were done using a Pearson's chi-squared test ($P < 0.001$). Data are from Experiment 2 (20 genotypes; n = 6 replicates per genotype, 12-h day length).

WD reduces and CaMV infection annihilates the reproductive success of A. thaliana

Individual reproductive success was estimated by determining the length of the main flowering stem and the number of mature siliques in 20 genotypes (experiment 2, 12-h day length). Size of the main flowering stem as well as number of mature siliques were strongly reduced upon WD (Fig 6). Reproductive traits were even more impacted when plants undergo CaMV infection (Fig 6). Under WD, the size of the stem was reduced on average by 50% in all genotypes corresponding to a strong reduction (50 to 80%) of the number of siliques (Fig 6). When CaMV infected, even though some genotypes produced very small flowering stems (e.g. Orb-10, Ovi-0, Col-0, Ala-0) no silique and therefore no seeds were produced (Fig 6).

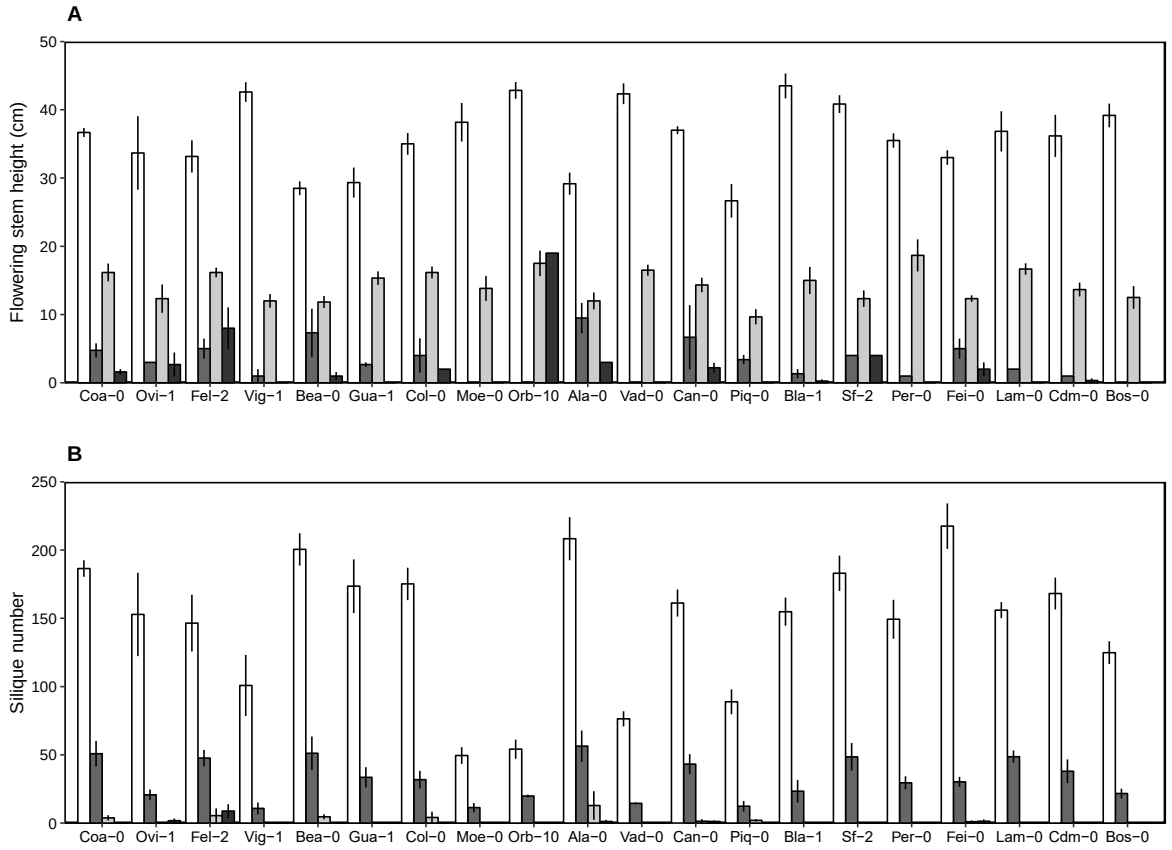


Fig. 6. Effects of CaMV infection and watering treatment on reproductive traits of 20 A. thaliana genotypes. (A) Flowering stem height (cm). (B) Silique number. Bars and error bars are means ± bootstrapped 95% confidence intervals of plant grown under mock-inoculated:WW (white bars), mock-inoculated:WD (dark grey bars), CaMV-infected:WW (light grey bars) and CaMV-infected:WD (black bars) conditions. Genotypes are ordered according to their projected final surface of the rosette in condition of viral infection. Data are from Experiment 2 (20 genotypes; n = 6 replicates per genotype, 12-h day length).

Dynamics of viral symptoms can be modified by soil water deficit

To determine the effects of the watering regime on CaMV symptoms development we determined the timing of symptoms appearance, the rate of systemic spread, and the maximum proportion of infected plants in 20 genotypes. The proportion of CaMV-inoculated plants showing characteristic virus symptoms varied from 50% to 100% across genotypes whatever the soil watering treatment. In WW condition, the mean time of systemic symptoms appearance on the first non-inoculated leaf was estimated at 11.7 dpi (Fig 7A). However, lag time of systemic symptoms (± 95 % CI) varied significantly between genotypes from 9.7 ± 0.3 dpi in

Cdm-0 to 16.1 ± 1.0 dpi in Bea-0. Lag time of systemic symptoms in response to WD significantly decreased (i.e. faster appearance of firsts symptoms) in seven genotypes whereas it significantly increased in five others (Fig 7A). There was no significant effect of WD on this parameter on the eight remaining genotypes (Fig 7A). The rate of systemic spread significantly decreased under WD compared to the WW condition in six genotypes while it increased in six other genotypes (Fig 7B). In the eight last remaining genotypes no effect of the WD on rate of systemic spread was observed (Fig 7B).

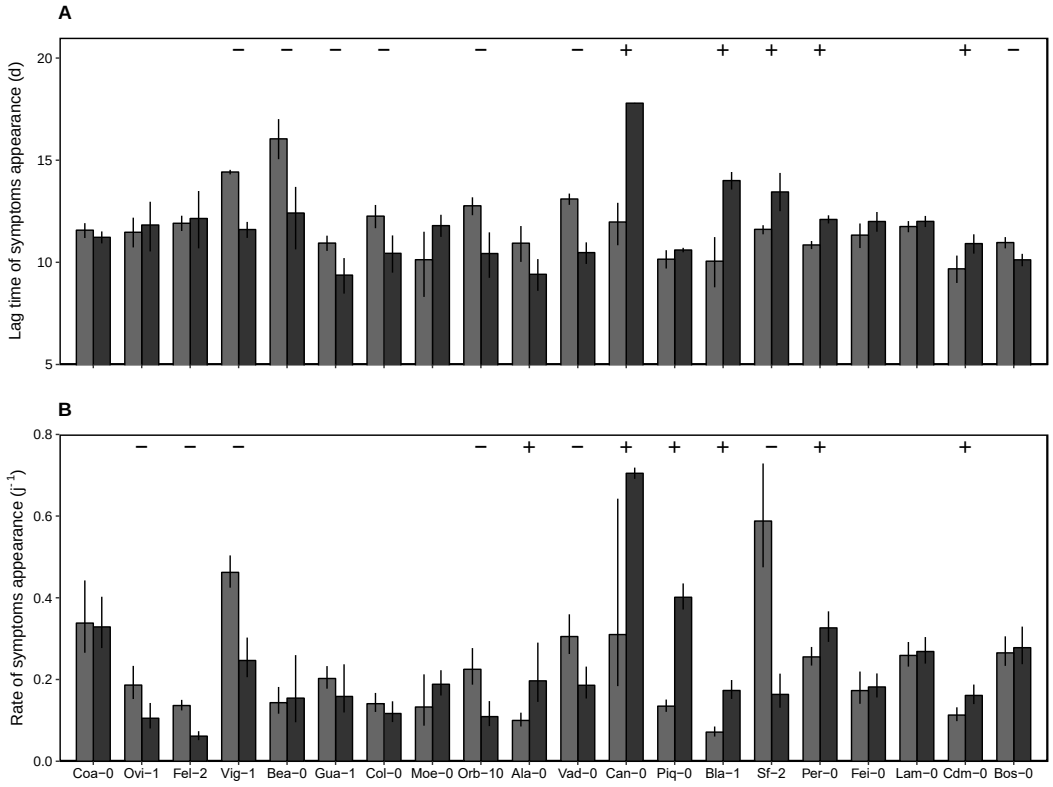


Fig. 7. Dynamics of viral symptoms development in 20 genotypes of A. thaliana infected with CaMV under well-watered and water deficit conditions. (A) Lag time of symptoms appearance. (B) Rate of symptoms appearance. Bars and error bars are means ± 95% confidence intervals extracted from sigmoidal curve fitting of symptom dynamics under well-watered (grey bars) and water deficit (black bars) conditions. Marks above the bars indicate 5%-level significant decrease (-) or increase (+) in response to the water deficit. Genotypes are ordered according to increasing projected final surface of the rosette. Data are from Experiment 2 (n = 20 genotypes, 6 replicates per genotype and condition, 12-h day length).

Survival of CaMV infected plants is improved during water deficit

Survival of CaMV-infected plants (n = 24) was estimated for each genotype by the ratio of CaMV-infected dead plants to the total number of infected plants (%) for each watering condition. At a given time point (30 days after germination), we observed for almost all genotypes that survival of CaMV infected plants was higher when plants were cultivated under WD than when they were cultivated under WW conditions. For instance, survival rate of Ini-0 was 10% under WW but increased to 55% under WD, and increased from 30% to 95% for Cdm-0 (Fig 8). All plants of three genotypes (Lch-0, Orb-10 and Tau-0) survived regardless of the watering condition.

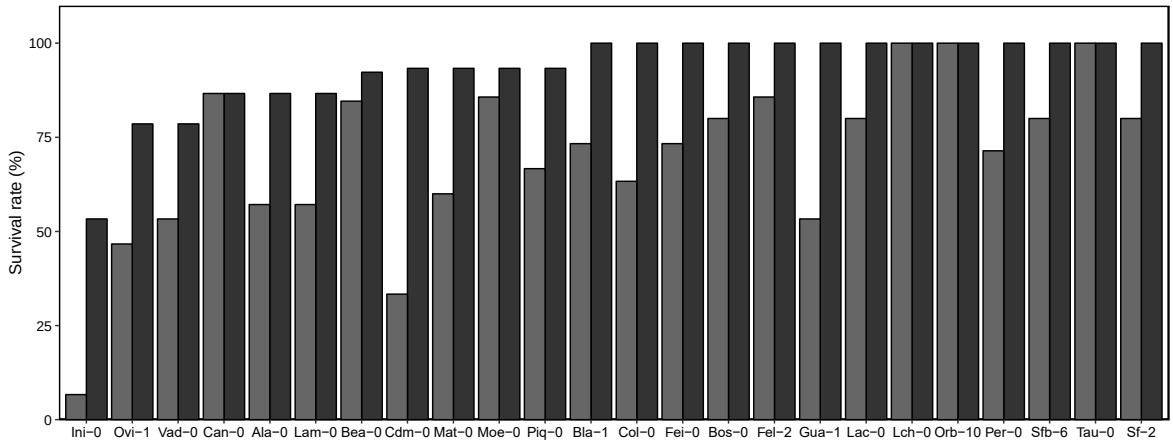


Fig. 8. Survival rate of 20 genotypes of A. thaliana infected with CaMV under well-watered and water deficit conditions. Percentage of plant survival in response to CaMV infection under well-watered (WW, grey bars) and water deficit (WD, black bars) conditions as determined in Experiment 2 (n = 20 genotypes, 20 replicates per genotypes, 12-h length) at 30 dpi. Genotypes are ordered according to increasing % of survival of CaMV-infected plants under WD.

Discussion

We evaluated the performance of 44 wild plant genotypes of *A. thaliana* originating from the Iberian Peninsula to simultaneous exposure to WD and viral infection by the CaMV (B-JI isolate). To this purpose, various phenological, growth and morpho-physiological traits were analyzed to determine plant performance in the vegetative as well as in the reproductive phase. We tested the hypothesis that plant tolerance to a viral infection or combined stresses (CaMV x WD) is related to inherent (i.e. determined under control, non-stressing conditions) trait values of the genotypes and their covariations, i.e. plant functional strategies. More precisely,

following the theoretical predictions of Grime's triangle of CSR strategies [4], we tested the hypothesis that the ruderal character is positively related to plant tolerance to virus infection whatever the condition of water availability. Following Grime's definition, ruderals are plant species from resource-rich environments associated with repeated disturbance, which invest resources in rapid reproduction and propagule dispersal. Although CSR strategies have been seminally defined at the interspecific level, recent studies demonstrated that intraspecific variation is under genetic determinism and ecologically sounded [5,6,30].

Here we showed that CaMV infection modifies morpho-physio-phenological traits of all plant genotypes, affects plant vegetative performance and annihilates plant reproductive success. In general, WD decreased plant performance and despite difference in behavior among genotypes, we found a conserved ranking of genotype tolerance to CaMV when combined to WD. We followed the procedure of Pierce et al. (2016) to determine the position of each genotype in the CSR triangle from three easy measurable traits, namely leaf area, leaf dry matter content, and leaf dry mass per area. We first showed that genotype position in the CSR triangle was in accordance with recent findings [6,30]. Second, we found that genotype tolerance to viral infection was positively correlated with the position along the ruderality, i.e. R, axis under well-watered as well as, although to a lesser extent, upon WD, as applied in this study. Also, in accordance with the ruderal character of the genotype, and previous findings [12,36], we showed that genotype tolerance is likely positively correlated with earliness of flowering.

Genotypes cluster in a limited number of responses to CaMV, WD and their combination

In accordance with our previous findings in nine *A. thaliana* genotypes infected by CaMV [12], we observed a significant variation of tolerance to CaMV and the WD among the larger number of genotypes (n = 44) assayed here. In the present case, the combination of viral infection and WD was even more detrimental to plant growth compared to our previous study (ranged from 10 % to 40 % in Bergès et al. (2018) and from 30 % to 70 % here) and in most of the cases compared to each individual stress. A statistically significant interaction was found between CaMV and WD among genotypes in terms of aboveground dry mass (ADM). Although some combinations of stresses maybe additive [37], interactive effects between biotic and abiotic stresses are most frequently reported [18,23,38–40]. Despite these interactions, and conversely to our previous findings [12], here we found a weak but significantly positive correlation between tolerance to CaMV infection and tolerance to WD. Differences in experimental

conditions and increased number of assayed genotypes may explain this discrepancy. This result may be in accordance with previous studies that reported similar hormonal, molecular or biochemical pathways induced in plants by viral infection or a WD [41–44]. This may also indicate that the ability of a genotype to endure a stress is part of its inherent functional strategy, at least partly independently of the type or level of stress considered (see below). However, the weakness of the relationship suggests strong genotypic variability of plant responses to both stresses and/or that different mechanisms are also involved. In addition, we found a positive correlation between tolerance to CaMV determined upon WW and WD conditions. Indeed, WD did not affect too much the ranking of changes in ADM due to CaMV infection among genotypes.

Considering together the growth responses of the genotypes to CaMV infection, WD and their combination, we identified five clusters of genotypes. Some genotypes were mildly susceptible to CaMV infection while highly susceptible to WD. In that case, effect of combined stresses was similar to that of WD alone. Other genotypes, such as Tol-7 or Cho-0 had a similar susceptibility to WD or CaMV but combination of both stresses raised their level of susceptibility. A third group enclosed genotypes with high susceptibility to both CaMV or WD but the effect of their combination was close to one or both of the individual stresses. The genotypes in the fourth group were particularly tolerant to CaMV infection, not very susceptible to WD, but susceptible to stress combination. Finally, two genotypes, Lch-0 or Lam-0 genotypes were also tolerant to CaMV, but more susceptible to WD and even more susceptible to the double stress. This may illustrate the limited diversity of plant responses that could be encountered in natural conditions where combinations of stresses are common, and may open avenues to develop modeling approaches when limited knowledge on genotype-specific response is available.

Pagán et al. (2008) showed that tolerance to *Cucumber mosaic virus* (CMV) in the vegetative phase was also associated with increased seed production and a shortened reproductive period, reducing the time span between the production of reproductive structures and seed production. Shukla et al. (2018) recently showed that *A. thaliana* that were tolerant to CMV did not show similar resource reallocation patterns in response to more virulent viruses, suggesting that plant tolerance is virus-specific. Here we found that performance upon CaMV infection in the vegetative phase was not related to performance in the reproductive phase since none genotype developed a mature silique and therefore produce seeds.

Survival but not reproductive effort of infected plants is improved by WD

Several studies reported increased plant tolerance to abiotic stresses, including WD, upon infection by viruses [13,45,46]. Across the quite large number of plant genotypes assayed here (n = 44), we did not find any significant positive effect of CaMV infection on plant tolerance to WD in terms of vegetative biomass production. In the reproductive phase, our results showed that reproductive effort, i.e. seed production, was null for all the genotypes investigated for CaMV infection. This suggests that any improvement of WD tolerance in the vegetative phase would have no selective advantage for the plant. By contrast, increased survival of the infected plants and/or increased duration of their vegetative phase would benefit to the virus through increased chance of spread in the plant population. CaMV is propagated by means of insect vectors from vegetative tissues but is never propagated from seeds [47]. It would be interesting to empirically test the evolutionary hypothesis that increased tolerance to abiotic stress of infected plants may be advantageous for the virus and thus would be under natural selection.

More surprisingly, we found that the survival of plants infected by CaMV was improved by the WD. It is possible that activated pathways in response to imposition of a WD in addition to the viral infection may allow the plant to survive longer than infection alone. Indeed, a priming effect of one stress on the other could activate similar response pathways [48] such as plant hormones [40,42,49–53], reactive oxygen species or calcium oscillation [54–57]. WD may also delay or even stop the spread of the virus within the plant through its effects on the reduction of growth and development rates [36].

Ruderality may predict genotype tolerance to viral infection

A. thaliana is generally found in agricultural fields and other anthropogenic habitats but also in a wide range of naturally disturbed habitats [58] and is therefore a ruderal species. It was thus not surprising that across assayed genotypes we found a high average R-score in the Grime's triangle CSR strategies scheme, as calculated from the three leaf traits, LA, LMA and LDMC, following the procedure of Pierce et al. (2017). Also, in accordance with recent findings [5,6], we found a significant variation along the R-axis across genotypes. It has recently been shown that the genetic variation found in a set of 426 natural accessions of *Arabidopsis thaliana* was associated with the local climatic conditions, with evidence of adaptive selection of CSR strategies in response to climate [6]. Ruderal strategies, i.e. high R scores, are typically associated with a short life cycle, low leaf tissue density (low LDMC and/or high SLA), and

presumably high metabolic rate and low tissue protection [4]. Accordingly, here we found that the ruderal character of a genotype was positively related to early bolting and flowering, conversely to LDMC and LMA [6,30].

Our study is the first attempt to relate intraspecific variation in CSR functional strategies to virus tolerance. At the interspecific level, it has been shown that ruderal (R) species host intermediate levels of virus richness compared to competitive (C) and stress tolerant (S) species that host a higher and a lower number of viruses, respectively [1]. The authors suggested that this interspecific pattern could be related to the level of susceptibility to enemies of the species. They also suggested that similar patterns should be observed at the intraspecific level in relation with inherent growth strategies, as shown for fungal pathogens in radish, *Raphanus sativus* L., where fast-growing populations of radish were most susceptible to *Fusarium oxysporum* [1]. On the one hand, ruderal species may be poorly tolerant to pathogens due to low levels of defensive chemicals compared to stress tolerant (S) species [59]. On the other hand, short life-cycle may contribute to escape pathogen attacks and lower pathogen effects. In the case of *A. thaliana*, Leisner and Howell (1992) showed that early flowering genotypes had a lower proportion of symptoms due to a mismatch between the kinetics of virus movement and the rate of development of the infected plant. Here, we found that the ruderal character of a genotype, as determined from leaf traits in the vegetative phase, was positively related to its capacity to tolerate virus infection, and to a lesser extent WD. In relation with the adaptive value of functional strategies across the natural diversity of *A. thaliana* [5,6,29,30], this result affirm the importance of investigating the role of phytoviruses as selective agents in natural populations of ruderal species [60,61].

Consistency of leaf traits relationships under viral infection and/or WD

We found similar patterns of responses to combinations of CaMV infection and watering treatment for both LDMC and LMA (or SLA, its inverse), two leaf traits related to leaf tissue structure and physiology. This is not surprising since these two leaf traits were highly correlated across genotypes, as often reported across different scales [6,62,63]. However, it was noticed that contrasting phenotypic plasticity between these traits may translate into changes in their correlation structure under contrasting environments [63]. Here we observed that LDMC and LMA exhibited contrasted changes in response to WD, with LDMC increasing more than LMA, that translated into changes in the slopes of the relationship between their responses to CaMV. High plasticity in leaf growth and development in response to WD is generally observed [64]

and often translate into increase in leaf tissue density and leaf thickness, and therefore into increase in LDMC and LMA [65,66]. Changes in leaf morphology, excluding signs of senescence, in response to viral infection have not been thoroughly described. In this study, we found that CaMV infection tended to increase both LDMC and LMA, although some genotypes exhibited a different trend. These changes can impact aphid's behavior and consequently virus transmission [67,68].

Virus spread is affected by WD

It is known that the time at which viruses move out of the inoculation site into the rest of the plant varies widely depending on factors such as host and virus species, age of the host, method of inoculation and abiotic constraints [69,70]. In accordance with our previous results [12], here we showed the lag time of symptoms appearance and the rate of systemic spread of CaMV varied across genotypes and were contrastingly affected by the WD depending on the genotype. The establishment of systemic spread is dependent on the flow of metabolites of the plant via the phloem [71]. The water deficit by its influence on this phloem flow (i.e. carbon availability and sink organ growth influences) could influence this systemic movement of viral particles and modify it [72–75].

Conclusion

In conclusion, this work showed that intraspecific variation in the ruderal character of an *A. thaliana*'s genotype was positively related to its tolerance to CaMV infection, partly independently of the changes due to the watering conditions. This may have practical interest to use plant ecological strategies, as determined here from easily measurable traits, for screening larger sets of plant genotypes and virus isolates, and for modeling purposes. In addition, contrasted plasticity between traits and/or genotype-specific susceptibility/tolerance to both the virus and the watering conditions may lead to deviation from this general pattern. Evolutionary implications of increased survival to virus infection upon water deficit would require further investigations.

Materials and Methods

Plant material and growth conditions

We selected 44 natural genotypes of *A. thaliana* originated from the Iberian Peninsula (S1 Table) and included in the 1001 genomes Project (http://1001genomes.org/) [76]. These genotypes were grown in two experiments (experiment 1, n = 39; experiment 2, n = 20; 15 genotypes in common; S1 Table) under combinations of well-watered (WW), water deficit (WD), mock inoculation (Mock), and CaMV-inoculation (CaMV) treatments. Experiments were conducted using the PHENOPSIS facility [35]. This phenotyping platform allows automated irrigation, weighing and imaging of 504 potted plants under strictly controlled environmental conditions. Three to five seeds were sown at soil surface in 225 ml pots filled with a 30:70 (v/v) mixture of clay and organic compost (substrate SP 15 % KLASMANN) and randomly placed in the PHENOPSIS growth chamber. Soil water content was estimated for each pot before sowing, as previously described [35]. Soil surface was moistened with a deionized water, and pots were placed in the PHENOPSIS growth chamber in the dark for two days at 12 °C air temperature and 70 % air relative humidity. Pots were dampened with sprayed deionized water three times a day until germination. After germination phase (*ca.* seven days), plants were cultivated under 8-h day length (experiment 1; n = 3 plants per genotype and per treatment) or 12-h day length each day (experiment 2; n = 6 plants per genotype and per treatment) at 200 µmol m^{-2} s^{-1} photosynthetic photon flux density, at plant height. Air temperature was set to 20 °C, and air relative humidity was adjusted in order to maintain constant water vapor pressure deficit (VPD) at 0.6 kPa. At the appearance of the cotyledons, one plant was kept per pot and temperature was set at 21/18 °C day/night while VPD was set at 0.75 kPa. Each pot was daily weighed and watered with deionized water to reach the target soil relative water content (RWC_{soil}). RWC_{soil} was maintained at 1.4 g H_2O g^{-1} dry soil (WW) until application of the treatments. CaMV (or mock) -inoculation or (see below) was performed at the emergence of the 10^{th} rosette leaf. WD was applied one week after inoculation, approximate timing of the first symptoms appearance. Irrigation of half of the CaMV- and mock-inoculated plants was stopped to reach the WD treatment at 0.50 H_2O g^{-1} dry soil, reached after seven days of water deprivation, and then maintained to this value until the end of the experiment. Under WW, RWC_{soil} was maintained at 1.4 g H_2O g^{-1} dry soil. All environmental data, including daily soil water content, air temperature, and VPD_{air}, are available in the PHENOPSIS database [78].

569 ***Virus purification and plant inoculation***

570 The CaMV isolate Cabb B-JI [79] a stylet-borne virus, was used in this study. Virus particles
571 were purified from CaMV-infected *Brassica rapa* cv. "Just Right" (turnip) plants according to
572 Hull and Shepherd, (1976). The quality and quantity of purified virus were assessed by
573 polyacrylamide gel electrophoresis under denaturing conditions (12% SDS-PAGE) and by
574 spectrometric measurements at 230, 260 and 280 nm (NanoDrop 2000 spectrophotometer).
575 Virus concentration was estimated by spectrometry using the formula described by [80]. At the
576 10-leaf stage *A. thaliana* plants were mechanically inoculated as previously described [81].
577 Briefly, CaMV-infected turnip extract was prepared from 1 g of infected leaf material (turnip
578 leaves presenting systemic symptoms collected at 21 days post inoculation (dpi)) grinded in 1
579 ml of distilled water with carborundum. Purified CaMV particles were then added to this mix
580 at a final concentration of 0.2 mg ml^{-1} to optimize infection success. For each inoculated plant,
581 10 µl of the solution described above was deposited on each of three middle-rank leaves. Then,
582 leaves were rubbed with an abrasive pestle. Control group was mock-inoculated in a similar
583 way to mimic the wound induced by the mechanical inoculation. Mock-inoculation was
584 performed with a mix containing non-infected turnip plant extract and the buffer used for virus
585 purification (100 mM Tris-HCl, 2.5 mM $MgCl_2$, pH 7). All plants were randomly inoculated,
586 independently of genotype and watering regime.

587 ***Measurement of plant traits and symptoms development***

588 During plant development course, following stages were scored: germination, inflorescence
589 emergence, opening of first flower and shattering of first silique (stages 0.7, 5.01, 6.00 and 8.00
590 of Boyes et al. (2001), respectively).

591 Projected rosette area was estimated from automated daily pictures using a semi-automatic
592 procedure developed in the image analysis environment Image J (Research Services National
593 Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) and downloadable on the PHENOPSIS
594 web site.

595 Harvests occurred at 30 dpi (experiment 1) or at first silique appearance (experiment 2). Each
596 rosette (experiment 1) or one fully-expanded leaf per rosette (experiment 1 and 2) was cut, fresh
597 mass measured then kept in deionized water for 24h at 4 °C to determine the water-saturated
598 weight (mg). A mature and non-senescent rosette's leaf was marked (experiment 1) to perform
599 all leaf measurements. After determination of the water-saturated weight, individual leaves

were scanned for LA (leaf area) determination (mm^2) using ImageJ (Research Services National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA). Collected rosettes were oven-dried at 65 °C for at least 5 days, and their dry masses determined. From these measurements, leaf dry matter content (LDMC, the ratio of dry mass to water-saturated fresh mass, mg g^{-1}) and leaf mass per area (LMA, the ratio of blade dry mass to blade area, mg mm^{-2}) the inverse of specific leaf area (SLA, the ratio of blade area to blade dry mass, mm^2 mg^{-1}) were calculated at the rosette (experiment 1) and leaf (experiment 1 and 2) levels as described in [82].

We calculated CSR scores (i.e. percentages along the C, S and R axes) for all genotypes in PHENOPSIS using the method developed by Pierce et al. (2017). The method is based on an algorithm that combines data for three leaf traits (LA, SLA and LDMC) that were shown to reliably position the species in the CSR scheme. CSR scores were calculated for each individual plant and per experiment with the calculation table provided in the supplementary information of Pierce et al. (2017) then the average was calculated by genotype and experiment. CSR scores are represented in a triangle plot with package on R "*ggtern*" [83].

Days to bolting (appearance of flower bud) and days to flowering (opening of the first flower) were calculated by reporting the bolting and flowering dates to the germination date from the second experiment data. Mature silique measurements (size of the main stem, mature siliques number) were carried out on all plants during plant harvest (experiment 2).

Relative change of traits (LDMC, LMA or aboveground dry mass (ADM)) was calculated for each genotype as: (mean trait value$_{\text{given treatment}}$) – (mean trait value$_{\text{mock-inoculated:WW}}$)*100 / (mean trait value$_{\text{mock-inoculated:WW}}$). Virulence (aggressiveness) was estimated for each genotype as the relative change of mean aboveground dry mass of the rosette as: ($ADM_{\text{CaMV-infected:WW}}$ – $ADM_{\text{mock-inoculated:WW}}$)*100 / $ADM_{\text{mock-inoculated:WW}}$) and ($ADM_{\text{CaMV-infected:WD}}$ – $ADM_{\text{mock-inoculated:WW}}$)*100 / $ADM_{\text{mock-inoculated:WW}}$).

Virus symptoms monitoring were performed daily (from 9 dpi to 30 dpi) for all plants. Symptoms were scaled 0, 1 or 2 for no symptom, presence of symptoms on a single non-inoculated leaf, or systemic symptoms, respectively. Time of symptoms appearance, rate of virus systemic spread, and maximum proportion of infected plants were then calculated from logistic regressions fitted to these observations according to Bergès et al. (2018) [12].

Plant survival of CaMV-infected plants was estimated 30 days after germination in an additional experiment with growth conditions similar to those described in experiment 2. For

each genotype, plant survival rate (%) was calculated as the ratio (number of alive plants / numbers of dead plants.

Data analyses

All analyzes were performed in the programming environment R [84]. Join hierarchical cluster analysis was performed on relative change of aboveground dry mass (ADM) in response to CaMV infection, WD and their combination. For each genotype, relative change was calculated as the ratio of the difference between the trait value of each replicate plant and mean trait value under control conditions (mock:WW) to the mean trait value under control conditions. Robust ANOVA tests for all (genotype, virus infection and watering) main and interactive effects were performed for each trait using the corresponding function in RFIT package. Bootstrapped 95% confidence intervals (CI) of mean trait values were computed following the *mean_cl_boot* procedure of the HMISC package. Nonlinear models were fitted using the *nls* function and 95% confidence intervals for the parameters of fitted models were computed with *confint* function of the package MASS. Generalized linear models were tested using the *glm* function of the STAT package. Relationships between traits were examined with Pearson's coefficients of correlation (r) where appropriate, or with Spearman's rank coefficients of correlation (ρ), using the function cor.test.

Acknowledgements

We thank Michel Yvon, Léa Durand and Rémy Dussaut for the technical support and image analysis during the experiments.

Author Contributions Statement

SEB, MvM and DV conceptualized the study. SEB, MvM and DV performed the experiments. SEB, MvM and DV analyzed the data and wrote the original draft. All coauthors edited and reviewed the final version of the paper.

Competing Interests

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Funding

This work was supported by the European Union and the Region Languedoc-Roussillon "Chercheur d'Avenir" (FEDER FSE IEJ 2014-2020; Grant Project "APSEVIR" #2015005464).

Supporting Information

The following Supporting Information is available for this article:

S1 Table. Geographic origin and location of Iberian *A. thaliana* populations used in this study.

S2 Table. ANOVA (robust) analysis for aboveground dry mass (ADM) on 39 *A. thaliana* genotypes.

S3 Table. ANOVA (robust) analysis for leaf dry matter content (LDMC) on 39 *A. thaliana* genotypes.

S4 Table. ANOVA (robust) results for leaf mass per area (LMA) measured on 39 *A. thaliana* genotypes.

S5 Table. ANCOVA of the relationships between LMA and LDMC and inherent growth rates at 8-h or 12-h day length.

S1 Fig. Rosette expansion rate of 39 *A. thaliana* genotypes in control conditions at 8-h day length.

S2 Fig. Relationship between relative change of aboveground dry mass (ADM) of 39 CaMV-infected *A. thaliana* genotypes.

S3 Fig. Effects of CaMV infection and watering on leaf mass per area (LMA) of 39 *A. thaliana* genotypes.

S4 Fig. Effects of CaMV infection and watering on leaf dry matter content (LDMC) of 39 *A. thaliana* genotypes.

S5 Fig. Comparison of the relationships between LMA and LDMC and inherent growth rates at 8-h day length or 12-h day length.

S6 Fig. Relationship between vegetative growth and leaf morphological traits of 39 *A. thaliana* genotypes.

S7 Fig. Effects of CaMV infection and watering treatment on phenological traits of 20 *A. thaliana* genotypes.

686 ***S1 Table. Geographic origin and location of Iberian A. thaliana populations used in this***
687 ***study.***

id 1001 G	Name of genotypes	Localisation country	Latitude	Longitude	Group	Experience
9515	Ala-0	ESP	39,72	-6,89	spain	1 & 2
9519	Ang-0	ESP	41,94	2,64	spain	1
9820	Are-0	ESP	41	-4,71	spain	1
9822	Aul-0	ESP	40,52	-4,02	spain	1
9522	Bea-0	ESP	36,52	-5,27	spain	2
8264	Bla-1	ESP	41,6833	2,8	spain	1 & 2
9825	Boa-0	ESP	40,4	-3,88	spain	1
9827	Bos-0	ESP	42,78	0,69	western_europe	1 & 2
7063	Can-0	ESP	29,2144	-13,4811	relict	2
9943	Cdm-0	ESP	39,73	-5,74	spain	1 & 2
9834	Cho-0	ESP	40,51	-3,9	spain	1
7081	Co	POR	40,2077	-8,42639	spain	1
9507	Coa-0	POR	38,45	-7,5	spain	2
6909	Col-0	USA	38,3	-92,3	germany	1 & 2
9838	Cot-0	ESP	41,83	-5,38	admixed	1
9841	Ees-0	ESP	40,59	-4,15	spain	1
9844	Esn-2	ESP	42,27	0,19	spain	1
9941	Fei-0	POR	40,92	-8,54	western_europe	2
9847	Fel-2	ESP	43,31	-5,7	western_europe	1 & 2
9544	Gua-1	ESP	39,4	-5,33	spain	1 & 2
9852	Ini-0	ESP	40,46	-3,75	spain	1
9853	Lac-0	ESP	43,33	-5,91	western_europe	1
9855	Lam-0	ESP	40,57	-3,89	spain	1 & 2
9856	Lch-0	ESP	40,51	-4	spain	1
9864	Mat-0	ESP	41,76	2,69	spain	1
9868	Moe-0	ESP	41,78	2,37	spain	1 & 2
9873	Ndc-0	ESP	37,94	-5,45	spain	1
9565	Orb-10	ESP	42,97	-1,23	admixed	1 & 2
9875	Ovi-1	ESP	43,38	-5,87	western_europe	1 & 2
9879	Per-0	ESP	37,6	-1,12	relict	1 & 2
9883	Piq-0	ESP	42,1	-2,56	spain	1 & 2
9888	Pva-1	ESP	40,93	-3,31	spain	1
9573	Rds-0	ESP	41,86	2,99	spain	1
9510	Rei-0	POR	38,75	-7,59	spain	1
9578	Sac-0	ESP	42,13	-6,7	western_europe	1
6961	Se-0	ESP	38,3333	-3,53333	spain	1
7328	Sf-2	ESP	41,7833	3,03333	spain	1 & 2
9895	Sfb-6	ESP	41,78	2,57	spain	1
9899	Tau-0	ESP	42,54	0,84	spain	1
9588	Tol-7	ESP	42,11	0,6	spain	1
9591	Vad-0	ESP	42,86	-3,59	admixed	2
9512	Vid-1	POR	38,22	-7,84	spain	1
9597	Vig-1	ESP	42,31	-2,53	spain	1 & 2
9599	Vin-0	ESP	42,8	-5,77	western_europe	1

688

S2 Table. ANOVA (robust) analysis for aboveground dry mass (ADM) on 39 A. thaliana genotypes.

	DF	RD	Mean RD	F	p-value
idGen	38.000	9704.699	255.387	10.715	0.000
inoculation	1.000	6811.049	6811.049	285.766	0.000
watering	1.000	15975.322	15975.322	670.265	0.000
idGen:inoculation	38.000	3290.846	86.601	3.633	0.000
idGen:watering	38.000	2019.358	53.141	2.230	0.000
inoculation:watering	1.000	1022.441	1022.441	42.898	0.000
idGen:inoculation:watering	38.000	2174.741	57.230	2.401	0.000

S3 Table. ANOVA (robust) analysis for leaf dry matter content (LDMC) on 39 A. thaliana genotypes.

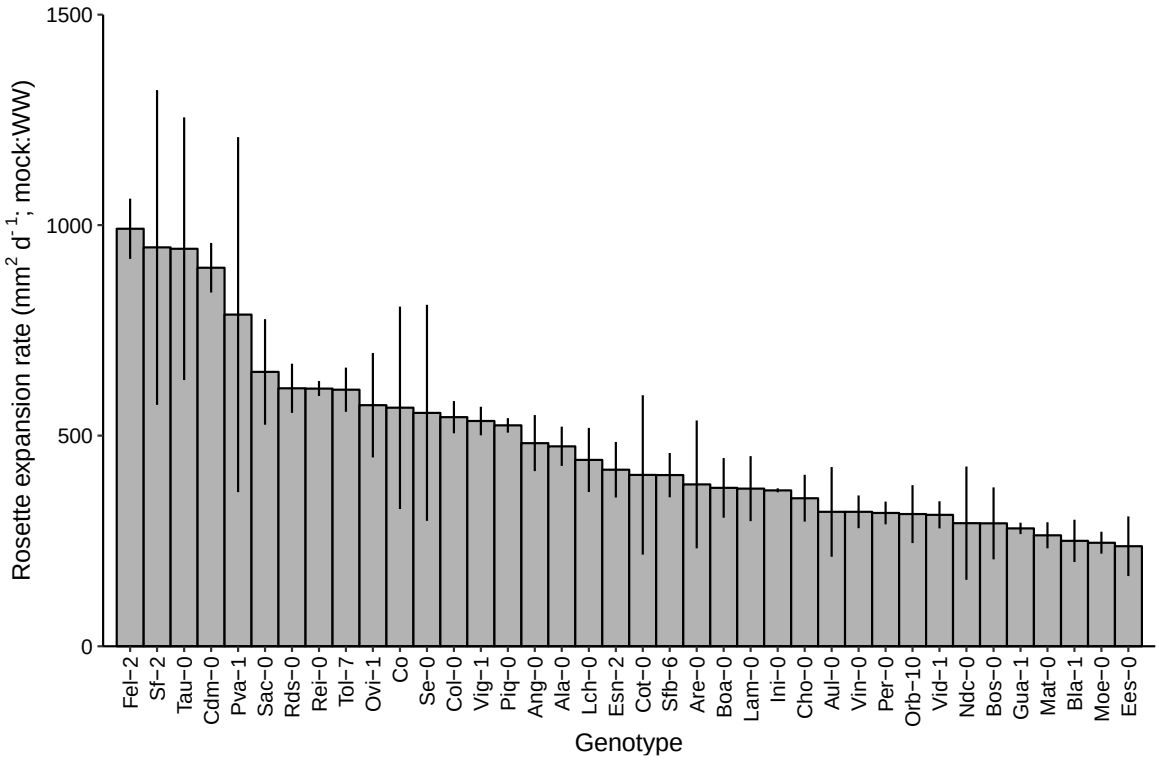
	DF	RD	Mean RD	F	p-value
idGen	38.000	1811.819	47.679	6.833	0.000
inoculation	1.000	485.603	485.603	69.592	0.000
watering	1.000	468.732	468.732	67.175	0.000
idGen:inoculation	38.000	621.031	16.343	2.342	0.000
idGen:watering	38.000	350.876	9.234	1.323	0.105
inoculation:watering	1.000	2.542	2.542	0.364	0.547
idGen:inoculation:watering	38.000	379.577	9.989	1.432	0.054

S4 Table. ANOVA (robust) results for leaf mass per area (LMA) measured on 39 A. thaliana genotypes.

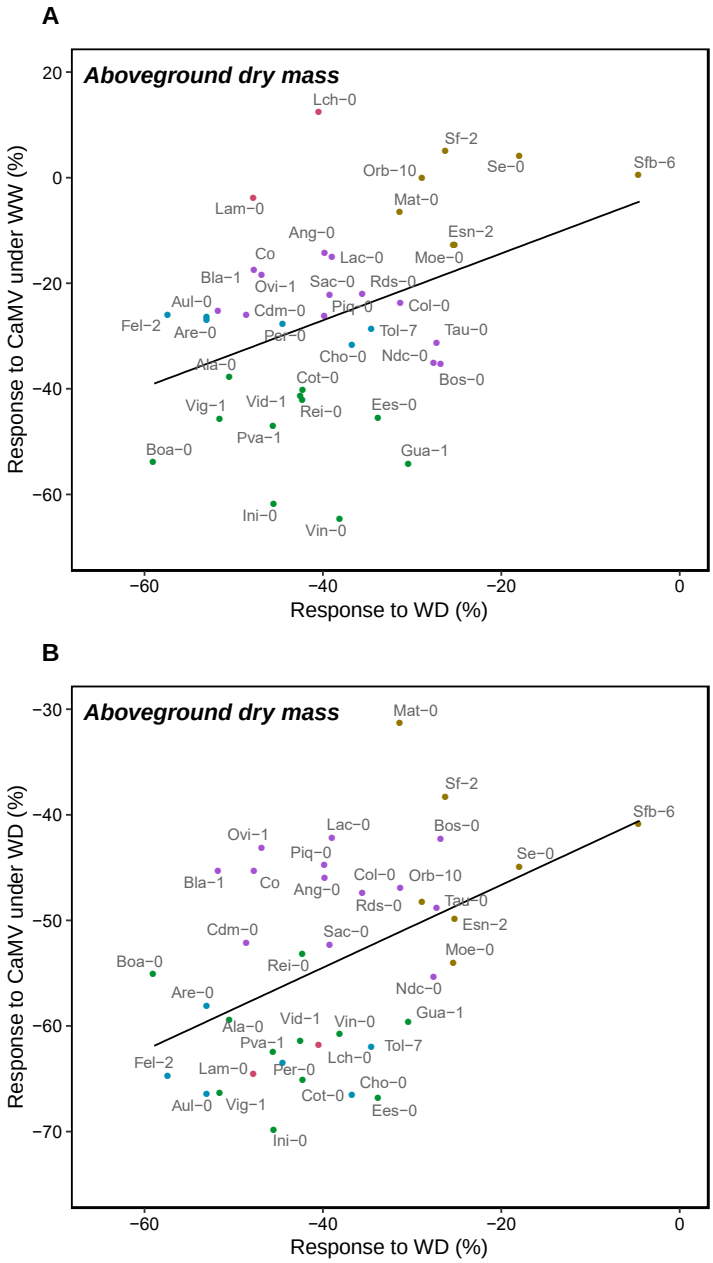
	DF	RD	Mean RD	F	p-value
idGen	38.000	1213.215	31.927	5.476	0.000
inoculation	1.000	310.698	310.698	53.292	0.000
watering	1.000	67.453	67.453	11.570	0.001
idGen:inoculation	38.000	495.522	13.040	2.237	0.000
idGen:watering	38.000	300.478	7.907	1.356	0.086
inoculation:watering	1.000	42.054	42.054	7.213	0.008
idGen:inoculation:watering	38.000	394.795	10.389	1.782	0.004

S5 Table. ANCOVA of the relationships between LMA and LDMC and inherent growth rates at 8-h or 12-h day length.

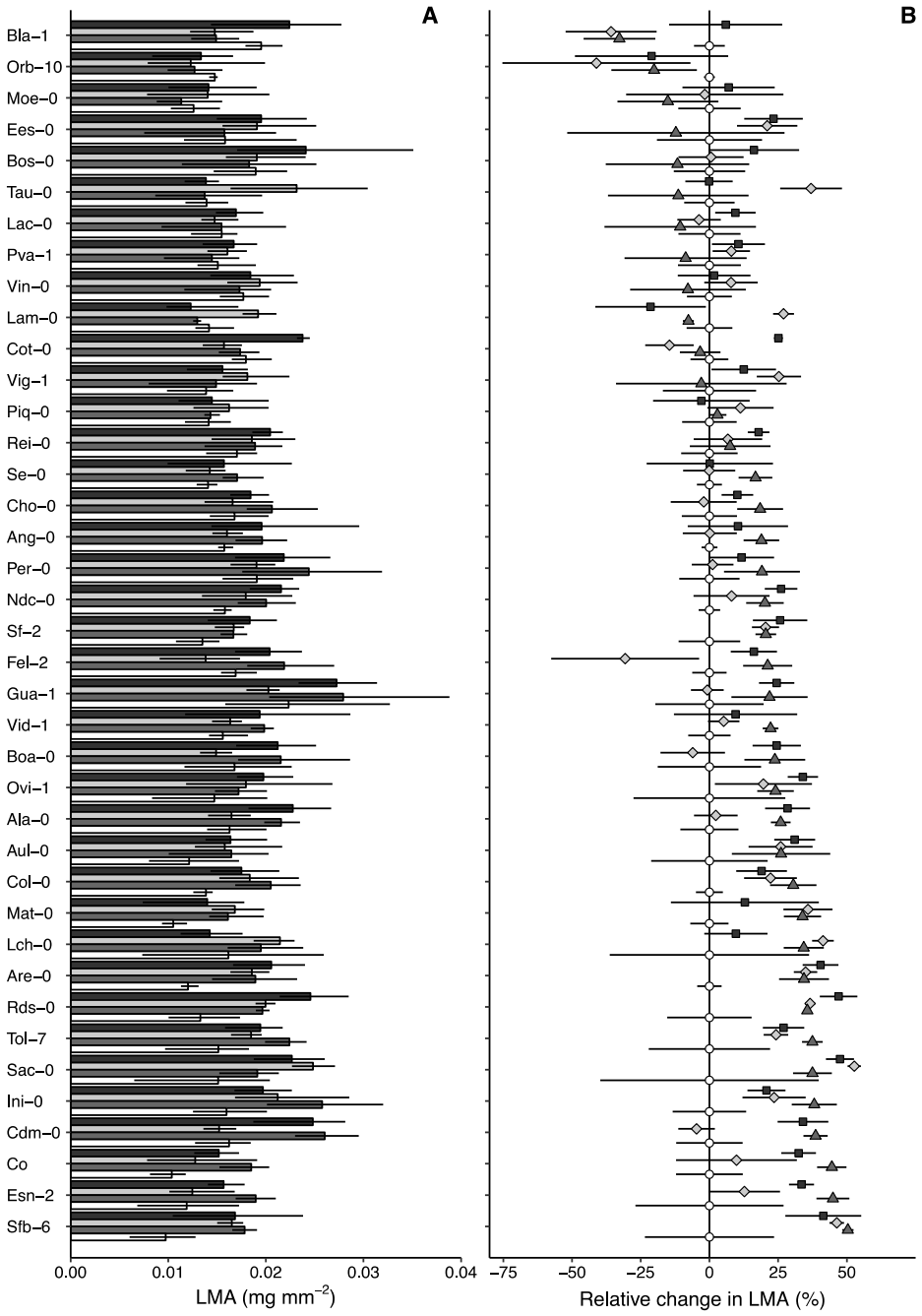
	LMA at 8-h photoperiod		**LMA at 12-h photoperiod**	
Predictors	*Estimates*	*p*	*Estimates*	*p*
Intercept	142.65	**<0.001**	62.67	**<0.001**
LDMC	-1.05	**<0.001**	-0.18	**<0.001**
Inoculation (I)	-17.61	0.092	-6.90	0.114
Watering (W)	-19.62	0.091	-5.55	0.262
LDMC:I	0.26	0.067	0.03	0.159
LDMC:W	0.31	**0.043**	0.03	0.221
I:W	0.54	0.971	-1.25	0.866
LDMC:I:W	-0.05	0.793	0.01	0.817
Observations	156		79	
R^2	0.705		0.805	



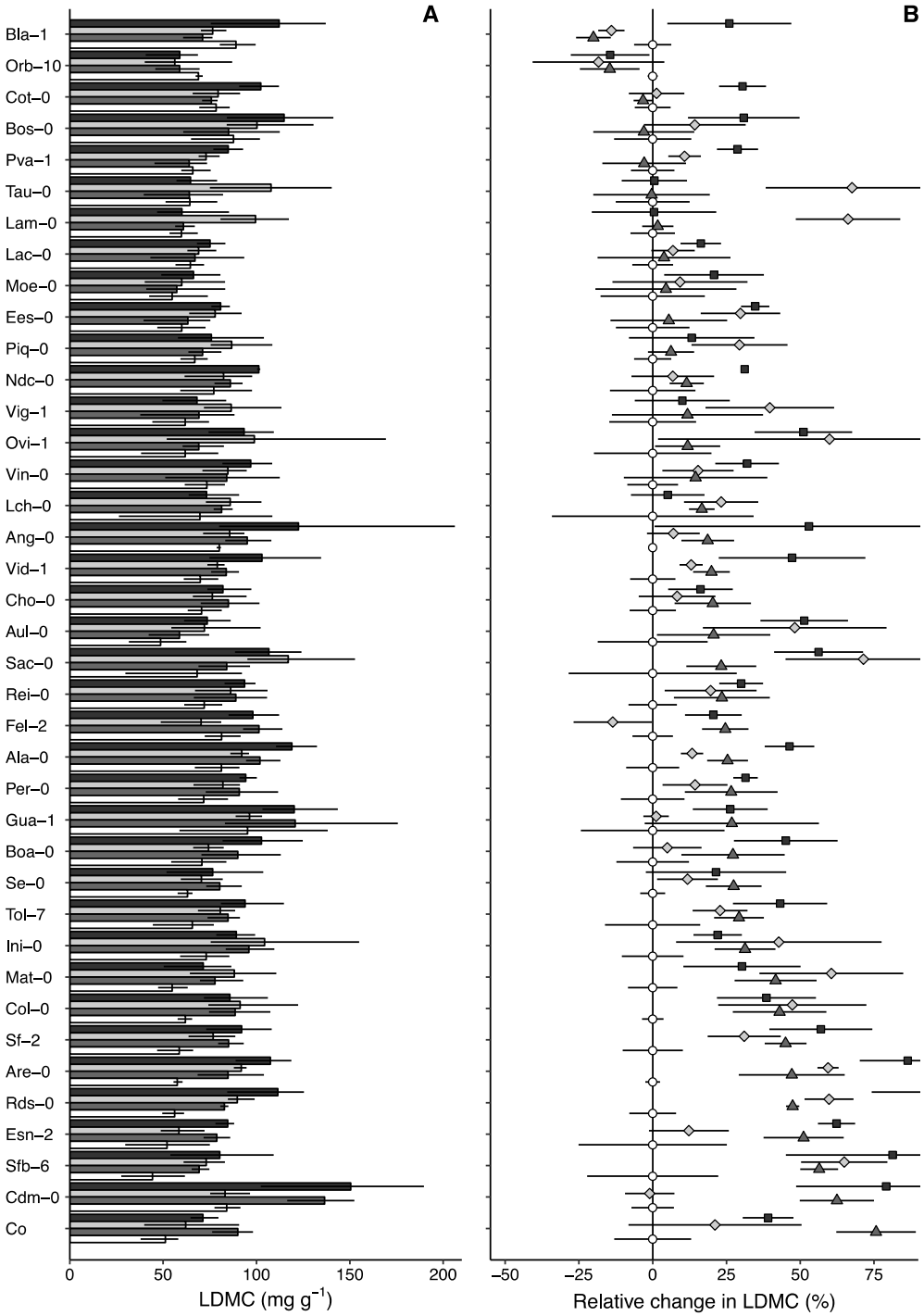
S1 Fig. Rosette expansion rate of 39 A. thaliana genotypes in control conditions at 8-h day length. Bars are mean ± 95% CI of rosette expansion rate (mm2 d-1) at 30 dpi (n = 3) of plants grown in mock-inoculated:WW.



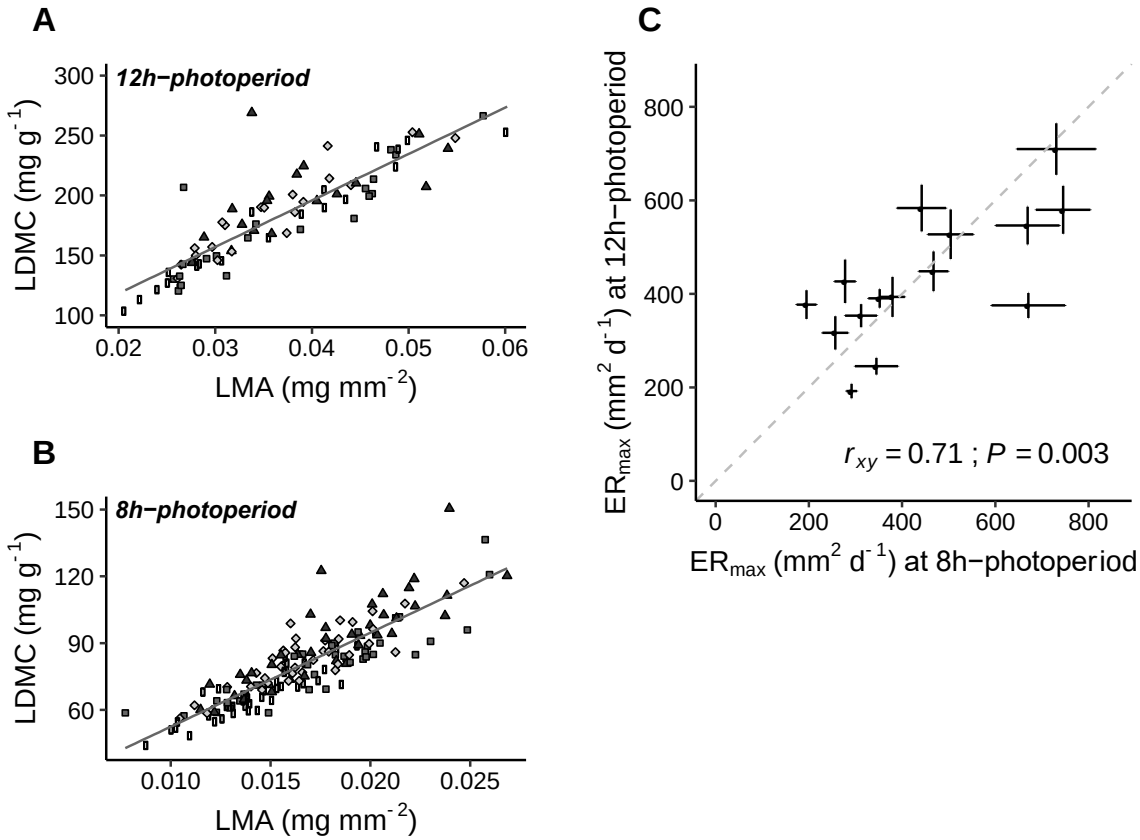
S2 Fig. Relationship between relative change of aboveground dry mass (ADM) of 39 CaMV-infected A. thaliana genotypes. (A) Relationship between relative change of aboveground dry mass production (ADM; %) in response to WD and CaMV infection under WW. (B) Relationship between relative change of ADM (%) in response to WD and CaMV infection under WD. Each point represents the mean relative change of each genotype. Point colors refers to the different clusters as determined in Fig 1. Lines represent linear regressions and statistical analyses were done using a Pearson's: (A) r = 0.39, P = 0.015. (B) r = 0.41; P = 0.003. Data are from Experiment 1 (n = 39 genotypes, 8-h day length). WW: well-watered conditions; WD: water deficit.



S3 Fig. Effects of CaMV infection and watering on leaf mass per area (LMA) of 39 A. thaliana genotypes. (A) Bars are mean ± 95% CI of leaf mass per area (LMA; mg mm-2) at 30 dpi (n = 3) of plants grown in mock-inoculated:WW (white bars), CaMV-infected:WW (dark grey bars), mock-inoculated:WD (light grey bars) and CaMV-infected:WD (black bars) conditions. (B) Relative change (± se) of LMA (%) in mock-inoculated:WW (white circle), CaMV-infected:WW (dark grey triangle), mock-inoculated:WD (light grey diamond) and CaMV-infected:WD (black square) conditions. Data are from Experiment 1 (8-h day length).

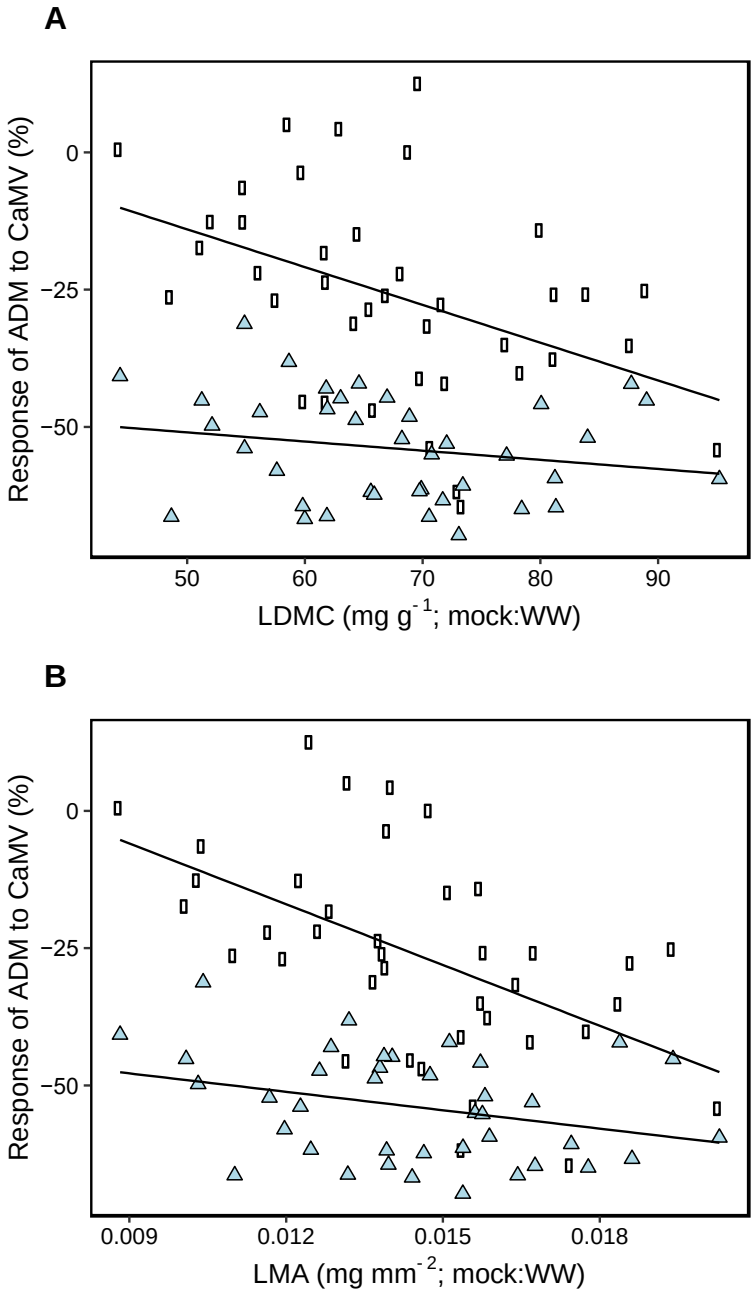


S4 Fig. Effects of CaMV infection and watering on leaf dry matter content (LDMC) of 39 A. thaliana genotypes. (A) Bars are mean ± 95% CI of leaf dry matter content (LDMC; mg g-1) at 30 dpi (n = 3) of plants grown in mock-inoculated:WW (white bars), CaMV-infected:WW (dark grey bars), mock-inoculated:WD (light grey bars) and CaMV-infected:WD (black bars) conditions. (B) Relative change (± se) of LDMC (%) in mock-inoculated:WW (white circle), CaMV-infected:WW (dark grey triangle), mock-inoculated:WD (light grey diamond) and CaMV-infected:WD (black square) conditions. Data are from Experiment 1 (8-h day length).



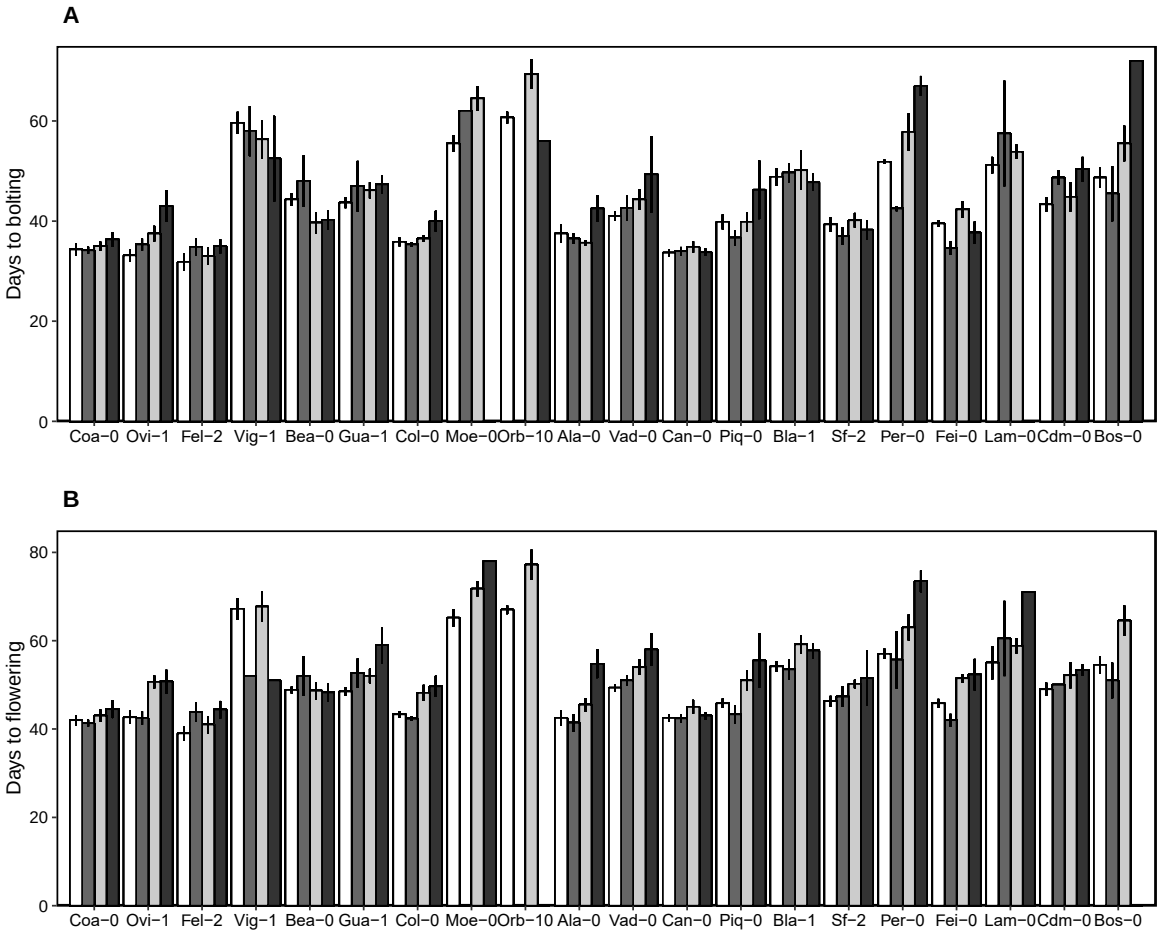
734

735 ***S5 Fig. Comparison of the relationships between LMA and LDMC and inherent growth rates***
736 ***at 8-h day length and 12-h day length***. (A) Relationship between leaf mass per area (LMA;
737 mg mm-2) and leaf dry matter content (LDMC; mg g-1) in experiment 1. (B) Relationship
738 between and LDMC in experiment 2. Each point represents the mean relative change of each
739 genotype. Lines represent significant linear regressions (P < 0.001). Mock-inoculated:WW
740 (white circle), CaMV-infected:WW (dark grey triangle), mock-inoculated:WD (light grey
741 diamond) and CaMV-infected:WD (black square). Data are from Experiment 1 and 2 (n = 39
742 genotypes, 8-h day length and n = 20, 12-h day length, respectively). (C) Relationship between
743 expansion rate (mm2 d-1) at 8-h and 12-h day length on 15 A. thaliana genotypes (Spearman's
744 r = 0.71, P = 0.003).



745

746 ***S6 Fig. Relationship between vegetative growth and leaf morphological traits of 39 A.***
747 ***thaliana genotypes.*** Each point represents a genotype under well-watered (WW; dark blue
748 circle) or water deficit (WD; light blue triangle) conditions. (A) Relationship between relative
749 change of aboveground dry mass production (ADM; %) in CaMV-infected plants and leaf dry
750 matter content (LDMC; mg g-1; Pearson's r = –0.43, P < 0.007 for WW and Pearson's r = –
751 0.20, P = 0.23 for WD). (B) Relationship between relative change of response of ADM (%) in
752 CaMV-infected plants under WW and under WD and leaf mass per area (LMA; mg mm-2;
753 Pearson's r = –0.52, P < 0.001 for WW and Pearson's r = –0.35, P = 0.031 for WD). Lines
754 represent linear regressions. Data are from Experiment 1 (n = 39 genotypes, 8-h day length).



S7 Fig. Effects of CaMV infection and watering treatment on phenological traits of 20 A. thaliana genotypes. (A) Days to bolting. (B) Days to flowering. Bars and error bars are means ± bootstrapped 95% confidence intervals of plants grown under mock-inoculated:WW (white bars), mock-inoculated:WD (dark grey bars), CaMV-infected:WW (light grey bars) and CaMV-infected:WD (black bars) conditions. WW: well-watered conditions; WD: water deficit. Genotypes are ordered according to their projected final surface of the rosette in condition of viral infection. Data are from Experiment 2 (20 genotypes; n = 6 replicates per genotype, 12-h day length).

References

1. Blumenthal D, Mitchell CE, Pyšek P, Jarošík V. Synergy between pathogen release and resource availability in plant invasion. Proc Natl Acad Sci. 2009;106: 7899–7904. doi:10.1073/pnas.0812607106

2. Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA, Wright IJ. Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation Between Species. Annu Rev Ecol Syst. 2002;33: 125–159. doi:10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150452

3. Wilson PJ, Thompson K, Hodgson JG. Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. New Phytol. 1999;143: 155–162.

4. Grime JP. Evidence for the Existence of Three Primary Strategies in Plants and Its Relevance to Ecological and Evolutionary Theory. Am Nat. 1977;111: 1169–1194. doi:10.1086/283244

5. May R-L, Warner S, Wingler A. Classification of intra-specific variation in plant functional strategies reveals adaptation to climate. Ann Bot. 2017;119: 1343–1352. doi:10.1093/aob/mcx031

6. Vasseur F, Sartori K, Baron E, Fort F, Kazakou E, Segrestin J, et al. Climate as a driver of adaptive variations in ecological strategies in Arabidopsis thaliana. Ann Bot. 2018 [cited 28 Feb 2019]. doi:10.1093/aob/mcy165

7. Grime JP, Hunt R. Relative Growth-Rate: Its Range and Adaptive Significance in a Local Flora. J Ecol. 1975;63: 393–422. doi:10.2307/2258728

8. Hodgson JG, Wilson PJ, Hunt R, Grime JP, Thompson K. Allocating C-S-R Plant Functional Types: A Soft Approach to a Hard Problem. Oikos. 1999;85: 282–294. doi:10.2307/3546494

9. Pariaud B, Ravigné V, Halkett F, Goyeau H, Carlier J, Lannou C. Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. Plant Pathol. 2009;58: 409–424. doi:10.1111/j.1365-3059.2009.02039.x

10. Leisner SM, Howell SH. Symptom variation in different Arabidopsis thaliana ecotypes produced by cauliflower mosaic virus. Phytopathol USA. 1992 [cited 28 Aug 2019]. Available: http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9416472

11. Aguilar E, Cutrona C, del Toro FJ, Vallarino JG, Osorio S, Pérez-Bueno ML, et al. Virulence determines beneficial trade-offs in the response of virus-infected plants to drought via induction of salicylic acid: trade-offs in virus-infected plants to drought. Plant Cell Environ. 2017; 2909–2930. doi:10.1111/pce.13028

12. Bergès SE, Vile D, Vazquez-Rovere C, Blanc S, Yvon M, Bédiée A, et al. Interactions Between Drought and Plant Genotype Change Epidemiological Traits of Cauliflower mosaic virus. Front Plant Sci. 2018;9. doi:10.3389/fpls.2018.00703

13. Carr JP. Exploring how viruses enhance plants' resilience to drought and the limits to this form of viral payback. Plant Cell Environ. 2017;40: 2906–2908. doi:10.1111/pce.13068

14. Fraile A, García-Arenal F. Environment and evolution modulate plant virus pathogenesis. Curr Opin Virol. 2016;17: 50–56. doi:10.1016/j.coviro.2016.01.008

15. Hily JM, García A, Moreno A, Plaza M, Wilkinson MD, Fereres A, et al. The Relationship between Host Lifespan and Pathogen Reservoir Potential: An Analysis in the System Arabidopsis thaliana-Cucumber mosaic virus. PLoS Pathog. 2014;10: e1004492. doi:10.1371/journal.ppat.1004492

16. Prasch CM, Sonnewald U. Simultaneous application of heat, drought, and virus to Arabidopsis plants reveals significant shifts in signaling networks. Plant Physiol. 2013;162: 1849–1866. doi:10.1104/pp.113.221044

17. Pagán I, Alonso-Blanco C, García-Arenal F. Host Responses in Life-History Traits and Tolerance to Virus Infection in Arabidopsis thaliana. PLOS Pathog. 2008;4: e1000124. doi:10.1371/journal.ppat.1000124

18. Shukla A, Pagán I, García-Arenal F. Effective tolerance based on resource reallocation is a virus-specific defence in Arabidopsis thaliana. Mol Plant Pathol. 2018;19: 1454–1465. doi:10.1111/mpp.12629

19. Aou-ouad HE, Pou A, Tomàs M, Montero R, Ribas-Carbo M, Medrano H, et al. Combined effect of virus infection and water stress on water flow and water economy in grapevines. Physiol Plant. 2017; 171–184. doi:10.1111/ppl.12541

20. Murray RR, Emblow MSM, Hetherington AM, Foster GD. Plant virus infections control stomatal development. Sci Rep. 2016;6. doi:10.1038/srep34507

21. Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS. Understanding plant responses to drought — from genes to the whole plant. Funct Plant Biol. 2003;30: 239. doi:10.1071/FP02076

22. Hsiao TC. Plant Responses to Water Stress. Annu Rev Plant Physiol. 1973;24: 519–570. doi:10.1146/annurev.pp.24.060173.002511

23. Zhang H, Sonnewald U. Differences and commonalities of plant responses to single and combined stresses. Plant J. 2017;90: 839–855. doi:10.1111/tpj.13557

24. Weigel D. Natural Variation in Arabidopsis: From Molecular Genetics to Ecological Genomics. Plant Physiol. 2012;158: 2–22. doi:10.1104/pp.111.189845

25. Alonso-Blanco C, Koornneef M. Naturally occurring variation in Arabidopsis: an underexploited resource for plant genetics. Trends Plant Sci. 2000;5: 22–29. doi:10.1016/S1360-1385(99)01510-1

26. Fu J, Keurentjes JJB, Bouwmeester H, America T, Verstappen FWA, Ward JL, et al. System-wide molecular evidence for phenotypic buffering in *Arabidopsis*. Nat Genet. 2009;41: 166–167. doi:10.1038/ng.308

27. Koornneef M, Alonso-Blanco C, Vreugdenhil D. Naturally Occurring Genetic Variation in Arabidopsis Thaliana. Annu Rev Plant Biol. 2004;55: 141–172. doi:10.1146/annurev.arplant.55.031903.141605

28. Li B, Suzuki J-I, Hara T. Latitudinal variation in plant size and relative growth rate in Arabidopsis thaliana. Oecologia. 1998;115: 293–301. doi:10.1007/s004420050519

29. Vasseur F, Exposito-Alonso M, Ayala-Garay OJ, Wang G, Enquist BJ, Vile D, et al. Adaptive diversification of growth allometry in the plant Arabidopsis thaliana. Proc Natl Acad Sci. 2018;115: 3416–3421. doi:10.1073/pnas.1709141115

30. Sartori K, Vasseur F, Violle C, Baron E, Gerard M, Rowe N, et al. Leaf economics and slow-fast adaptation across the geographic range of Arabidopsis thaliana. Sci Rep. 2019;9: 10758. doi:10.1038/s41598-019-46878-2

31. Field C, Mooney HA. photosynthesis--nitrogen relationship in wild plants. Econ Plant Form Funct Proc Sixth Maria Moors Cabot Symp Evol Constraints Prim Product Adapt Patterns Energy Capture Plants Harv For August 1983. 1986 [cited 3 Apr 2019]. Available: http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301399269

32. Muller B, Garnier E. Components of relative growth rate and sensitivity to nitrogen availability in annual and perennial species of Bromus. Oecologia. 1990;84: 513–518. doi:10.1007/BF00328168

33. Poorter H, Remkes C. Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate. Oecologia. 1990;83: 553–559. doi:10.1007/BF00317209

34. Reich PB. Reconciling Apparent Discrepancies Among Studies Relating Life Span, Structure and Function of Leaves in Contrasting Plant Life Forms and Climates: `The Blind Men and the Elephant Retold'. Funct Ecol. 1993;7: 721–725. doi:10.2307/2390194

35. Granier C, Aguirrezabal L, Chenu K, Cookson SJ, Dauzat M, Hamard P, et al. PHENOPSIS, an automated platform for reproducible phenotyping of plant responses to soil water deficit in Arabidopsis thaliana permitted the identification of an accession with low sensitivity to soil water deficit. New Phytol. 2006;169: 623–635. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01609.x

36. Leisner SM, Turgeon R, Howell SH. Effects of host plant development and genetic determinants on the long-distance movement of cauliflower mosaic virus in Arabidopsis. Plant Cell Online. 1993;5: 191–202. doi:10.1105/tpc.5.2.191

37. Vile D, Pervent M, Belluau M, Vasseur F, Bresson J, Muller B, et al. Arabidopsis growth under prolonged high temperature and water deficit: independent or interactive effects? Plant Cell Environ. 2012;35: 702–718. doi:10.1111/j.1365-3040.2011.02445.x

38. Pandey P, Irulappan V, Bagavathiannan MV, Senthil-Kumar M. Impact of Combined Abiotic and Biotic Stresses on Plant Growth and Avenues for Crop Improvement by Exploiting Physio-morphological Traits. Front Plant Sci. 2017;8. doi:10.3389/fpls.2017.00537

874 39. Ramegowda V, Senthil-Kumar M. The interactive effects of simultaneous biotic and
875 abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen
876 combination. J Plant Physiol. 2015;176: 47–54. doi:10.1016/j.jplph.2014.11.008

877 40. Szczepaniec A, Finke D. Plant-Vector-Pathogen Interactions in the Context of Drought
878 Stress. Front Ecol Evol. 2019;7. doi:10.3389/fevo.2019.00262

879 41. Pandey P, Ramegowda V, Senthil-Kumar M. Shared and unique responses of plants to
880 multiple individual stresses and stress combinations: physiological and molecular
881 mechanisms. Front Plant Sci. 2015;6. doi:10.3389/fpls.2015.00723

882 42. Atkinson NJ, Urwin PE. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to
883 the field. J Exp Bot. 2012;63: 3523–3543. doi:10.1093/jxb/ers100

884 43. Foyer CH, Rasool B, Davey JW, Hancock RD. Cross-tolerance to biotic and abiotic
885 stresses in plants: a focus on resistance to aphid infestation. J Exp Bot. 2016; erw079.
886 doi:10.1093/jxb/erw079

887 44. Huber AE, Bauerle TL. Long-distance plant signaling pathways in response to multiple
888 stressors: the gap in knowledge. J Exp Bot. 2016; erw099. doi:10.1093/jxb/erw099

889 45. Westwood JH, Mccann L, Naish M, Dixon H, Murphy AM, Stancombe MA, et al. A viral
890 RNA silencing suppressor interferes with abscisic acid-mediated signalling and induces
891 drought tolerance in Arabidopsis thaliana. Mol Plant Pathol. 2013;14: 158–170.
892 doi:10.1111/j.1364-3703.2012.00840.x

893 46. Xu P, Chen F, Mannas JP, Feldman T, Sumner LW, Roossinck MJ. Virus infection
894 improves drought tolerance. New Phytol. 2008;180: 911–921. doi:10.1111/j.1469-
895 8137.2008.02627.x

896 47. Haas M, Bureau M, Geldreich A, Yot P, Keller M. Cauliflower mosaic virus: still in the
897 news. Mol Plant Pathol. 2002;3: 419–429. doi:10.1046/j.1364-3703.2002.00136.x

898 48. Prasch CM, Sonnewald U. Signaling events in plants: Stress factors in combination change
899 the picture. Environ Exp Bot. 2015;114: 4–14. doi:10.1016/j.envexpbot.2014.06.020

900 49. Adie BAT, Pérez-Pérez J, Pérez-Pérez MM, Godoy M, Sánchez-Serrano J-J, Schmelz EA,
901 et al. ABA Is an Essential Signal for Plant Resistance to Pathogens Affecting JA
902 Biosynthesis and the Activation of Defenses in Arabidopsis. Plant Cell. 2007;19: 1665–
903 1681. doi:10.1105/tpc.106.048041

904 50. Bari R, Jones JDG. Role of plant hormones in plant defence responses. Plant Mol Biol.
905 2009;69: 473–488. doi:10.1007/s11103-008-9435-0

906 51. Collum TD, Culver JN. The impact of phytohormones on virus infection and disease. Curr
907 Opin Virol. 2016;17: 25–31. doi:10.1016/j.coviro.2015.11.003

908 52. Lievens L, Pollier J, Goossens A, Beyaert R, Staal J. Abscisic Acid as Pathogen Effector
909 and Immune Regulator. Front Plant Sci. 2017;8. doi:10.3389/fpls.2017.00587

53. Mittler R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. Trends Plant Sci. 2006;11: 15–19. doi:10.1016/j.tplants.2005.11.002

54. Baxter A, Mittler R, Suzuki N. ROS as key players in plant stress signalling. J Exp Bot. 2014;65: 1229–1240. doi:10.1093/jxb/ert375

55. Dat J, Vandenabeele S, Vranová E, Van Montagu M, Inzé* D, Van Breusegem F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cell Mol Life Sci CMLS. 2000;57: 779–795. doi:10.1007/s000180050041

56. Gilroy S, Białasek M, Suzuki N, Górecka M, Devireddy AR, Karpiński S, et al. ROS, Calcium, and Electric Signals: Key Mediators of Rapid Systemic Signaling in Plants. Plant Physiol. 2016;171: 1606–1615. doi:10.1104/pp.16.00434

57. Hilleary R, Gilroy S. Systemic signaling in response to wounding and pathogens. Curr Opin Plant Biol. 2018;43: 57–62. doi:10.1016/j.pbi.2017.12.009

58. Picó FX, Méndez-Vigo B, Martínez-Zapater JM, Alonso-Blanco C. Natural Genetic Variation of Arabidopsis thaliana Is Geographically Structured in the Iberian Peninsula. Genetics. 2008;180: 1009–1021. doi:10.1534/genetics.108.089581

59. Mithöfer A, Boland W. Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects. Annu Rev Plant Biol. 2012;63: 431–450. doi:10.1146/annurev-arplant-042110-103854

60. Montes N, Alonso-Blanco C, García-Arenal F. Cucumber mosaic virus infection as a potential selective pressure on Arabidopsis thaliana populations. PLOS Pathog. 2019;15: e1007810. doi:10.1371/journal.ppat.1007810

61. Rubio B, Cosson P, Caballero M, Revers F, Bergelson J, Roux F, et al. Genome-wide association study reveals new loci involved in Arabidopsis thaliana and Turnip mosaic virus (TuMV) interactions in the field. New Phytol. 2019;221: 2026–2038. doi:10.1111/nph.15507

62. Messier J, McGill BJ, Enquist BJ, Lechowicz MJ. Trait variation and integration across scales: is the leaf economic spectrum present at local scales? Ecography. 2017;40: 685–697. doi:10.1111/ecog.02006

63. Volaire F. Plant traits and functional types to characterise drought survival of pluri-specific perennial herbaceous swards in Mediterranean areas. Eur J Agron. 2008;29: 116–124. doi:10.1016/j.eja.2008.04.008

64. Aguirrezabal L, Bouchier-Combaud S, Radziejwoski A, Dauzat M, Cookson SJ, Granier C. Plasticity to soil water deficit in Arabidopsis thaliana: dissection of leaf development into underlying growth dynamic and cellular variables reveals invisible phenotypes. Plant Cell Environ. 2006;29: 2216–2227. doi:10.1111/j.1365-3040.2006.01595.x

65. Kitajima K, Poorter L. Tissue-level leaf toughness, but not lamina thickness, predicts sapling leaf lifespan and shade tolerance of tropical tree species. New Phytol. 2010;186: 708–721. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03212.x

947 66. Poorter H, Niinemets Ü, Poorter L, Wright IJ, Villar R. Causes and consequences of
948 variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. New Phytol. 2009;182: 565–588.
949 doi:10.1111/j.1469-8137.2009.02830.x

950 67. Fereres A, Moreno A. Behavioural aspects influencing plant virus transmission by
951 homopteran insects. Virus Res. 2009;141: 158–168. doi:10.1016/j.virusres.2008.10.020

952 68. Gutiérrez S, Michalakis Y, Van Munster M, Blanc S. Plant feeding by insect vectors can
953 affect life cycle, population genetics and evolution of plant viruses. Funct Ecol. 2013;27:
954 610–622. doi:10.1111/1365-2435.12070

955 69. Ismail ID, Milner JJ. Isolation of defective interfering particles of sonchus yellow net virus
956 from chronically infected plants. J Gen Virol U K. 1988; 999–1006. doi:10.1099/0022-
957 1317-69-5-999

958 70. Jensen SG. Systemic movement of barley yellow dwarf virus in small grains.
959 Phytopathology. 1973; 854–856.

960 71. Bennett CW. Relation of food translocation to movement of virus of Tobacco mosaic. J
961 Agric Res. 1940;60: 361–390.

962 72. Córdoba AR, Taleisnik E, Brunotto M, Racca R. Mitigation of Tomato Spotted Wilt Virus
963 Infection and Symptom Expression by Water Stress. J Phytopathol. 1991;133: 255–263.
964 doi:10.1111/j.1439-0434.1991.tb00160.x

965 73. Leisner SM, Howell SH. Long-distance movement of viruses in plants. Trends Microbiol.
966 1993;1: 314–317. doi:10.1016/0966-842X(93)90009-G

967 74. Palacios I, Drucker M, Blanc S, Leite S, Moreno A, Fereres A. Cauliflower mosaic virus
968 is preferentially acquired from the phloem by its aphid vectors. J Gen Virol. 2002;83:
969 3163–3171. doi:10.1099/0022-1317-83-12-3163

970 75. Roberts K, Love AJ, Laval V, Laird J, Tomos AD, Hooks MA, et al. Long-distance
971 movement of Cauliflower mosaic virus and host defence responses in Arabidopsis follow
972 a predictable pattern that is determined by the leaf orthostichy. New Phytol. 2007;175.
973 doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02136.x

974 76. Alonso-Blanco C, Andrade J, Becker C, Bemm F, Bergelson J, Borgwardt KM, et al. 1,135
975 Genomes Reveal the Global Pattern of Polymorphism in Arabidopsis thaliana. Cell.
976 2016;166: 481–491. doi:10.1016/j.cell.2016.05.063

977 77. Rymaszewski W, Granier C, Vile D, Dauzat M, Hennig J, Kamrowska D, et al. Stress-
978 response gene expression reflects morpho-physiological responses to water deficit. Plant
979 Physiol. 2017 [cited 12 Sep 2017]. doi:doi.org/10.1104/pp.17.00318

980 78. Fabre J, Dauzat M, Nègre V, Wuyts N, Tireau A, Gennari E, et al. PHENOPSIS DB: an
981 information system for Arabidopsis thaliana phenotypic data in an environmental context.
982 BMC Plant Biol. 2011;11: 77. doi:10.1186/1471-2229-11-77

79. Delseny M, Hull R. Isolation and characterization of faithful and altered clones of the genomes of cauliflower mosaic virus isolates Cabb B-JI, CM4-184, and Bari I. Plasmid. 1983;9: 31–41. doi:10.1016/0147-619X(83)90029-X

80. Hull R, Shepherd RJ. The coat proteins of cauliflower mosaic virus. Virology. 1976;70: 217–220. doi:10.1016/0042-6822(76)90257-9

81. Blanc S, Cerutti M, Usmany M, Vlak JM, Hull R. Biological Activity of Cauliflower Mosaic Virus Aphid Transmission Factor Expressed in a Heterologous System. Virology. 1993;192: 643–650. doi:10.1006/viro.1993.1080

82. Perez-Harguindeguy N, Diaz S, Garnier E, Lavorel S, Poorter H, Jaureguiberry P, et al. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. Aust J Bot. 2013;61: 167–234. doi:10.1071/BT12225

83. Hamilton NE, Ferry M. ggtern: Ternary Diagrams Using ggplot2. J Stat Softw. 2018;87: 1–17. doi:10.18637/jss.v087.c03

84. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. 2017. Available: https://www.R-project.org/.

-CHAPITRE 3-

Étude de l'impact du déficit hydrique sur les traits viraux du CaMV chez divers génotypes d'*A. thaliana*

Article 3: Water deficit changes the relationships between viral traits of the Cauliflower Mosaic Virus across Arabidopsis thaliana genotypes

Objectifs du chapitre :

La transmission virale par vecteur est une étape clé pour le virus afin de se maintenir au sein de son écosystème. Afin d'augmenter ses chances de pouvoir se propager à partir d'un hôte infecté à de nouveaux individus sains, le virus doit maintenir celui-ci en vie. Pour cela, le virus doit trouver un compromis entre sa virulence au sein de l'hôte et son accumulation potentiellement délétère. L'hypothèse du « trade-off » entre transmission et virulence a ainsi été testée. Cette hypothèse est basée sur deux assomptions : d'une part, une corrélation positive entre l'accumulation virale et la virulence ; d'autre part, une corrélation positive entre l'accumulation virale et la transmission. Cependant, ces relations restent controversées dans la littérature et semblent dépendre du pathosystème étudié. De plus, il n'existe pas à notre connaissance d'études sur la modulation des traits viraux dans un contexte de stress abiotique. Au cours de ce travail nous avons analysé l'impact d'un déficit hydrique sur les traits viraux (virulence, accumulation intra-hôte et transmission par vecteur) puis nous avons analysé les relations entre ces traits selon les conditions environnementales (condition optimale et WD). Cette étude a été réalisée sur 24 génotypes d'*Arabidopsis thaliana* infectés par le CaMV en condition de culture optimale ou de déficit hydrique dans PHENOPSIS et les différents traits viraux mesurés.

Les principales questions abordées ont été :

- Le déficit hydrique peut-il modifier les traits du CaMV (i.e. la transmission par vecteur, la virulence, et l'accumulation virale intra-hôte) ?
- Qu'en est-il des relations entre les traits viraux en condition optimale d'irrigation ?
- Les relations entre les traits viraux sont-elles modifiées lors d'un déficit hydrique ?
- Les traits morphologiques de la plante sont-ils liés (i.e. LDMC) aux traits viraux ?

Cette étude, qui sera prochainement soumise dans *Journal of Virology*, a confirmé que le niveau de réponse des plantes en termes de croissance face à un stress isolé ou des stress combinés étaient génotype-dépendant. Dans des conditions optimales d'irrigation, nous avons

retrouvé une corrélation positive entre la transmission et l'accumulation virale. Cependant, nous n'avons pas pu mettre en évidence de relation entre la transmission et la virulence du CaMV. De même, il semblerait, dans une moindre mesure, qu'une accumulation importante du CaMV au sein d'un génotype soit corrélée à une meilleure tolérance au virus.

De plus, nos résultats ont confirmé que le WD pouvait modifier le taux de transmission virale et le niveau d'accumulation virale dans certains génotypes comme nous l'avions montré dans le Chapitre 1. L'application d'un WD à des plantes infectées par le CaMV conduit à une altération des corrélations entre la transmission et l'accumulation et/ou la virulence et l'accumulation.

Enfin, nous avons mis en évidence qu'un caractère morphologique foliaire important, la teneur en matière sèche (« leaf dry matter content » ; LDMC) était négativement liée à la transmission et à l'accumulation du CaMV.

Cette étude démontre l'importance de prendre en compte l'environnement abiotique et ses effets sur l'hôte lors de l'étude des traits viraux et de leurs relations.

Water deficit changes the relationships between viral traits of the *Cauliflower Mosaic Virus* across *Arabidopsis thaliana* genotypes

Sandy E. Bergès[1,2], Michel Yvon[2], Diane Masclef[1], Myriam Dauzat[1], Denis Vile[1*], Manuella van Munster[2*]

[1]LEPSE, Univ Montpellier, INRA, Montpellier SupAgro, Montpellier, France

[2]BGPI, Univ Montpellier, CIRAD, INRA, Montpellier SupAgro, Montpellier, France.

***Corresponding authors**: Denis Vile (denis.vile@inra.fr); Manuella van Munster (manuella.van-munster@inra.fr)

Keywords: transmission, viral accumulation, trade-off, LDMC, CaMV, *A. thaliana*

Number of words: 5939

Number of figures: 5

Abstract

Considering global climate change, drought episodes are likely to increase in the future and might influence plant-virus interactions. Previous studies showed that the host environment may alter several viral traits behavior, however none of them report how these changes are potentially interfering on their inherent relationships. Here, we investigated the effect of a water deficit on CaMV traits (i.e., vectored-transmission, within host-accumulation, and virulence) and their relationships during infection of 24 wild plant genotypes of *A. thaliana* native to the Iberian Peninsula. Plant growth-related traits and virus traits were evaluated in PHENOPSIS, an automated high throughput phenotyping platform. We tested the hypothesis of a positive relationship between CaMV viral traits under optimal irrigation conditions that would be altered under a WD due to changes in these viral traits. Our results showed that WD altered significantly CaMV vectored-transmission and within-host accumulation in several plant genotypes. Looking at viral traits' relationships, we showed that under optimal irrigation conditions, transmission was positively and significantly correlated with within-host CaMV accumulation, while the level of virulence tended to be negatively correlated to within-host accumulation. Under a WD, the correlation between transmission rate and CaMV within-host accumulation was dramatically affected and became significantly negative. Under this abiotic constraint we still could not find any robust relationship between CaMV within-host accumulation and virulence level. Moreover, the LDMC a morphological leaf trait, was significantly and negatively correlated to CaMV transmission and within-host accumulation. This pioneer study demonstrates the importance of integrating the abiotic environment of the host in studies involving viral traits behavior.

Introduction

As sessile organisms, plants are continuously exposed to combinations of abiotic and biotic stresses (Gupta and Senthil-Kumar, 2017; Rejeb et al., 2014). Among these combinations, soil water deficit (WD) and virus infection are two major factors impacting plant performance and that frequently occur simultaneously in natural conditions (Farooq et al., 2009; Jones, 2009). In response to these constraints, plants have evolved specific mechanisms to detect environmental changes and respond to complex stress conditions, minimizing damages while maintaining valuable resources for growth and reproduction (Pandey et al., 2015).

Viruses are obligate parasites and as such, cannot complete their life cycle without exploiting a suitable host. Hence host physiological status is critical for the survival of the pathogen (Hull, 1994). In the context of climate change, recent studies have emerged considering various important viral life traits (e.g. within-host accumulation, virulence, transmission) in the tripartite plant-vector-pathogen interactions (Bergès et al., 2018; Montes and Pagán, 2019; Singh et al., 2018). It is now well established that abiotic stresses, and in consequence changes in the host physiological status influences viral traits most probably through an alteration of the host signaling pathways (Canto and Palukaitis, 2002; Parizipour et al., 2018; Szczepaniec and Finke, 2019; Zhang and Sonnewald, 2017). Virulence can be considered as the ability of the pathogen to infect or not a plant (binary component), or as the detrimental effect of the pathogen on its host (quantitative trait, i.e. the impact on growth of the host) (Pariaud et al., 2009). The environment can modify the virulence of pathogens, indeed an increase in temperature or atmospheric CO_2 modifies the virulence of *Potato virus X* in tobacco (*Nicotiana benthamiana*) (Aguilar et al., 2015).

Concerning within-host viral accumulation, it was shown that under WD, soybean plants accumulated significantly less copies of *Soybean mosaic virus* compared to an optimal condition (Nachappa et al., 2016). Under salt stress conditions, expression of *Potato virus A* in infected tobacco leaves increases and this is certainly related to calcium signaling (Suntio and Mäkinen, 2012). In general, under high atmospheric CO_2, viral accumulation of *Tomato yellow leaf curl virus, Potato virus Y* et le *Potato virus X* was shown to decrease (Aguilar et al., 2015; Huang et al., 2012; Matros et al., 2006). One explanation for this lowest within-host accumulation would be an alteration of the salicylic and jasmonic signaling pathways (Huang et al., 2012; Matros et al., 2006). In high temperature conditions, there is a contrasted effect on

viral accumulation (Canto and Palukaitis, 2002; Obrępalska-Stęplowska et al., 2015; Parizipour et al., 2018). For example, accumulation of PVA, *Peanut stunt virus* or PVY increases in tobacco whereas it decreases in *A. thaliana* / *Turnip crinkle virus*, tobacco / *Tobacco mosaïc virus* or wheat / *Wheat dwarf viru*s pathosystems (Canto and Palukaitis, 2002; Parizipour et al., 2018; Zhang et al., 2012). Finally, during a light stress, the accumulation of the *Turnip crinkle virus* in *A. thaliana* is modified according to the light intensity (Ballaré, 2014; Chandra-Shekara et al., 2006). High light intensity increases the multiplication of *Turnip mosaic virus* (TuMV) or decreases that of CMV in several natural *A. thaliana* accessions (Montes and Pagán, 2019).

Viral transmission is a key step in virus life cycle that allows viruses to maintain themselves in an ecosystem. Plant viruses mostly rely on a third party for their spread, insects and among them aphids being by far the most efficient vectors (Bragard et al., 2013). Virus vectored-transmission is mediated by critical successive processes starting from virus acquisition on an infected plant, then virus retention in the alimentary apparatus or in the aphid's body, and finally virus inoculation to a new plant (Blanc et al., 2011). It is recognized that the variation in the efficiency of virus transmission depends not only on the intrinsic strategy of virus and the behavior of vector, but also on the physiological status of host plant, environment and their interactions. As a matter of fact, transmission of *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) and TuMV significantly increased when *Brassica rapa* source plants experimented a severe WD (van Munster et al., 2017). In that case, increase in virus transmission might be due to the ability of the virus to react to changes in its environment (Berthelot et al., 2019; Gutiérrez et al., 2013; Martinière et al., 2013). On the other hand, the same abiotic stress applied to *A. thaliana* (Col-0) infected with *Turnip yellows virus*, reduced drastically transmission efficiency most probably due to an altered feeding behavior of the aphid vector (Yvon et al., 2017). Similarly, elevated atmospheric CO_2 resulted in a decrease of the transmission of *Cucumber mosaic virus* in pepper plants while it increased *Potato virus A* transmission in *Nicotiana tabacum* L. (Bosquee et al., 2018; Dáder et al., 2016). Under a combination of high atmospheric CO_2 and high temperature (30° C) a lower transmission of *Potato virus Y* was observed on *Nicotiana tabacum* L. source plants (del Toro et al., 2019).

These viral traits are believed to be in tight interactions allowing successful coevolution of hosts and pathogens, as originally described through the trade-off hypothesis (Anderson and May, 1982; Ewald, 1983). This hypothesis predicts the existence of an optimal level of virulence that integrates the benefits of transmission and the cost of killing the host and so for,

rely on two key assumptions: (i) a positive correlation between within-host accumulation and transmission (ii) a positive correlation between within-host accumulation and virulence (Anderson and May, 1982; Froissart et al., 2010). While the first assumption was demonstrated in several viral pathosystems (Banik and Zitter, 1990; Doumayrou et al., 2013b; Escriu et al., 2000; Wintermantel et al., 2008), the latter remains controversial (Froissart et al., 2010). Hence, reports looking at a possible correlation between viral accumulation and virulence yield conflicting results (Gal-On, 2007; Poulicard et al., 2010; Rodríguez-Cerezo et al., 1991). Overall, the available data do not allow to confirm or refute the existence of a systematic correlation between these three viral traits (Alizon et al., 2009; Froissart et al., 2010). Moreover, data are scarce on how these different viral traits interact in a disturbed environment (Bergès et al., 2018).

To address this question, we used the *Cauliflower mosaic virus* (CaMV; *Caulimoviridae*), a non-circulative virus transmitted by aphids and its natural host *Arabidopsis thaliana* (*Brassicaceae)* as model system (Pagán et al., 2010). Relationships between viral traits and plant traits under WD were analyzed and compared to the optimal condition in 24 wild *A. thaliana* genotypes which come mainly from the Iberian Peninsula along a strong gradient of rainfall (Alonso-Blanco et al., 2016) and grown under controlled environmental conditions in the high throughput phenotyping platform PHENOPSIS (Granier et al., 2006).

Results

The CaMV isolate Cabb B-JI successfully infected plants from all the 24 *A. thaliana* genotypes analyzed in two independent experiments, whatever the watering treatment. Infected plants showed characteristic symptoms of a CaMV infection: chlorotic lesions, vein-clearing and crinkled rosette leaves. Infection by this virus isolate induced a significant reduction of the aboveground dry mass in all *A. thaliana* genotypes (Fig. 1). Although we found no significant differences in Col-0 responses between experiments in terms of transmission or accumulation of CaMV but, significant differences in the relationships between viral traits were found between experiments and were thus considered separately in subsequent analyses.

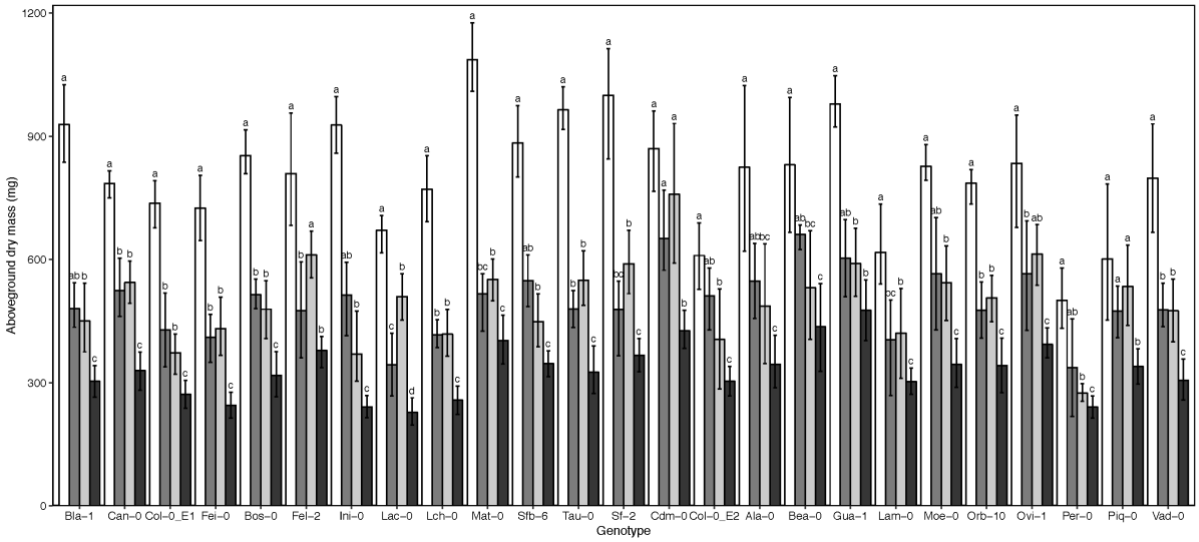


Fig. 1. Effects of CaMV infection and watering treatment on growth of A. thaliana genotypes. Bars are mean ± 95% CI of rosette aboveground dry mass (mg) at 30 dpi of plants grown in mock-inoculated:WW (white bars; n = 4), mock-inoculated:WD (dark grey bars; n = 4), CaMV-infected:WW (light grey bars; n = 15) and CaMV-infected:WD (black bars; n = 15) conditions. Data are from Experiment 1 and 2 (n = 13 genotypes / experiment, 12-h day length). Different letters indicate a significant difference between treatments for each accession (nonparametric Kruskal–Wallis tests; $P < 0.05$). Genotypes are alphabetically ordered by experiment from Bla-1 to Sf-2 (experiment 1) and from Cdm-0 to Vad-0 (experiment 2). Col_E1: Col-0 of experiment 1 and Col_E2: Col-0 of experiment 2.

Changes in viral traits under water deficit

For each of the 24 plant genotypes, we determined CaMV transmission efficiency by aphids, within-host viral accumulation and virulence in source plants under well-watered (WW) and water deficit (WD) conditions. The three viral traits varied significantly among genotypes and watering conditions ($P < 0.001$ for genotype x watering interaction term following robust ANOVAs, but $P = 0.96$ for the effect of watering on transmission in experiment 2).

Under well-watered (WW), transmission rate varied from 26% in Sf-2 to 59% in Col-0 (experiment 1), and this viral trait varied from 22% in Lam-0 to 58% in Can-0 under WD (Fig. 2A). Changes in transmission rate in response to WD were significant in only four genotypes. It increased from 41% to 59% in Can-0 and Ini-0, while in Bos-0 and Lam-0 it decreased from 50% to 39% and from 33% to 22%, respectively (Fig. 2A). As a consequence, we found a significant positive relationship between the transmission rate measured under WW and WD

conditions in both experiments (r = 0.61, P < 0.001, experiment 1; r = 0.65, P < 0.001, experiment 2; Fig. 3A). In other words, the rank of the genotype was preserved regardless of the watering condition in terms of transmission rate. Generally, a plant genotype for which CaMV transmission was elevated under optimal irrigation showed also a high transmission efficiency under water deficit (Fig. 3A). Taken together, these data show that for most of plant genotypes, besides the four genotypes already described (Can-0, Ini-0, Bos-0 and Lam-0), CaMV transmission is not affected by the watering treatment.

We tested the reliability of the genomic viral accumulation as measured by qPCR versus the accumulation of functional virus particles as determined by ELISA on a subset of genotypes grown under both watering conditions. We found a significant positive correlation between both estimations of virus accumulation whatever the watering condition (r = 0.55, P < 0.001; n = 14 for WW and n = 21 for WD; Supplementary Fig. S1), thus validating the use of the qPCR method for screening large sets of samples. Similarly, to transmission rate, within-host viral accumulation varied greatly among genotypes in both watering treatments with a 20-fold CaMV accumulation difference between Ala-0 (1.4) and Lch-0 (28.9) under WW, and a 4-fold difference between Fei-0 (7.8) and Lam-0 (34.2) under WD (Fig. 2B). However, although this trait was more affected by WD, no general increasing or decreasing trend was observed. Within-host viral accumulation increased significantly in eight genotypes, while it decreased in three other ones Lch-0, Orb-10 and Ovi-1 with particularly high within-host viral accumulation in WW (Fig. 2B). Consequently to the differences among genotypes responses to WD, no correlation between the within-host viral accumulation under WW and under WD conditions was detected in the first experiment (r = 0.008, P = 0.95; Fig. 3B) and, in the second experiment, the correlation was significantly but weakly negative (r = –0.32, P = 0.024; Fig. 3B).

As expected from Fig. 1, virulence varied among genotypes and was significantly modified by the WD (Fig. 2C). Under WW, most tolerant genotypes exhibited less than 11% reduction (Piq-0) in aboveground dry mass, while in most susceptible ones accumulation of aboveground dry mass decreased up to 60% (Ini-0). Combination of viral infection and WD was even more detrimental to plant growth and accumulation of aboveground dry mass of all genotypes was decreased by more than 40%, with less variation between genotypes than under WW (among-genotype coefficient of variation = 31% under WW vs. 13% under WD). A positive and significant correlation between virulence under WW condition and virulence under WD condition was found in both experiments (experiment 1: r = 0.62, P < 0.001; experiment 2: r =

0.55, $P < 0.001$; Fig. 3C). In other words, the rank of the genotypes was conserved regardless of the watering condition in terms of virulence. Generally, a plant genotype for which virulence was elevated under WW was also more susceptible under WW (Fig. 3C).

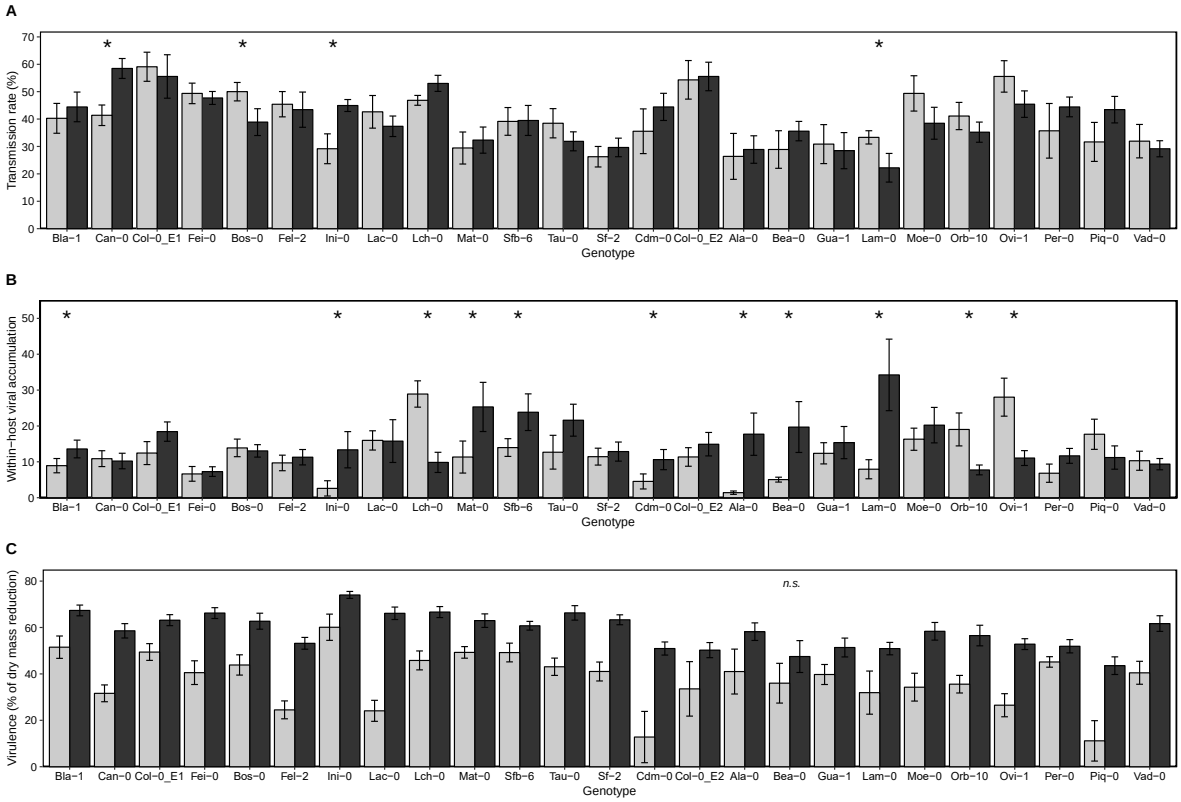
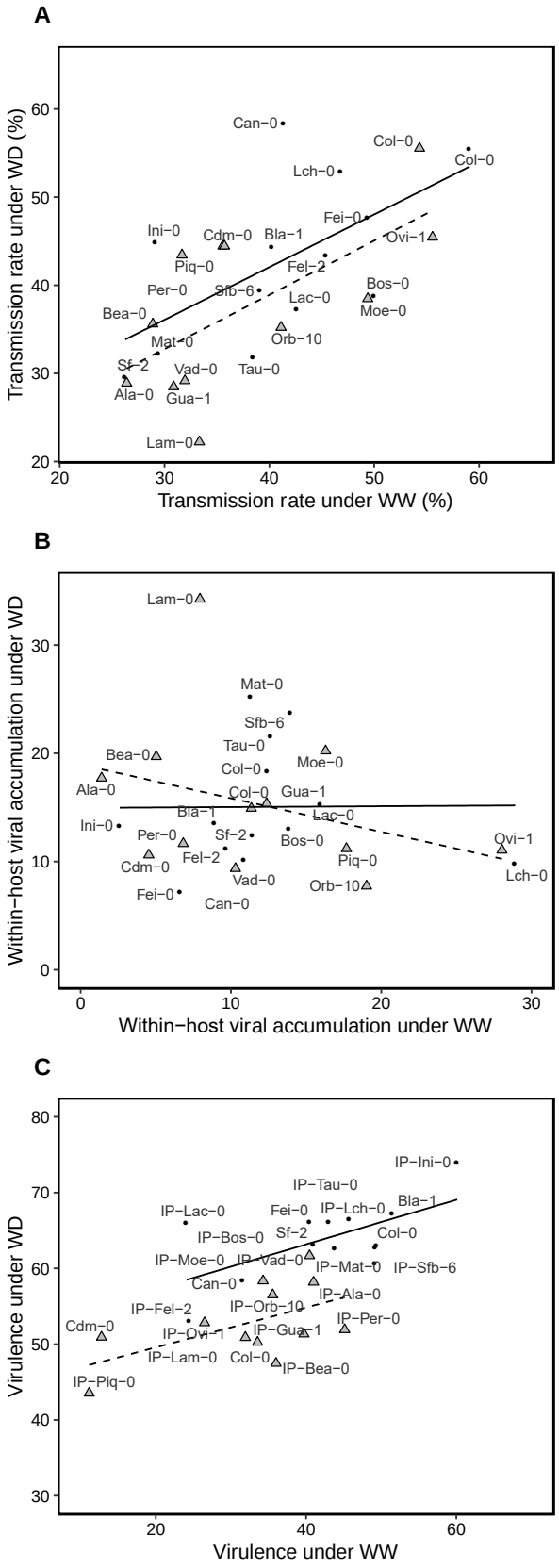


Fig. 2. CaMV traits of A. thaliana genotypes under well-watered and water deficit conditions. (A) Transmission rate, i.e., mean proportion of infected test plants (n = nine per source plant; %). (B) Accumulation of CaMV on source plants (n = 11; N0 CaMV / N0 Actine_UBC21). (C) Virulence of CaMV on source plants (n = 15; % of dry mass reduction). Data are from experiment 1 and 2 (n = 13 genotypes / experiment, 12-h day length). Genotypes are alphabetically ordered by experiment from Bla-1 to Sf-2 (experiment 1) and from Cdm-0 to Vad-0 (experiment 2). Col_E1: Col-0 of experiment 1 and Col_E2: Col-0 of experiment 2. Bars and error bars are means ± bootstrapped 95% confidence intervals of plant grown under CaMV-infected:WW (light gray bars) and CaMV-infected:WD (black bars) conditions at 30 dpi. Stars indicate a statistically significant difference between watering treatment for each genotype (nonparametric Kruskal–Wallis tests; $P < 0.05$) and n.s.: non-significant.



193

194 ***Fig. 3. Relationship between transmission, accumulation or virulence of CaMV of A.***

195 ***thaliana genotypes under well-watered and water deficit conditions.*** Relationship between (A)

transmission rate (%), (B) within-host CaMV accumulation (N0 CaMV / N0 Actine_UBC21) or (C) virulence of CaMV (% of dry mass reduction) under well-watered (WW) and water deficit (WD) conditions. Each dark circle represents one genotype of experiment 1 and each grey triangle represents one genotype of experiment 2. Data are from experiment 1 and 2 (n = 13 genotypes / experiment, 12-h day length). Lines represent linear regressions (Experiment 1: solid line; experiment 2: dashed line) and statistical analyses were done using a Pearson's: (A) Experiment 1: r = 0.61, P < 0.001 and experiment 2: r = 0.65, P < 0.001; (B) experiment 1: r = 0.008, P = 0.95 and experiment 2: r = –0.32, P = 0.024; (C) experiment 1: r = 0.62, P < 0.001 and experiment 2: r = 0.55, P < 0.001.

Water deficit changes the relationships between viral traits

Under WW, a significant positive correlation was found between CaMV within-host accumulation and virus transmission rate by aphids in both experiments (experiment 1: $r = 0.29$, $P = 0.036$; experiment 2: $r = 0.67$, $P < 0.001$; Fig. 4A). Under these non-limiting watering conditions, viral accumulation was negatively but slightly correlated to CaMV virulence in both experiments and the trend was significant only in experiment 2 (experiment 1: $r = –0.17$, $P = 0.22$; experiment 2: $r = –0.26$, $P = 0.05$; Fig. 4B). Finally, no significant correlation between virulence and viral transmission was found under WW condition (experiment 1: $r = –0.22$, $P = 0.11$; experiment 2: $r = –0.11$, $P = 0.44$; Fig. S2A).

Contrasted changes in viral traits in response to WD across *A. thaliana* genotypes (Fig. 2) led to changes in the relationships between these traits. Specifically, the correlation between within-host viral accumulation and virus transmission was reversed to negative under WD (experiment 1 and 2: both r = –0.49, P < 0.001; Fig. 4C). Similarly, the correlation between virulence and within-host viral accumulation, which tended to be negative under WW, was reversed under WD (experiment 1: r = 0.32, P = 0.021; experiment 2: r = 0.14, P = 0.32; Fig. 4D).

Finally, while no significant correlation between virulence and viral transmission under WD could be found in experiment 1 (r = 0.002, P = 0.9; Supplementary Fig. S2B), in experiment 2, a negative correlation between these two traits was detected (r = –0.37, P = 0.009; Supplementary Fig. S2B).

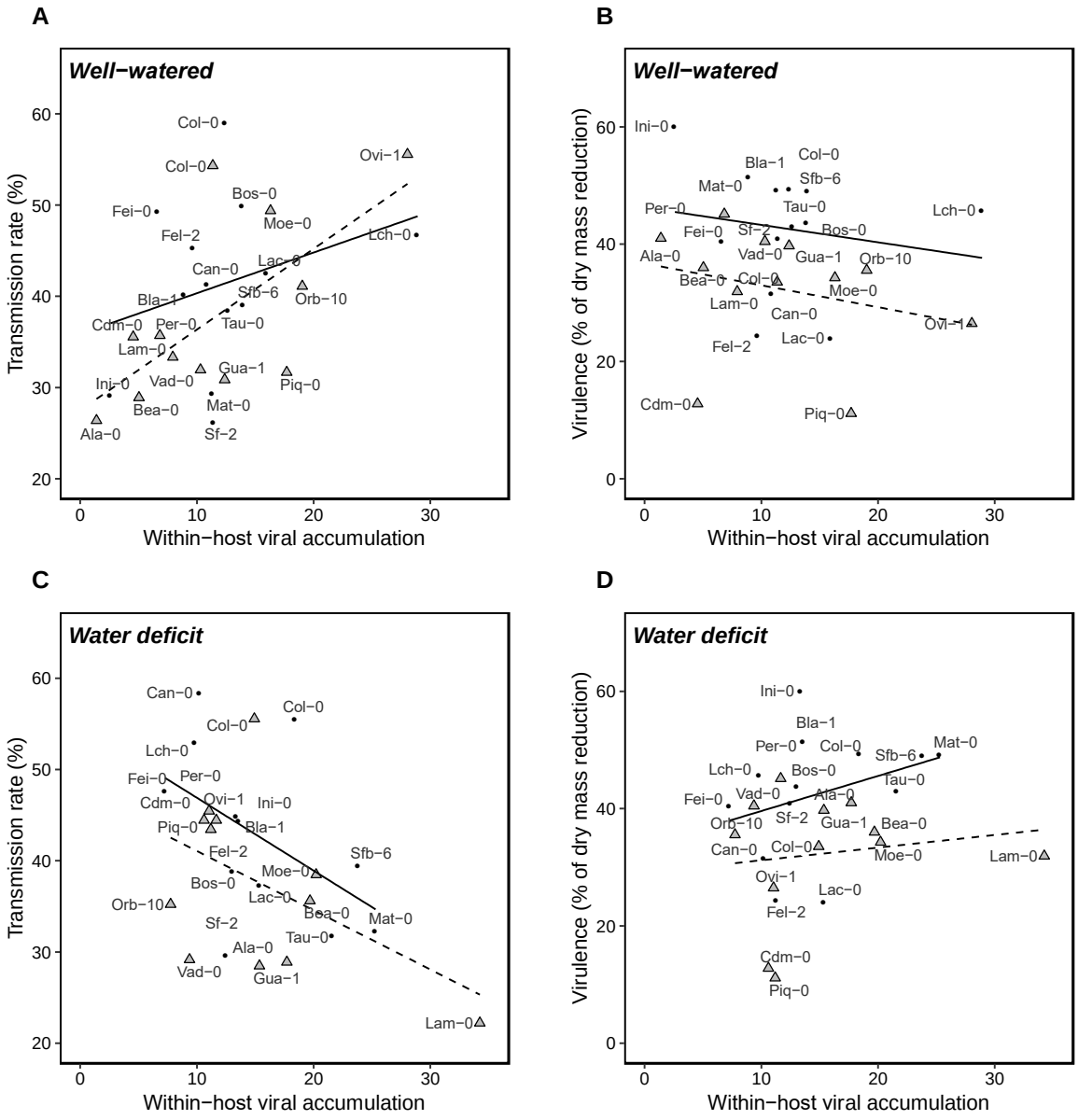


Fig. 4. Relationship between CaMV traits of A. thaliana genotypes under well-watered and water deficit conditions. (A) Relationship between transmission rate, i.e., mean proportion of infected test plants (n = nine per source plant; %) and accumulation of CaMV on source plants (n = 11; N0 CaMV / N0 Actine_UBC21) under well-watered condition. (B) Relationship between virulence (n = 15; % of dry mass reduction) and within-host CaMV accumulation on source plants under well-watered condition. (C) Relationship between transmission rate, i.e., mean proportion of infected test plants (n = nine per source plant; %) and accumulation of CaMV on source plants (n = 11; N0 CaMV / N0 Actine_UBC21) under water deficit condition. (D) Relationship between virulence (n = 15; % of dry mass reduction) and within-host CaMV accumulation on source plants under water deficit condition. Each dark circle represents one genotype of experiment 1 and each grey triangle represents one genotype of experiment 2. Data

are from experiment 1 and 2 (n = 13 genotypes / experiment, 12-h day length). Lines represent linear regressions (Experiment 1: solid line; experiment 2: dashed line) and statistical analyses were done using a Pearson's: (A) Experiment 1: r = 0.29, P = 0.036 and experiment 2: r = 0.67, P < 0.001; (B) experiment 1: r = –0.17, P = 0.22 and experiment 2: r = –0.26, P = 0.05; (C) experiment 1 and 2: r = –0.49, P < 0.001; (D) experiment 1: r = 0.32, P = 0.021 and experiment 2: r = 0.14, P = 0.32.

Viral traits are correlated with leaf dry matter content

Then, we looked for relationship between LDMC, a major leaf trait known to be implicated in response to stresses, viral transmission and within-host viral accumulation. Under WW, LDMC was significantly and negatively correlated with viral transmission (experiment 1: r = –0.48, P < 0.001; experiment 2: r = –0.36, P = 0.011; Fig. 5A) and within-host viral accumulation (experiment 1: r = –0.56, P < 0.001; experiment 2: r = –0.37, P = 0.007; Fig. 5B) in both experiments. Thus, plant genotypes presenting an inherent low leaf tissue density would have higher transmission rate and higher within-host viral accumulation level than plant genotypes harboring high leaf tissue density.

Upon WD, these relationships remained true for viral transmission but were impaired for CaMV accumulation in the second experiment (Fig. 5C and 5D). Indeed, the correlation between LDMC and CaMV transmission under water deficit remained significantly negative in both experiments (experiment 1: r = –0.36, P = 0.007; experiment 2: r = –0.23, P < 0.02; Fig. 5C). However, while the relationship between LDMC and within-host viral accumulation under WD remained negative in the second experiment (r = –0.32, P = 0.03; Fig. 5D), it was no longer significant in the first experiment (r = 0.05, P = 0.70; Fig. 5D).

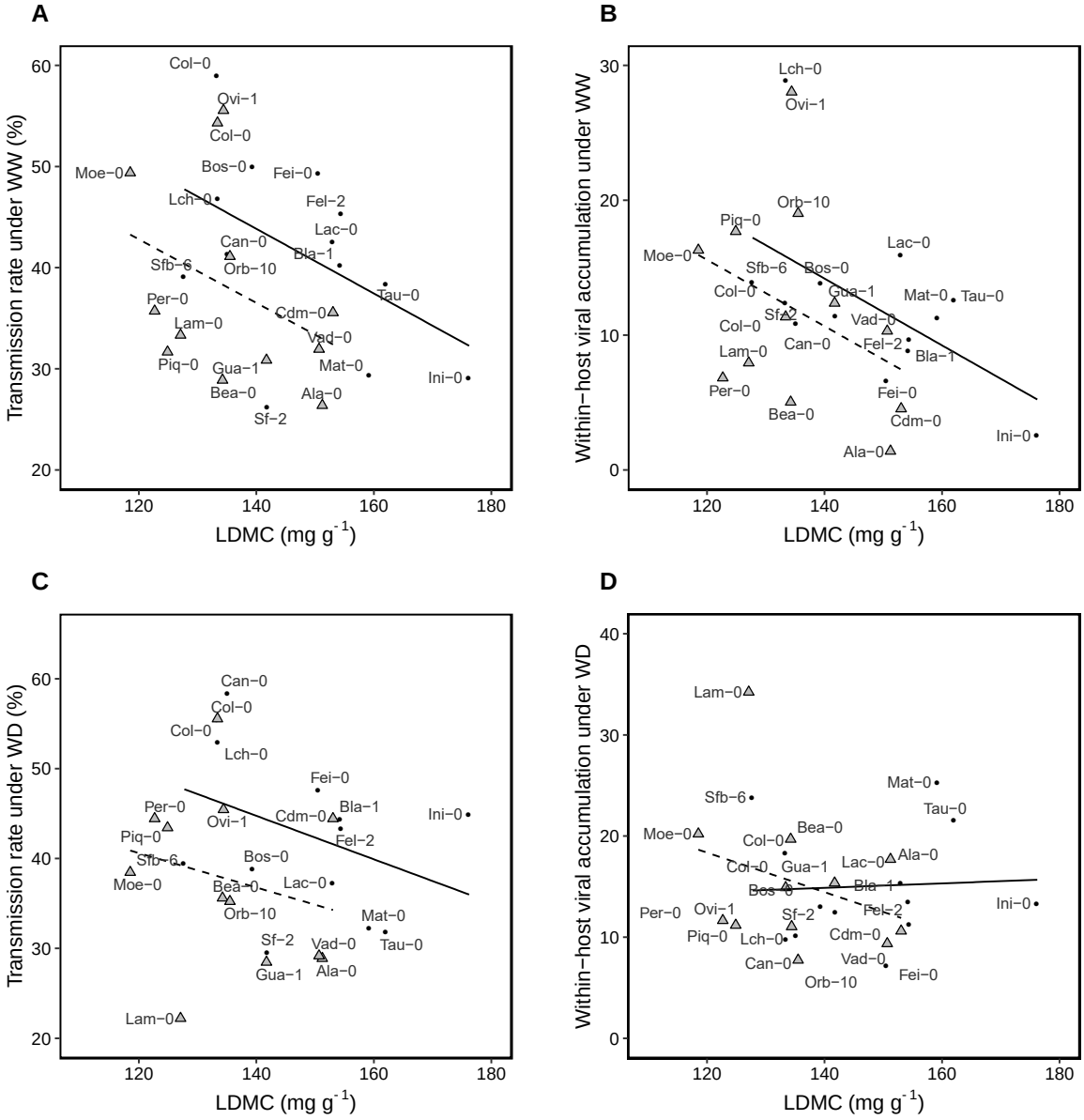


Fig. 5. Relationship between leaf morphological traits and transmission rate of CaMV-infected A. thaliana genotypes under well-watered and water deficit conditions. Relationships of leaf dry matter content (LDMC; mg g-1) measured under control (mock:WW) conditions vs. (A) transmission rate (%) under well-watered (WW) conditions, (B) within-host CaMV accumulation under well-watered (WW) conditions, (C) transmission rate (%) under water deficit (WD) conditions, (D) within-host CaMV accumulation under water deficit (WD) conditions. Each dark circle represents one genotype of experiment 1 and each grey triangle represents one genotype of experiment 2. Data are from experiment 1 and 2 (n = 13 genotypes / experiment, 12-h day length). Lines represent linear regressions (Experiment 1: solid line; experiment 2: dashed line) and statistical analyses were done using a Pearson's: (A) Experiment 1: r = –0.48, P < 0.001 and experiment 2: r = –0.36, P = 0.011; (B) experiment 1: r = –0.56, P

< 0.001 and experiment 2: r = –0.37, P = 0.007; (C) experiment 1: r = –0.36, P = 0.007 and experiment 2: r = –0.23, P = 0.7 and (D) experiment 1: r = 0.05, P = 0.7 and experiment 2: r = –0.32, P = 0.03.

Discussion

Perturbating effects of abiotic stresses on host physiological status might influence the life cycle of viruses and the relationships between viral traits such as within-host accumulation, virulence and vectored-transmission. However experimental data are scarce. Here we investigated the modifications of viral traits and their relationships with plant responses in 24 genotypes of the model plant *A. thaliana* infected with the CaMV and grown under two contrasted watering conditions.

Within-host accumulation, often measured together with the virulence is known to be affected by abiotic stresses (Huang et al., 2012; Matros et al., 2006). This seems intuitive since viral multiplication requires the host machinery and so for is intimately linked to the host physiological status. In our study we measured within-host accumulation in all individual plants using the qPCR technique. Noteworthy, the validity of this method was confirmed by ELISA, allowing the detection of CaMV particles, the functional virus entity. We could then observe that indeed most of the plant genotypes growing under WD showed a virus accumulation altered compared to the WW condition. Hence, this observation was exemplified by a loss of correlation (experiment 1) or a slight negative correlation (experiment 2) suggesting an overall negative effect of WD on virus accumulation. Negative effects of WD on within-host viral accumulation was already shown (Bergès et al., 2018; Nachappa et al., 2016). Moreover, application of the double stress (WD x CaMV infection) or virulence under WD (as measured by reduction of vegetative growth) was overall altered by the WD.

The correlation analysis between the transmission rate under WW and the transmission rate under WD showed that the abiotic stress did not greatly modify the transmission rate in all genotypes, only in few genotypes this trait was significantly altered. While transmission was significantly enhanced in two genotypes, a significant decrease of this parameter was observed in two other ones. In the context of climate change, studies have emerged investigating this major key step in the virus life-cycle in contrasted abiotic environments. A number of studies have been published on the influence of climate change on vector-borne diseases of plants and on their spread. Among these studies, those concerning viruses have long focused either on the

vector biology (e.g. developmental time, longevity, fecundity, migration) or ecology (Richard et al., 2019; Scherm, 2004). While most of these studies speculate on a possible impact of environmental changes on the rate of virus transmission, direct experimental support was totally lacking, or not statistically tested until very recently (Bergès et al., 2018; Chung et al., 2016; Dáder et al., 2016; van Munster et al., 2017; Nachappa et al., 2016; Yvon et al., 2017). Thus, depending of the pathosystem and the abiotic stress applied, results are contrasted but overall these studies show the potential influence of abiotic stresses on virus transmission rate.

When looking at relationships between viral traits under WW we observe that transmission rate was overall positively correlated with within-host accumulation. Positive correlation between these two viral traits was already shown for several other viral pathosystems and is understandable since a strong availability of virus particles within plant cells might lead to a higher chance of acquisition by the vector (Banik and Zitter, 1990; Escriu et al., 2000; Normand and Pirone, 1968). However, under WD condition, other mechanisms than only within-host accumulation might explain changes in virus transmission rate. Indeed, in the specific cases of Can-0 and Ini-0 genotypes that presented a significant increase of transmission rate under WD, within-host accumulation was not involved. Such a lack of correlation between within-host accumulation and an increase of transmission rate was already shown when CaMV- *B. rapa* source plants experienced a severe water deficit (van Munster et al., 2017). It was suggested that this significant increase of the transmission rate would be rather due to a change of the host plant physiological status that could trigger a direct effect on the virus behavior (Gutiérrez et al., 2013). It is now well known that CaMV can ‘sense’ the aphid feeding activity, as well as some abiotic stresses, and immediately and reversibly produce transmissible morphs (Martinière et al., 2013). Such rapid viral reaction actually predisposes the infected plant to a more efficient virus acquisition and transmission by aphid vectors (Gutiérrez et al., 2013; Martinière et al., 2013). This remarkable phenomenon has been designated by the term ‘transmission activation’ and it can be triggered by abiotic stresses such as CO_2 treatments (Drucker and Then, 2015).

Concerning the relationship between within-host accumulation and virulence, results were more contrasted in the optimal condition. While in one group of genotypes (experiment 1) no correlation could be detected between these traits, in the other group (experiment 2), a significant but weak negative correlation was observed. In light of these results we cannot conclude on existence of a correlation in our pathosystem but still, it seems that a tendency to

a negative correlation exists. These data can be compared to what has been previously shown in other viral pathosystems where a higher viral accumulation was associated to more attenuated symptoms or lower dry weight of the host plant (Poulicard et al., 2010; Rodríguez-Cerezo et al., 1991). This ability of the virus to strongly multiply within his host without making a lot of damages can be seen as a better adaptation of the virus in these particular genotypes. Moreover, in the context of plant-parasite co-evolution, recent studies suggest that most viruses abundantly detected in wild plants may not cause obvious disease and some would be even clearly beneficial to their host in extreme environmental conditions, especially WD (Malmstrom et al., 2011; Roossinck, 2015; Xu et al., 2008). Under WD, these correlations were altered highlighting a significant effect of this abiotic stress on CaMV life cycle. Due mainly to the lower within-host accumulation in plants under WD, the relationship between transmission and virus accumulation was reversed. As a result, plants with a lower virus content became significantly better virus transmitters. In the same way, the relationship between accumulation and CaMV virulence was also modified under WD. However, as discussed for the WW condition, due to the marginal significance of the correlation no conclusion on the role of virus accumulation on the level of virulence can be made.

The virulence-transmission trade-off was tested in both conditions. In the WW condition no correlation could be detected in both experiments, while in the WD condition in one of the two experiments (experiment 2) a significant correlation was found expressing the fact that possibly in these genotypes, transmission rate was higher when plants were less impacted by the virus infection. The fact that we were unsuccessful to show a trade-off between these traits might be explained by the fact that one of the two required assumptions to estimate this trade-off (i.e. a positive correlation between within-host accumulation and virulence) was not demonstrated in our model system as discussed previously. Moreover, the trade-off hypothesis is an adaptive hypothesis that supposes a common evolutionary history between the host and the pathogen suggesting an efficient development of the parasite without harming the host (Froissart et al., 2010). As a matter of fact, in particular with the rise of the metagenomics, sequence data collected *in natura* confirm this assumption. Indeed, most of virus-infected plants are asymptomatic (Malmstrom et al., 2011; Roossinck, 2015). In our model system the virus isolate did not co-evolve with plant genotypes since CaMV B-JI was originally isolated from *B. rapa* and fixed by cloning the genome sequence (Delseny and Hull, 1983). Moreover, the trade-off model can be controversial since it might simplify the biological reality by considering

that the virulence and transmission of the parasite are independent of the characteristics of the host (Ebert and Bull, 2003). In fact, these viral traits are the result of multiple interactions within the host, such as the host behavior to counteract the development of the infection once the infection has been initiated (Ebert and Bull, 2003). These relationship on viral traits would be modified in response to abiotic environment (Ebert and Bull, 2003).

Leaf dry matter content (LDMC), a trait related to leaf tissue density and structure, is often considered to be related to leaf robustness and toughness (Kitajima and Poorter, 2010; Poorter et al., 2009). This plant trait was previously shown to be linked to biotic stresses such as herbivory (Pérez-Harguindeguy et al., 2003; Poorter et al., 2009; Schuldt et al., 2012). Indeed, LDMC is believed to be part of an inherent plant strategy to tolerate or to escape this major source of stress (Pérez-Harguindeguy et al., 2003; Schuldt et al., 2012). To date there is no data on a possible link between plant LDMC and virus infection. In our study, we showed that whatever the watering condition, basal LDMC was negatively and significantly correlated to virus accumulation and CaMV vectored-transmission. Thus, a plant genotype harboring denser and/or thicker leaves would have a lower within-host accumulation and a reduced transmission rate. How this physiological plant parameter is possibly linked to a plant defense strategy to counteract virus infection and spread remains hypothetic and deserves further studies.

Materials and Methods

The study system

We selected 24 natural genotypes of *A. thaliana* originated from the Iberian Peninsula and studied in the 1001 genomes Project (Alonso-Blanco et al., 2016). These genotypes were grown in two independent experiments and results further analyzed as such. Col-0 genotype was present in both experiments and was used as a standard to allow the comparison between experiments. Plants were grown under combinations of well-watered (WW) or water deficit (WD), and CaMV-inoculated (CaMV) or mock inoculated (Mock). In summary, four conditions: mock-inoculated:WW (n = 4), mock-inoculated:WD (n = 4), CaMV-infected:WW (n = 15) and CaMV-infected:WD (n = 15) plants per genotype were analyzed in each independent experiment.

Cauliflower mosaic virus isolate Cabb B-JI was routinely propagated by mechanical

inoculation on turnip plants (*Brassica rapa L.ssp rapa* "Just Right") grown in a free-insect greenhouse (Delseny and Hull, 1983).

The colony of the aphid-vector species *M. persicae*, collected over 30 years ago in the south of France was maintained on eggplants (*Solanum melongena*) in insect-proof cages, in a growth chamber at 24/19 °C with a photoperiod of 14/10 h (day/night), in conditions ensuring clonal reproduction. Aphids were transferred to new cages and to new non-infested host plants (*Solanum melongena)* every two weeks, in order to avoid overcrowding and induction of the development of winged morphs.

Experimental design and A. thaliana growth conditions

In these two experiments, plants were grown in the high-throughput phenotyping platform PHENOPSIS. Three seeds were sown at soil surface in 225 ml pots filled with a 30:70 (v/v) mixture of clay and organic compost (Substrate SP 15 % KLASMANN) and randomly placed in the PHENOPSIS growth chamber. Soil water content was estimated for each pot before sowing, as previously described (Granier et al., 2006). Soil surface was moistened with a deionized water, and pots were placed in the PHENOPSIS growth chamber in the dark for two days at 12 °C air temperature and 70 % air relative humidity. Soil surface was moistened with a deionized water, and pots were placed in the PHENOPSIS growth chamber in the dark for two days at 12 °C air temperature and 70 % air relative humidity. Pots were dampened with sprayed deionized water three times a day until germination. After germination phase (*ca.* seven days), plants were cultivated under 12-h photoperiod each day at 200 µmol m^{-2} s^{-1} photosynthetic photon flux density, at plant height. Air temperature was set to 20 °C, and air relative humidity was adjusted in order to maintain constant water vapor pressure deficit (VPD) at 0.6 kPa. At the appearance of the cotyledons, one plant was kept per pot and temperature was set at 21/18 °C day/night while VPD was set at 0.75 kPa. Each pot was daily weighed and watered with deionized water to reach the target soil relative water content (RWC_{soil}). RWC_{soil} was maintained at 1.4 g H_2O g^{-1} dry soil (WW) until application of the treatments. CaMV (or mock) -inoculation or (see below) was performed at the emergence of the 10^{th} rosette leaf. WD was applied one week after inoculation, approximate timing of the first symptoms appearance. Irrigation of half of the CaMV- and mock-inoculated plants was stopped to reach the WD treatment at 0.50 H_2O g^{-1} dry soil, reached after seven days of water deprivation, and then maintained to this value until the end of the experiment. Under WW, RWC_{soil} was maintained

at 1.4 g H_2O g^{-1} dry soil. All environmental data, including daily soil water content, air temperature, and VPD_{air}, are available in the PHENOPSIS database (Fabre et al., 2011).

Measurement of plant traits

Each rosette was cut at 30 dpi and its fresh mass measured (mg). Rosettes were then oven-dried at 65 °C for at least 5 days, and dry masses were determined. From these measurements, leaf dry matter content (LDMC, the ratio of dry mass to water-saturated fresh mass, mg g^{-1}) was calculated at the rosette levels as described in (Perez-Harguindeguy et al., 2013).

Virus purification and plant inoculation of source plants

Virus particles were purified from CaMV-infected *Brassica rapa* according to Hull and Shepherd (1976). The quality and the quantity of purified virus were assessed by polyacrylamide gel electrophoresis under denaturing conditions (12% SDS-PAGE) and by spectrometric measurements at 230, 260 and 280 nm (NanoDrop 2000 spctrophotometer). Virus concentration was estimated by spectrometry using the formula described by Hull and Shepherd (1976).

Viral inoculum was prepared as follows: 1 g of CaMV-infected leaf turnip plant (21 dpi) was grinded in 1 ml of distilled water with carborundum. Purified CaMV particles were then added to this mix at a final concentration of 0.2 mg. ml^{-1} to optimize infection success. Mechanical inoculation occurred on 3-4 weeks-old *A. thaliana* plants (corresponding to 10-12 expanded leaves). Three middle-rank leaves of each plant were inoculated by deposing 10 µl of the inoculum source (see above) on each leaf and gently scrubbing with carborundum. Control group was mock-inoculated in a similar way to mimic the wound induced by mechanical inoculation. Mock-inoculation was performed with a mix containing non-infected turnip plant extract and the buffer used for virus purification (100 mM Tris-HCl, 2.5 mM $MgCl_2$, pH 7). All plants were randomly inoculated, independently of accessions and watering regime. Ten minutes after inoculation, plants were rinsed with water to remove excess of abrasive powder.

Virulence

In this study, the proxy of virulence was defined as the impact of the virus on vegetative growth i.e. plant rosette's dry mass. Plant harvests occurred 30 dpi, after transmission experiments.

Virulence (aggressiveness) was estimated for each genotype as the relative change of mean aboveground dry mass of the rosette as: (Dry $mass_{CaMV\text{-}infected:WW}$ –Dry $mass_{mock\text{-}inoculated:WW}$)*100 /Dry $mass_{mock\text{-}inoculated:WW}$) and (Dry $mass_{CaMV\text{-}infected:WD}$ – Dry $mass_{mock\text{-}inoculated:WW}$)*100 /Dry $mass_{mock\text{-}inoculated:WW}$) and expressed as a percentage of reduction.

Transmission assays

CaMV transmission efficiency was assessed at 30 dpi. Batches of 20 *M. persicae* larvae (L2-L4 instars) were starved for one hour before being transferred at the rosette center of a source plant for virus acquisition. Eleven symptomatic source plants were used per accession and watering treatment. When aphids stopped walking and inserted their stylets into the leaf surface, they were allowed to feed for a short two-minutes period. Viruliferous aphids were then immediately collected in a Petri dish and individually transferred to one-month-old Col-0 plantlets (test plants) grown under non-stressing conditions (one aphid per test plant; nine test plants per source plant). Noteworthy previous experiments showed that CaMV transmission rate (from a virus donor infected plant) did not vary significantly according to the identity of the accession used as test plant (receptor plant) in transmission experiments (Bergès et al., 2018). For practical reasons, we therefore used Col-0 as test plants in subsequent transmission assays. After an inoculation period of three hours, aphids were eliminated by insecticide spray (0.2 % Pirimor G). Test plants were then placed in a growth chamber with the same conditions of air humidity, temperature and light as source plants and maintained under non-stressing conditions. Symptoms of virus infection were recorded 21 days later by visual inspection on test plants, as previously reported (Bergès et al., 2018; van Munster et al., 2017) and virus transmission rate was then calculated. Following transmission experiments, three leaf discs in the center of the rosette were randomly collected on each source plant and stored at –80°C for further nucleic acid extraction and quantification of virus accumulation.

Plant DNA extraction

Total DNA from CaMV-infected samples (pool of three leaf discs collected per plant) was extracted according to a modified Edwards protocol (Edwards et al., 1991) with an additional washing step with 70 % ethanol (eleven biological replicates per accession and treatment). DNA was resuspended in 50 µl of distilled water, and ten-fold dilutions were used as qPCR templates. Quality and quantity of the extracted total nucleic acid were assessed by spectroscopic measurements at 230, 260 and 280 nm (NanoDrop 2000 spectrophotometer).

Within-host viral accumulation

CaMV DNA quantification (eleven biological replicates per accession and treatment) was performed as duplicates by qPCR in 384-well optical plates using the LightCycler FastStart DNA Master Plus SYBRGreen I kit (Roche) in a LightCycler 480 (Roche) thermocycler according to the manufacturer's instructions. Specific primers designed for the quantification of CaMV genome (Ca4443-F: 5'-GACCTAAAAGTCATCAAGCCCA-3' and Ca4557-R: 5'-TAGCTTTGTAGTTGACTACCATACG-3') and two house-keeping genes: *A. thaliana* ubiquitin-conjugating enzyme 21 gene (UBC21; UBC21_At_F: 5'-TGCAACCTCCTCAAGTTCGA-3' and UBC21_At_R: 5'-GCAGGACTCCAAGCATTCTT-3') and *A. thaliana* actin gene (F-Act2: 5'-GACYBTAYGGTAACATTGTGCTC-3' and R-ActBra: 5'-GATCTCTTTGCTCATACGGTCTG-3') were used at a final concentration of 0.3 µM. All qPCR reactions were performed with 40 cycles (95 °C for 15 s, 62 °C for 15 s and 72 °C for 15 s) after an initial step at 95 °C for ten minutes. The qPCR data were analyzed with the LinReg PCR program to account for the efficiency of every single PCR reactions (Ruijter et al., 2009). The absolute initial viral concentration in *A. thaliana* plants, expressed in arbitrary fluorescence units (N_0 CaMV) was divided by that of *A. thaliana* of *UBC21* and *Actine* genes, in order to normalize the amount of plant material analyzed in all samples.

DAS-ELISA

In order to compare viral genome accumulation (by qPCR) with CaMV particles accumulation, we perform ELISA experiments on a small subset of samples (n= 14 genotypes for WW and n = 21 genotypes for WD). CaMV particles accumulation in source plants was evaluated by Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (DAS-ELISA) using the Reagent Set Alkaline Phosphatase SEDIAG Kit for CaMV. After grinding the samples (approximately 100 mg) in liquid nitrogen, and resuspension in 250 µl of H_2O, samples were centrifuged (10 mins, 5000 rcf). Samples were then divided in order to compare both techniques. After addition of 350 µL of buffer (for 1L, 10 g of PVP, 0.5 mL of Tween20, pH 7.3), samples were centrifuged (5 mins, 5000 rcf) to remove leaf debris. ELISA test was performed using a polyclonal CaMV-antibody according to the protocol manufacturers. Presence of viral proteins was revealed using an EPOCH spectrophotometer (Biotek®) by measuring the optical density (OD) at 405 nm every 15 minutes until OD saturation. Controls: plants samples (healthy turnip leaves and CaMV-infected turnip leaves samples), as well as negative and positive controls from the kit were

added to the analysis. Average value of healthy samples (expressed as OD) was subtracted from each sample before calculating the average for each duplicated sample.

Data analyses

All analyzes were performed in the programming environment R (R Core Team, 2017). Each experiment was considered as independent experiments and analyzed separately by integrating Col-0 control genotype present in both experiments. For each genotype, the effects of the treatments on aboveground dry mass, transmission rate, virulence and viral accumulation were analyzed by non-parametric Kruskal-Wallis tests. Bootstrapped 95% confidence intervals (CI) of mean trait values were computed following the *mean_cl_boot* procedure of the HMISC package. Nonlinear models were fitted using the *nls* function and 95% confidence intervals for the parameters of fitted models were computed with *confint* function of the package MASS. Generalized linear models were tested using the *glm* function of the STAT package. Relationships between traits were examined with Pearson's coefficients of correlation (r) using the function cor.test.

Acknowledgements

We thank Rémy Dussaut, Alexis Bediée, Gaelle Rolland and Léa Durand for the technical support and image analysis during the experiments.

Author Contributions Statement

SEB, MvM and DV conceptualized the study. SEB, MvM and DV performed the experiments. SEB, MvM and DV analyzed the data and wrote the original draft. All coauthors edited and reviewed the final version of the paper.

Competing Interests

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Funding

This work was supported by the European Union and the Region Languedoc-Roussillon "Chercheur d'Avenir" (FEDER FSE IEJ 2014-2020; Grant Project "APSEVIR" #2015005464).

Supporting Information

The following Supporting Information is available for this article:

Fig. S1. Relationship between accumulation of CaMV by qPCR or ELISA method of CaMV-infected *A. thaliana* genotypes under well-watered and water deficit conditions.

Fig. S2. Relationship between virulence and transmission rate of CaMV of *A. thaliana* genotypes.

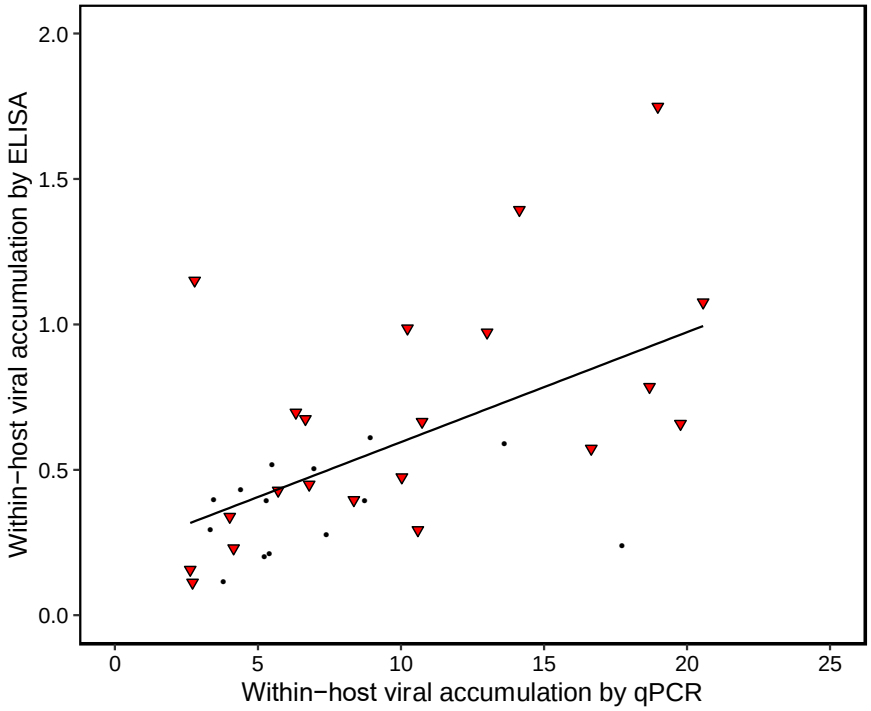


Fig. S1. Relationship between accumulation of CaMV by qPCR or ELISA method of CaMV-infected A. thaliana genotypes under well-watered and water deficit conditions. Each point represents a genotype infected by CaMV under well-watered (WW; dark blue circle; n = 14 genotypes) or water deficit (WD; red triangle; n = 21 genotypes) conditions (12-h day length). Lines represent significant linear regressions ($P < 0.001$).

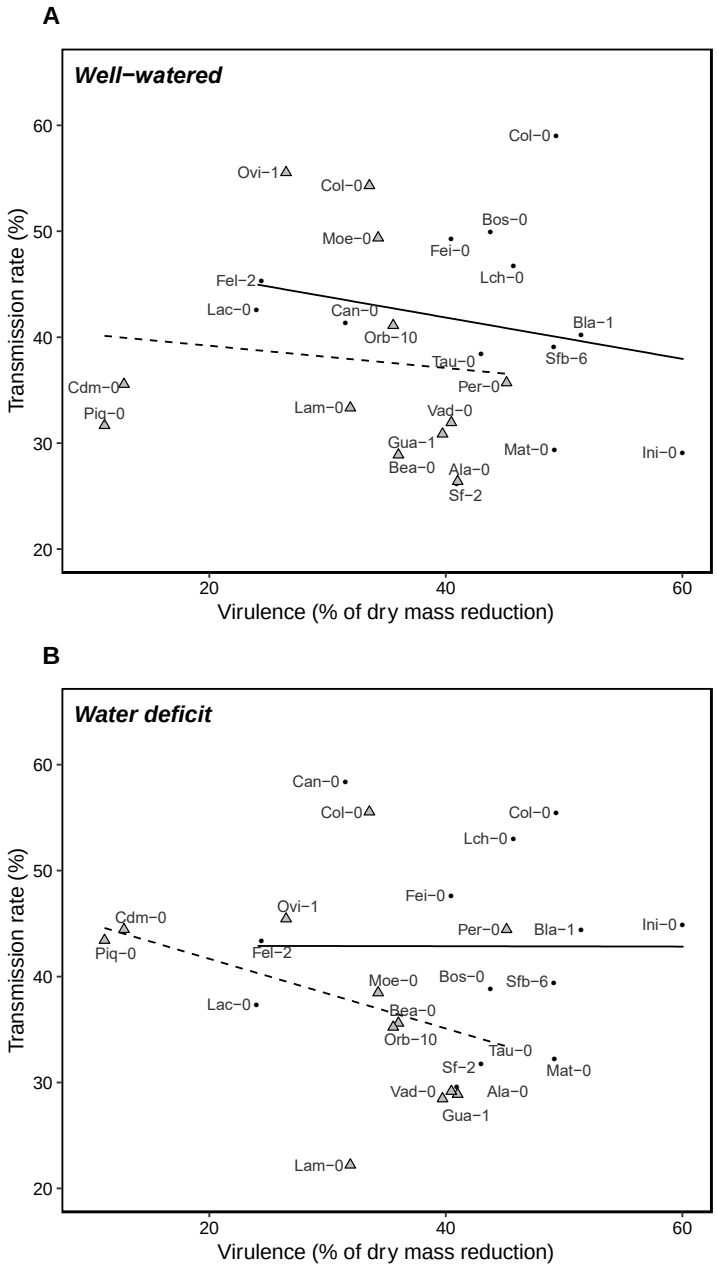


Fig. S2. Relationship between virulence and transmission rate of CaMV of A. thaliana genotypes. Relationship between transmission rate i.e., mean proportion of infected test plants (n = 9 per source plant) and virulence (n = 15; % of dry mass reduction) under well-watered (A) or under water deficit condition (B). Each dark circle represents one genotype of experiment 1 and each grey triangle represents one genotype of experiment 2. Data are from experiment 1 and 2 (n = 13 genotypes / experiment, 12-h day length). Lines represent linear regressions (Experiment 1: solid line; experiment 2: dashed line) and statistical analyses were done using a Pearson's: (A) Experiment 1: r = –0.22, P = 0.11 and experiment 2: r = –0.11, P = 0.44 and (B) experiment 1: r = 0.002, P = 0.9 and experiment 2: r = –0.37, P = 0.009).

References

Aguilar, E., Allende, L., del Toro, F.J., Chung, B.-N., Canto, T., and Tenllado, F. (2015). Effects of Elevated CO2 and Temperature on Pathogenicity Determinants and Virulence of Potato virus X/Potyvirus-Associated Synergism. Mol. Plant. Microbe Interact. *28*, 1364–1373.

Alizon, S., Hurford, A., Mideo, N., and Van Baalen, M. (2009). Virulence evolution and the trade-off hypothesis: history, current state of affairs and the future. J. Evol. Biol. *22*, 245–259.

Alonso-Blanco, C., Andrade, J., Becker, C., Bemm, F., Bergelson, J., Borgwardt, K.M., Cao, J., Chae, E., Dezwaan, T.M., Ding, W., et al. (2016). 1,135 Genomes Reveal the Global Pattern of Polymorphism in Arabidopsis thaliana. Cell *166*, 481–491.

Anderson, R.M., and May, R.M. (1982). Coevolution of hosts and parasites. Parasitology *85*, 411–426.

Ballaré, C.L. (2014). Light Regulation of Plant Defense.

Banik, M.T., and Zitter, T.A. (1990). Determination of cucumber mosaic virus titer in muskmelon by enzyme-linked immunosorbent assay and correlation with aphid transmission. Plant Dis. *74*, 857–859.

Bergès, S.E., Vile, D., Vazquez-Rovere, C., Blanc, S., Yvon, M., Bédiée, A., Rolland, G., Dauzat, M., and van Munster, M. (2018). Interactions Between Drought and Plant Genotype Change Epidemiological Traits of Cauliflower mosaic virus. Front. Plant Sci. *9*.

Berthelot, E., Ducousso, M., Macia, J.-L., Bogaert, F., Baecker, V., Thébaud, G., Gallet, R., Yvon, M., Blanc, S., Khelifa, M., et al. (2019). Turnip mosaic virus is a second example of a virus using transmission activation for plant-to-plant propagation by aphids. J. Virol. JVI.01822-18.

Blanc, S., Uzest, M., and Drucker, M. (2011). New research horizons in vector-transmission of plant viruses. Curr. Opin. Microbiol. *14*, 483–491.

Bosquee, E., Boullis, A., Bertaux, M., Francis, F., and Verheggen, F.J. (2018). Dispersion of Myzus persicae and transmission of Potato virus Y under elevated CO2 atmosphere. Entomol. Exp. Appl. *166*.

Bragard, C., Caciagli, P., Lemaire, O., Lopez-Moya, J.J., MacFarlane, S., Peters, D., Susi, P., and Torrance, L. (2013). Status and prospects of plant virus control through interference with vector transmission. Annu. Rev. Phytopathol. *51*, 177–201.

Canto, T., and Palukaitis, P. (2002). Novel N Gene-Associated, Temperature-Independent Resistance to the Movement of Tobacco Mosaic Virus Vectors Neutralized by a Cucumber Mosaic Virus RNA1 Transgene. J. Virol. *76*, 12908–12916.

Chandra-Shekara, A.C., Gupte, M., Navarre, D., Raina, S., Raina, R., Klessig, D., and Kachroo, P. (2006). Light-dependent hypersensitive response and resistance signaling against Turnip Crinkle Virus in Arabidopsis. Plant J. *45*, 320–334.

606 Chung, B.N., Canto, T., Tenllado, F., Choi, K.S., Joa, J.H., Ahn, J.J., Kim, C.H., and Do, K.S.
607 (2016). The Effects of High Temperature on Infection by Potato virus Y, Potato virus A, and
608 Potato leafroll virus. Plant Pathol. J. *32*, 321–328.

609 Dáder, B., Fereres, A., Moreno, A., and Trębicki, P. (2016). Elevated CO2 impacts bell pepper
610 growth with consequences to Myzus persicae life history, feeding behaviour and virus
611 transmission ability. Sci. Rep. *6*.

612 Delseny, M., and Hull, R. (1983). Isolation and characterization of faithful and altered clones
613 of the genomes of cauliflower mosaic virus isolates Cabb B-JI, CM4-184, and Bari I. Plasmid
614 *9*, 31–41.

615 Doumayrou, J., Avellan, A., Froissart, R., and Michalakis, Y. (2013). An experimental test of
616 the transmission-virulence trade-off hypothesis in a plant virus. Evolution *67*, 477–486.

617 Drucker, M., and Then, C. (2015). Transmission activation in non-circulative virus
618 transmission: a general concept? Curr. Opin. Virol. *15*, 63–68.

619 Ebert, D., and Bull, J.J. (2003). Challenging the trade-off model for the evolution of virulence:
620 is virulence management feasible? Trends Microbiol. *11*, 15–20.

621 Edwards, K., Johnstone, C., and Thompson, C. (1991). A simple and rapid method for the
622 preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. Nucleic Acids Res. *19*, 1349.

623 Escriu, F., Perry, K.L., and García-Arenal, F. (2000). Transmissibility of Cucumber mosaic
624 virus by Aphis gossypii Correlates with Viral Accumulation and Is Affected by the Presence of
625 Its Satellite RNA. Phytopathology *90*, 1068–1072.

626 Ewald, P.W. (1983). Host-Parasite Relations, Vectors, and the Evolution of Disease Severity.
627 Annu. Rev. Ecol. Syst. *14*, 465–485.

628 Fabre, J., Dauzat, M., Nègre, V., Wuyts, N., Tireau, A., Gennari, E., Neveu, P., Tisné, S.,
629 Massonnet, C., Hummel, I., et al. (2011). PHENOPSIS DB: an information system for
630 Arabidopsis thaliana phenotypic data in an environmental context. BMC Plant Biol. *11*, 77.

631 Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, S.M.A. (2009). Plant drought
632 stress: effects, mechanisms and management. Agron. Sustain. Dev. *29*, 185–212.

633 Froissart, R., Doumayrou, J., Vuillaume, F., Alizon, S., and Michalakis, Y. (2010). The
634 virulence–transmission trade-off in vector-borne plant viruses: a review of (non-)existing
635 studies. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. *365*, 1907–1918.

636 Gal-On, A. (2007). Zucchini yellow mosaic virus: insect transmission and pathogenicity —the
637 tails of two proteins. Mol. Plant Pathol. *8*, 139–150.

638 Granier, C., Aguirrezabal, L., Chenu, K., Cookson, S.J., Dauzat, M., Hamard, P., Thioux, J.-J.,
639 Rolland, G., Bouchier-Combaud, S., Lebaudy, A., et al. (2006). PHENOPSIS, an automated
640 platform for reproducible phenotyping of plant responses to soil water deficit in Arabidopsis
641 thaliana permitted the identification of an accession with low sensitivity to soil water deficit.
642 New Phytol. *169*, 623–635.

643 Gupta, A., and Senthil-Kumar, M. (2017). Concurrent Stresses Are Perceived as New State of
644 Stress by the Plants: Overview of Impact of Abiotic and Biotic Stress Combinations. In Plant
645 Tolerance to Individual and Concurrent Stresses, (Springer, New Delhi), pp. 1–15.

646 Gutiérrez, S., Michalakis, Y., Van Munster, M., and Blanc, S. (2013). Plant feeding by insect
647 vectors can affect life cycle, population genetics and evolution of plant viruses. Funct. Ecol. *27*,
648 610–622.

649 Huang, L., Ren, Q., Sun, Y., Ye, L., Cao, H., and Ge, F. (2012). Lower incidence and severity
650 of tomato virus in elevated CO 2 is accompanied by modulated plant induced defence in tomato:
651 Elevated CO 2 alters plant resistance to virus. Plant Biol. *14*, 905–913.

652 Hull, R. (1994). Molecular Biology of Plant Virus-Vector Interactions. In Advances in Disease
653 Vector Research, K.F. Harris, ed. (New York, NY: Springer New York), pp. 361–386.

654 Jones, R.A.C. (2009). Plant virus emergence and evolution: Origins, new encounter scenarios,
655 factors driving emergence, effects of changing world conditions, and prospects for control.
656 Virus Res. *141*, 113–130.

657 Kitajima, K., and Poorter, L. (2010). Tissue-level leaf toughness, but not lamina thickness,
658 predicts sapling leaf lifespan and shade tolerance of tropical tree species. New Phytol. *186*,
659 708–721.

660 Malmstrom, C.M., Melcher, U., and Bosque-Pérez, N.A. (2011). The expanding field of plant
661 virus ecology: Historical foundations, knowledge gaps, and research directions. Virus Res. *159*,
662 84–94.

663 Martinière, A., Bak, A., Macia, J.-L., Lautredou, N., Gargani, D., Doumayrou, J., Garzo, E.,
664 Moreno, A., Fereres, A., Blanc, S., et al. (2013). A virus responds instantly to the presence of
665 the vector on the host and forms transmission morphs. ELife *2*, e00183.

666 Matros, A., Amme, S., Kettig, B., Buck-Sorlin, G.H., Sonnewald, U., and Mock, H.-P. (2006).
667 Growth at elevated CO2 concentrations leads to modified profiles of secondary metabolites in
668 tobacco cv. SamsunNN and to increased resistance against infection with potato virus Y. Plant
669 Cell Environ. *29*, 126–137.

670 Montes, N., and Pagán, I. (2019). Light Intensity Modulates the Efficiency of Virus Seed
671 Transmission through Modifications of Plant Tolerance. Plants *8*, 304.

672 van Munster, M., Yvon, M., Vile, D., Dader, B., Fereres, A., and Blanc, S. (2017). Water deficit
673 enhances the transmission of plant viruses by insect vectors. PLOS ONE *12*, e0174398.

674 Nachappa, P., Culkin, C.T., Saya, P.M.I., Han, J., and Nalam, V.J. (2016). Water Stress
675 Modulates Soybean Aphid Performance, Feeding Behavior, and Virus Transmission in
676 Soybean. Front. Plant Sci. *7*.

677 Normand, R.A., and Pirone, T.P. (1968). Differential transmission of strains of cucumber
678 mosaic virus by aphids. Virology *36*, 538–544.

679 Obrępalska-Stęplowska, A., Renaut, J., Planchon, S., Przybylska, A., Wieczorek, P., Barylski,
680 J., and Palukaitis, P. (2015). Effect of temperature on the pathogenesis, accumulation of viral
681 and satellite RNAs and on plant proteome in peanut stunt virus and satellite RNA-infected
682 plants. Front. Plant Sci. *6*.

683 Pagán, I., Fraile, A., Fernandez-Fueyo, E., Montes, N., Alonso-Blanco, C., and García-Arenal,
684 F. (2010). Arabidopsis thaliana as a model for the study of plant–virus co-evolution. Philos.
685 Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. *365*, 1983–1995.

686 Pandey, P., Ramegowda, V., and Senthil-Kumar, M. (2015). Shared and unique responses of
687 plants to multiple individual stresses and stress combinations: physiological and molecular
688 mechanisms. Front. Plant Sci. *6*.

689 Pariaud, B., Ravigné, V., Halkett, F., Goyeau, H., Carlier, J., and Lannou, C. (2009).
690 Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. Plant Pathol. *58*, 409–424.

691 Parizipour, M.H.G., Ramazani, L., and Sardrood, B.P. (2018). Temperature affected
692 transmission, symptom development and accumulation of Wheat dwarf virus. Plant Prot. Sci.
693 *54 (2018)*, 222–233.

694 Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Vendramini, F., Cornelissen, J.H.C., Gurvich, D.E., and
695 Cabido, M. (2003). Leaf traits and herbivore selection in the field and in cafeteria experiments:
696 LEAF TRAITS, HERBIVORY AND PREFERENCE. Austral Ecol. *28*, 642–650.

697 Perez-Harguindeguy, N., Diaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., Bret-
698 Harte, M.S., Cornwell, W.K., Craine, J.M., Gurvich, D.E., et al. (2013). New handbook for
699 standardised measurement of plant functional traits worldwide. Aust. J. Bot. *61*, 167–234.

700 Poorter, H., Niinemets, Ü., Poorter, L., Wright, I.J., and Villar, R. (2009). Causes and
701 consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. New Phytol. *182*, 565–
702 588.

703 Poulicard, N., Pinel-Galzi, A., Hebrard, E., and Fargette, D. (2010). Why Rice yellow mottle
704 virus, a rapidly evolving RNA plant virus, is not efficient at breaking rymv1-2 resistance. Mol.
705 Plant Pathol. *11*, 145–154.

706 R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation
707 for Statistical Computing.

708 Rejeb, I.B., Pastor, V., and Mauch-Mani, B. (2014). Plant Responses to Simultaneous Biotic
709 and Abiotic Stress: Molecular Mechanisms. Plants *3*, 458–475.

710 Richard, G., Le Trionnaire, G., Danchin, E., and Sentis, A. (2019). Epigenetics and insect
711 polyphenism: mechanisms and climate change impacts. Curr. Opin. Insect Sci. *35*, 138–145.

712 Rodríguez-Cerezo, E., Klein, P.G., and Shaw, J.G. (1991). A determinant of disease symptom
713 severity is located in the 3'-terminal noncoding region of the RNA of a plant virus. Proc. Natl.
714 Acad. Sci. *88*, 9863–9867.

715 Roossinck, M.J. (2015). Plants, viruses and the environment: Ecology and mutualism. Virology
716 *479–480*, 271–277.

717 Ruijter, J.M., Ramakers, C., Hoogaars, W.M.H., Karlen, Y., Bakker, O., Hoff, M.J.B. van den,
718 and Moorman, A.F.M. (2009). Amplification efficiency: linking baseline and bias in the
719 analysis of quantitative PCR data. Nucleic Acids Res. *37*, e45.

720 Rymaszewski, W., Granier, C., Vile, D., Dauzat, M., Hennig, J., Kamrowska, D., Bédiée, A.,
721 and Luchaire, N. (2017). Stress-response gene expression reflects morpho-physiological
722 responses to water deficit. Plant Physiol.

723 Scherm, H. (2004). Climate change: can we predict the impacts on plant pathology and pest
724 management? Can. J. Plant Pathol. *26*, 267–273.

725 Schuldt, A., Bruelheide, H., Durka, W., Eichenberg, D., Fischer, M., Kröber, W., Härdtle, W.,
726 Ma, K., Michalski, S.G., Palm, W.-U., et al. (2012). Plant traits affecting herbivory on tree
727 recruits in highly diverse subtropical forests. Ecol. Lett. *15*, 732–739.

728 Singh, A., Permar, V., Basavaraj, A., Bhoopal, S.T., and Praveen, S. (2018). Effect of
729 Temperature on Symptoms Expression and Viral RNA Accumulation in Groundnut Bud
730 Necrosis Virus Infected Vigna unguiculata. Iran. J. Biotechnol. *16*, 227–234.

731 Suntio, T., and Mäkinen, K. (2012). Abiotic stress responses promote Potato virus A infection
732 in Nicotiana benthamiana: Ca2+ and Potato virus A infection. Mol. Plant Pathol. *13*, 775–784.

733 Szczepaniec, A., and Finke, D. (2019). Plant-Vector-Pathogen Interactions in the Context of
734 Drought Stress. Front. Ecol. Evol. *7*.

735 del Toro, F.J., Choi, K.S., Rakhshandehroo, F., Aguilar, E., Tenllado, F., and Canto, T. (2019).
736 Ambient conditions of elevated temperature and CO2 levels are detrimental to the probabilities
737 of transmission by insects of a Potato virus Y isolate and to its simulated prevalence in the
738 environment. Virology *530*, 1–10.

739 Wintermantel, W.M., Cortez, A.A., Anchieta, A.G., Gulati-Sakhuja, A., and Hladky, L.L.
740 (2008). Co-Infection by Two Criniviruses Alters Accumulation of Each Virus in a Host-
741 Specific Manner and Influences Efficiency of Virus Transmission. Phytopathology *98*, 1340–
742 1345.

743 Xu, P., Chen, F., Mannas, J.P., Feldman, T., Sumner, L.W., and Roossinck, M.J. (2008). Virus
744 infection improves drought tolerance. New Phytol. *180*, 911–921.

745 Yvon, M., Vile, D., Brault, V., Blanc, S., and van Munster, M. (2017). Drought reduces
746 transmission of Turnip yellows virus, an insect-vectored circulative virus. Virus Res. 131–136.

747 Zhang, H., and Sonnewald, U. (2017). Differences and commonalities of plant responses to
748 single and combined stresses. Plant J. *90*, 839–855.

749 Zhang, X., Zhang, X., Singh, J., Li, D., and Qu, F. (2012). Temperature-Dependent Survival of
750 Turnip Crinkle Virus-Infected Arabidopsis Plants Relies on an RNA Silencing-Based Defense
751 That Requires DCL2, AGO2, and HEN1. J. Virol. *86*, 6847–6

DISCUSSION GENERALE

1- Facteurs explicatifs des changements induits sur la transmission virale par un déficit hydrique

La transmission virale par vecteur est une étape importante pour assurer la survie d'un virus au sein d'un écosystème (Bragard et al., 2013). Nous avons montré que le déficit hydrique (WD) modifiait de manière significative et contrastée la transmission et l'accumulation du CaMV chez plusieurs génotypes d'*A. thaliana.* Ces résultats sont à rapprocher d'autres études montrant également l'effet d'un déficit hydrique ou d'autres stress abiotiques sur ces traits viraux (stress salins, forte température, teneur élevée en CO_2 atmosphérique) (Aguilar et al., 2015; Dáder et al., 2016; Huang et al., 2012; van Munster et al., 2017; Parizipour et al., 2018; Suntio and Mäkinen, 2012; del Toro et al., 2019; Yvon et al., 2017).

a. Comportement alimentaire des pucerons sur des plantes en déficit hydrique

Nous avons présenté dans l'introduction de cette thèse l'influence possible des stress abiotiques sur le comportement alimentaire du vecteur et donc sur la transmission. Le statut physiologique de la plante hôte lorsqu'il est affecté peut ainsi entrainer une altération du comportement alimentaire du puceron et par conséquence avoir également un effet sur la transmission virale (Dáder et al., 2016; Nachappa et al., 2016; Yvon et al., 2017). Dans le cas des virus circulants, qui nécessitent de longues périodes de prise de nourriture afin d'acquérir le virus, les interactions vecteur-plante hôte sont indiscutables. Ainsi il a été montré que l'acquisition du *Turnip yellows virus*, un virus restreint au phloème, était réduite de manière très importante lorsque la plante hôte subissait un WD sévère (Yvon et al., 2017). Cela a pu être corrélé directement à la quantité de virus ingérée par le puceron vecteur et donc d'un changement de comportement alimentaire de celui-ci. En effet des études antérieures ont montré qu'afin de compenser une sève élaborée rendue trop riche (concentration en sucres) et éviter une déshydratation, les pucerons se nourrissaient davantage dans la sève brute lors d'un WD (Pompon et al., 2010, 2011; Vickers, 2012). De même, le puceron *Acyrthosiphon pisum* a une phase de prise de nourriture réduite dans le phloème de *Medicago truncatula* lors d'un WD (Guo et al., 2016) suggérant l'importance d'un potentiel hydrique relativement élevé pour une prise de nourriture efficace dans le phloème (Huberty and Denno, 2004).

Des expériences préliminaires d'EPG afin de caractériser le comportement alimentaire de *M. persicae* sur navet (*B. rapa*) infecté ou non par le CaMV en condition contrôle ou de WD ont été réalisées au laboratoire BGPI. Ces études ont été réalisées sur ce pathosystème car une

forte augmentation de la transmission du CaMV a été observée en cas de WD (van Munster et al., 2017). Des paramètres critiques (nombre de ponctions et temps d'ingestion) en lien avec l'acquisition du virus ont été étudiés. En particulier la phase II-3 correspondant à l'ingestion de sève, et donc à la phase d'acquisition de ce virus non circulant a été étudiée (Tjallingii, 1988). Il n'a pas été possible de démontrer de différences significatives au niveau de cette phase selon les différents traitements testés. De même le nombre de ponctions réalisées par le puceron n'est pas plus important sur des plantes en WD, ce qui aurait pu montrer une plus grande chance d'acquérir le virus et ainsi expliquer une augmentation de la transmission dans certains cas (A. Fereres, Instituto de Ciencias Agrarias, Madrid ; communication personnelle). Au vu de ces résultats qui restent cependant à confirmer chez *A. thaliana*, il ne semble pas que le comportement alimentaire du puceron dans le cas du CaMV, soit critique et d'autres mécanismes doivent intervenir.

b. L'accumulation virale

Sachant que l'accumulation virale intra-hôte pouvait être corrélée à la transmission en condition optimale d'irrigation (Banik and Zitter, 1990), nous avons tenté de corréler ces deux traits viraux lors d'un déficit hydrique (Chapitre 3 ; Article 3). La corrélation positive entre ces deux traits suppose que si un trait est modifié, l'autre trait est proportionnellement altéré. Cependant, dans notre étude même si l'on retrouve une corrélation positive entre la transmission et l'accumulation virale en condition optimale d'irrigation, cette corrélation est renversée et devient négative en cas de WD. Ainsi il n'est pas possible de corréler un niveau plus élevé de transmission avec une accumulation accrue.

c. La perception des voies de signalisation activées en cas de déficit hydrique

Il est ainsi probable que l'augmentation significative de la transmission observée dans quelques génotypes soient due aux caractéristiques intrinsèques du CaMV, en l'occurrence sa capacité à percevoir la présence du vecteur ou d'autres types de stress comme décrit dans l'introduction. Cette perception du stress subi par l'hôte passe vraisemblablement par l'activation des voies de signalisation. En effet, la signalisation calcique est impliquée dans la modification du comportement intracellulaire du CaMV (Martinière et al., 2013). Sachant que les voies de signalisation induites par un stress biotique (présence du puceron sur la plante) sont partiellement redondantes avec celles induites par d'autres types de stress (y compris des stress environnementaux subis par les plantes), il est tentant d'imaginer que le CaMV pourrait sentir

certains stress abiotiques et y répondre de la même manière qu'il répondrait à son insecte vecteur, en augmentant sa transmissibilité. Cette hypothèse pourrait être confirmée par une étude approfondie de la relocalisation des différents partenaires viraux au niveau cellulaire en condition de WD. En réalisant des coupes de feuilles infectées par le CaMV et marquées à l'aide d'anticorps anti-P2 il serait possible de voir s'il existe une relocalisation plus importante sur les microtubules de la protéine « Helper » en cas de WD.

Comme mentionné précédemment dans l'introduction, la voie de signalisation ABA ainsi que les ROS sont impliquées dans les réponses aux stress abiotiques et dans les voies de défenses contre divers pathogènes dont les virus (fermeture des stomates, dépôt de callose au niveau des plasmodesmes, altération de la voie du silencing antiviral) (Alazem and Lin, 2017). Des résultats préliminaires obtenus dans le cadre d'un Master 1 (Dussaut, 2018) laissent supposer un rôle majeur de l'ABA dans la transmission et ce au niveau de la phase d'acquisition du virus. En effet, lorsque l'on utilise un mutant Col-0 *pyr/pyl* insensible à l'ABA en condition de WD, le CaMV est significativement moins bien acquis (et donc *in fine* moins bien transmis) que les mêmes plantes en condition bien irriguée. L'hormone JA pourrait aussi avoir un rôle important dans ces processus au vu de leur importance dans la réponse des plantes aux pathogènes et en particulier au virus. Ces résultats demandent à être confirmés mais il est d'ores et déjà certain que l'utilisation de mutants d'*A. thaliana* affectés dans les voies de signalisation hormonales pourrait permettre d'évaluer l'importance de ces voies dans le processus de transmission du virus.

d. Rôle de la morphologie foliaire

Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés également au rôle que pouvait avoir la morphologie des feuilles des plantes et plus particulièrement la teneur en matière sèche (« leaf dry matter content » ; LDMC) sur la transmission et sur l'accumulation virale (Chapitre 3 ; Article 3). Le LDMC est un proxy qui permet d'évaluer la densité des tissus de la feuille. Celui-ci est souvent considéré comme lié à la robustesse des feuilles (Kitajima et Poorter, 2010; Poorter et al., 2009). Il a été démontré que ce paramètre était lié aux stress biotiques tels qu'une attaque par des herbivores (Pérez-Harguindeguy et al., 2003; Poorter et al., 2009; Schuldt et al., 2012). En effet, le LDMC est considéré comme une stratégie inhérente des plantes pour tolérer ou échapper à cette source majeure de stress qui affecte le développement des feuilles en influençant le schéma normal de croissance et d'expansion des feuilles (Pérez-Harguindeguy et al., 2003; Schuldt et al., 2012). Dans l'étude 3, nous avons montré que, quelles que soient les

conditions d'irrigation, la valeur de LDMC déterminée en condition non stressante était corrélée de manière négative et significative à l'accumulation de virus et à la transmission du CaMV. Ainsi, les génotypes d'*A. thaliana* ayant des feuilles plus denses présentent une accumulation du CaMV plus faible et une transmission réduite comparée à des génotypes ayant des feuilles moins denses ou plus fines (Chapitre 3 ; Article 3).

La manière dont ce paramètre physiologique de la plante est éventuellement lié à une stratégie de défense de la plante visant à lutter contre l'infection virale et sa propagation inter-hôte reste hypothétique et mérite des études complémentaires. Des tissus foliaires plus épais pourraient influencer le comportement alimentaire du vecteur mais cette hypothèse reste à être vérifier par des techniques d'EPG (Electropénétrographie). Cette technique consiste à l'aide d'un circuit « électrique » fermé, d'observer via des oscillations électrique, l'activité de piqure du puceron sur la plante hôte. De même, la teneur en eau des tissus ou le nombre de trichomes (fines excroissances ou appendices à la surface des feuilles) pourraient influencer le comportement alimentaire du puceron en provoquant une gêne mécanique. Nous n'avons cependant pas exploré les relations entre ces deux traits et les traits viraux dans le cadre de cette thèse.

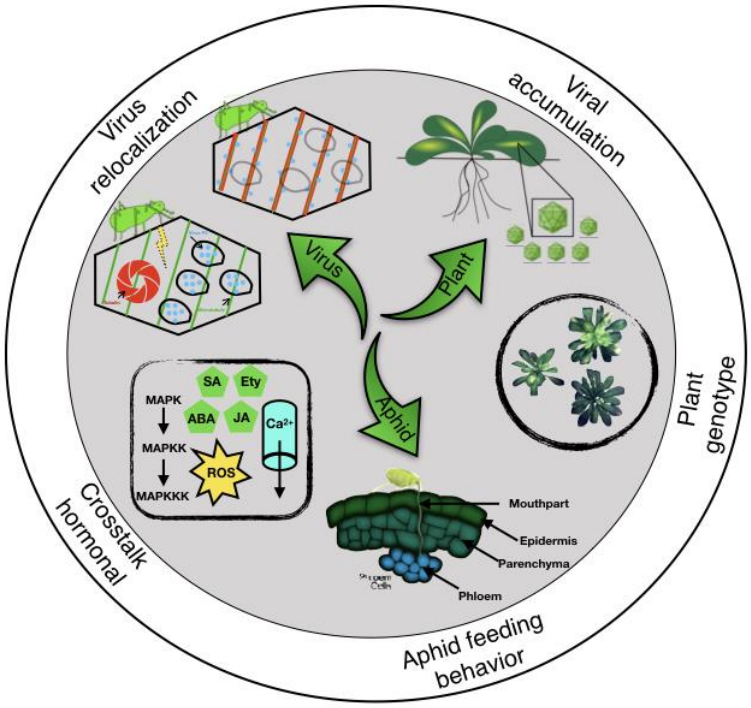


Figure 1 : Représentation schématique de l'ensemble des facteurs pouvant expliquer les changements induits sur la transmission virale lors d'un déficit hydrique.

2- Les relations entre les traits viraux

Au cours de ce travail, nous avons tenté de corréler trois traits viraux majeurs : l'accumulation intra-hôte, la virulence et la transmission par vecteur et ce en condition optimale ou de déficit hydrique (Chapitre 1 et 3 ; Article 1 et 3). Les résultats sont contrastés suivant les trois expériences des deux études réalisées. En effet, dans le cas de l'étude sur neuf génotypes d'*A. thaliana* infectés par le CaMV, nous avons mis en évidence l'existence d'une corrélation entre la transmission et la virulence en condition optimale (Chapitre 1 ; Article 1). Dans le cadre des deux expériences de l'étude 3 (Chapitre 3, Article 3), nous n'avons en revanche trouvé aucune corrélation significative entre ces deux traits. Il est à noter que ces études présentent quelques différences, notamment la durée de la phase lumineuse (8 h vs. 12 h) appliquée pour la culture des plantes ainsi qu'un protocole d'inoculation du virus légèrement différent *via* un contrôle plus précis de la quantité de virus déposé sur les feuilles dans les études 2 et 3. Grâce à la présence du génotype Col-0 dans toutes les études, qui joue le rôle de témoin, nous avons pu noter que la différence de photopériode interagissait vraisemblablement avec les traits viraux. En effet, les données de virulence chez Col-0 sont significativement différentes entre l'expérience à 8-h de photopériode (C3M28) et les deux expériences à 12-h de photopériode (C2M44 et C2M45 ; Figure 2A) à cause de la taille des plantes en condition témoin (mock-inoculated:WW) qui est beaucoup plus faible dans l'expérience C3M28. Les données de transmission ne sont pas significativement différentes entre les trois expériences (Figure 2B). De plus, l'accumulation du CaMV en WW est identique dans les trois expériences alors qu'elle diffère en WD entre l'expérience à 8-h de photopériode (C3M28) et les deux expériences à 12-h de photopériode (C2M44 et C2M45 ; Figure 2C). Dans les deux expériences de l'étude 3, les données de transmission et d'accumulation du CaMV sont similaires (Col-0_C2M44 et C2M45 ; Figure 2B et C). Par contre, aucun effet du WD sur l'accumulation ou la transmission du CaMV n'a été mis en évidence dans les trois expériences.

En condition optimale d'irrigation une corrélation positive et significative entre la transmission et l'accumulation virale est détectée de manière robuste (Chapitre 3 ; Article 3). En revanche, en ce qui concerne la relation entre l'accumulation et la virulence, les résultats sont plus contrastés. Alors que dans un groupe de génotypes aucune corrélation n'est détectée, dans l'autre groupe, une légère corrélation négative mais significative est observée. À la lumière de ces résultats, nous ne pouvons pas conclure à l'existence d'une corrélation entre accumulation et virulence dans notre pathosystème, mais il semble néanmoins qu'il existerait

une tendance à une corrélation négative. Ces données peuvent être comparées à ce qui avait été démontré auparavant dans d'autres pathosystèmes viraux, où une accumulation plus élevée de virus était associée à des symptômes plus atténués ou à un poids sec plus faible de la plante hôte (Doumayrou et al., 2013b; Poulicard et al., 2010; Rodríguez-Cerezo et al., 1991).

Nous avons évoqué dans l'article 3 la possibilité d'une erreur d'interprétation lors de la quantification virale due à la méthode de quantification (Chapitre 3). En effet, la quantification de l'ADN viral par qPCR n'a pas de valeur biologique dans le sens qu'elle ne représente pas la quantité réelle de particules virales disponibles pour le puceron lors des expériences de transmission. Nous avons donc vérifié par ELISA qu'il y avait une bonne corrélation entre ces deux techniques de quantification, ce qui est le cas ($r = 0,55$, $p < 0,001$).

L'hypothèse du « trade-off » ou du compromis évolutif qui est une corrélation entre virulence et transmission repose sur la coévolution entre la souche virale et la plante hôte (Froissart et al., 2010a). Cela n'est pas le cas dans notre étude car même si *A. thaliana* est un hôte naturel du CaMV, la souche virale (Cab B-JI) provient d'une collection virale isolée à partir de *B. rapa* et fixée par clonage de la séquence du génome (Delseny and Hull, 1983). Il serait intéressant de réaliser une véritable étude du « trade-off » avec le même protocole expérimental que celui utilisé au cours de ce travail de thèse en utilisant des isolats viraux du CaMV trouvés *in natura* sur son hôte *A. thaliana*.

Nous avons ensuite étudié l'influence d'un changement d'environnement de la plante hôte (WD) sur les relations entre les traits viraux. Dans le cadre de la première étude, le WD a rompu la corrélation entre la virulence et la transmission du CaMV (Article 1 ; Chapitre 1). Dans le cas de la troisième étude, la relation entre transmission et accumulation du virus positive en condition optimale se retrouve inversée, principalement à cause de la faible accumulation au sein de l'hôte chez les plantes sous WD (Chapitre 3 ; Article 3). Une traduction de cette corrélation négative observée en cas de WD est que les plantes ayant une plus faible accumulation virale auraient une plus forte capacité à transmettre le virus. De la même manière, la relation entre l'accumulation et la virulence du CaMV est également modifiée sous WD. Cependant, comme indiqué pour la condition bien irriguée, en raison de la signification marginale de la corrélation, aucune conclusion sur le rôle de l'accumulation de virus sur le niveau de virulence ne peut être tirée. Néanmoins de manière générale l'impact de WD sur la plante hôte a induit des modifications des caractères viraux et de leurs relations.

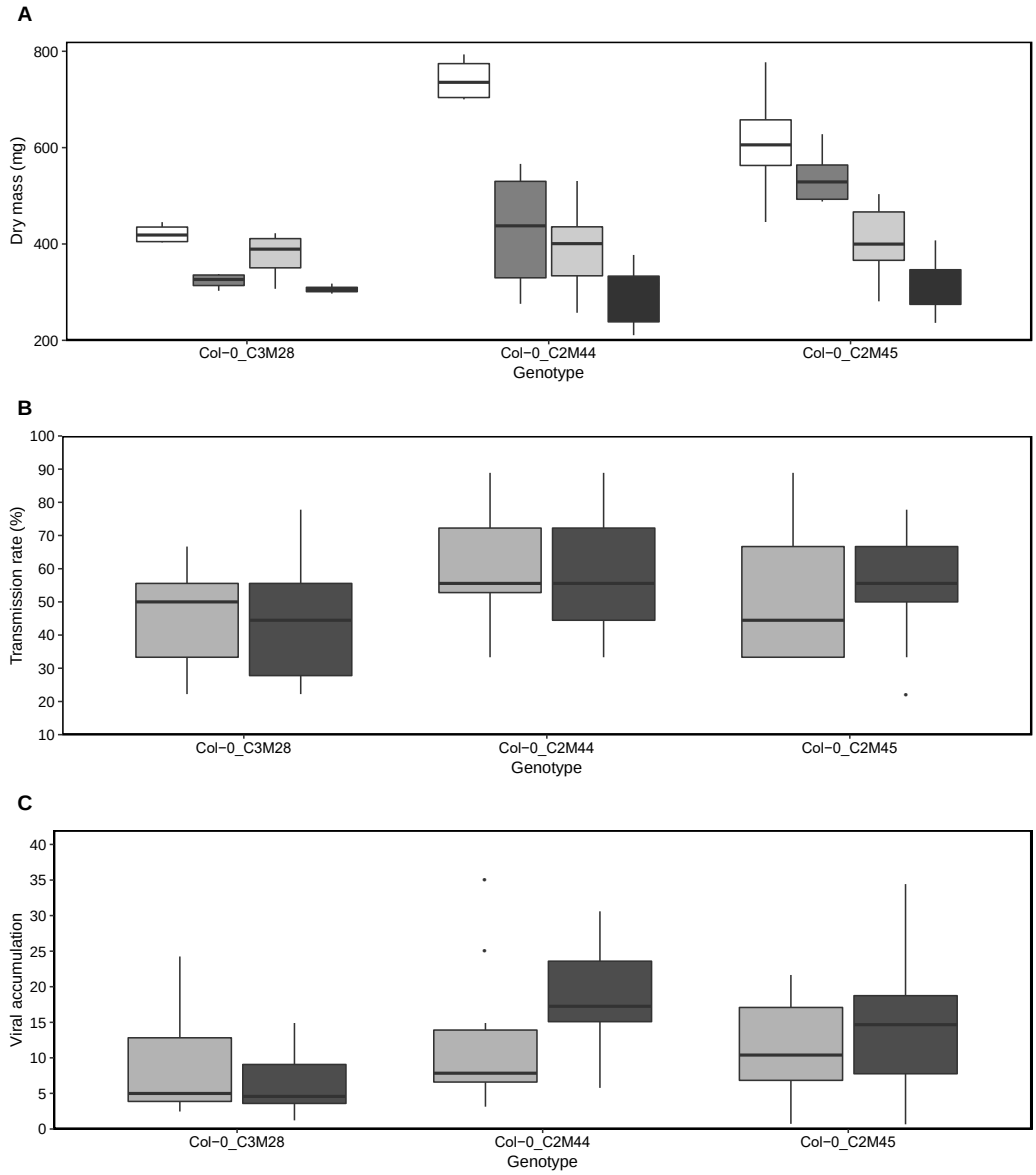


Figure 2 : Comparaison de la croissance, de la transmission et de l'accumulation du CaMV du génotype témoin Col-0 en condition optimale d'irrigation et en déficit hydrique dans trois expériences. (A) Masse sèche de la rosette (mg) du génotype Col-0 à 30 dpi dans des conditions de : mock-inoculated:WW (barre blanche; n = 8 pour C3M28 et n = 4 pour C2M44-C2M45), mock-inoculated:WD (barre gris foncé; n = 8 pour C3M28 et n = 4 pour C2M44-C2M45), CaMV-infected:WW (barre gris claire; n = 20 pour C3M28 et n = 15 pour C2M44-C2M45) and CaMV-infected:WD (barre noire; n = 20 pour C3M28 et n = 15 pour C2M44-C2M45). (B) Transmission du CaMV, i.e., proportion moyenne de plantes tests infectées (n = 9 / plante source Col-0 ; %). (C) Accumulation du CaMV dans les plantes sources Col-0 (N0 CaMV / N0

Actine_UBC21). Les données proviennent des expériences du chapitre 1 (C3M28 ; n = 10 plantes sources / condition ; 8-h de photopériode) et du chapitre 3 (C2M44 et C2M45 ; n = 11 plantes sources / condition ; 12-h de photopériode). Les barres d'erreurs représentent les intervalles de confiance à 95. La significativité des résultats entre les différentes expériences et conditions ont été testée par des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis à une $P < 0.05$.

3- Stratégies écologiques des plantes infectées par le CaMV

Nous avons observé une variation significative de la tolérance au CaMV et au WD parmi l'ensemble des génotypes (n = 52) analysés dans les trois études. La combinaison d'une infection virale et du WD est de manière générale plus préjudiciable à la croissance des plantes par rapport à un stress simple. Il y a également une grande variabilité de réponse en termes de tolérance, que ce soit à un stress simple ou au stress combiné. Bien que certaines combinaisons de stress puissent être additives (Vile et al., 2012), des effets interactifs entre stress biotiques et abiotiques sont le plus souvent rapportés (Pandey et al., 2017; Ramegowda et Senthil-Kumar, 2015; Shukla et al., 2018; Szczepaniec et Finke, 2019; Zhang et Sonnewald, 2017). En dépit de ces interactions, dans le cadre de l'étude 2 (Chapitre 2 ; Article 2), et contrairement à nos conclusions sur l'étude 1 (Chapitre 1 ; Article 1), nous avons constaté une corrélation faible mais significativement positive entre la tolérance au CaMV et la tolérance au WD. Les différences de conditions expérimentales (photopériode 8-h vs. 12-h) et l'augmentation du nombre de génotypes testés dans la deuxième étude pourraient expliquer la différence dans les résultats obtenus. La corrélation positive entre tolérance au CaMV et tolérance au WD observée sur les 24 génotypes peut être liée au fait que les voies de signalisation et de défense des plantes (voies hormonales, moléculaires ou biochimiques) induites par une infection virale ou un WD sont similaires (Atkinson et Urwin, 2012; Foyer et al., 2016; Huber et Bauerle, 2016; Pandey et al., 2016). Cela peut également indiquer que la capacité d'un génotype à supporter un stress fait partie de sa stratégie écologique inhérente, au moins en partie, et ce indépendamment du type ou du niveau de stress considéré. Cependant, cette relation reste faible, suggérant une forte variabilité génotypique des réponses des plantes à ces deux stress et l'implication de différents mécanismes. Dans l'étude 2, nous avons montré que la corrélation entre le LDMC et le LMA restait significativement positive même en condition d'infection virale ou de stress combiné (CaMV x WD). Cette relation demeure donc très forte, quel que soit l'environnement étudié (stress biotique, abiotique ou combiné). Cependant, comme remarqué par Messier et al. (2016),

la plasticité phénotypique contrastée entre ces traits peut se traduire par des changements dans leur structure de corrélation dans des environnements contrastés. Ici, nous avons observé que LDMC et LMA présentaient des changements contrastés dans la réponse au WD, avec une augmentation de LDMC supérieure à celle de LMA, ce qui se traduisait par des changements dans les pentes de la relation entre leurs réponses au CaMV (Chapitre 2 ; Article 2). Ces deux traits LMDC et LMA ont été significativement corrélée à la virulence du CaMV (Chapitre 2 ; Article 2). En appliquant un WD, cette relation reste vraie mais est plus dispersée.

De plus, le LDMC des feuilles est fortement corrélé aux jours de montaison ou de floraison. Des études antérieures portant sur un plus petit nombre de génotypes (Vile et al., 2012), ainsi que sur des lignées recombinantes (El-Lithy et al., 2010; Vasseur et al., 2014) ont montré cette relation. Des études antérieures ont notamment signalé que les génotypes de floraison précoce avaient des stratégies d'acquisition de ressources, caractérisées par un SLA élevé, un LDMC faible et une durée de vie courte (Blonder et al., 2015; El-Lithy et al., 2010; Vasseur et al., 2014, 2018). Il est connu dans la littérature qu'une floraison plus rapide permet aux plantes de s'échapper ou de tolérer un stress abiotique tel qu'un WD (Hsiao, 1973; Passioura, 1996; Verslues and Juenger, 2011).

A. thaliana se trouve généralement dans les champs agricoles et d'autres habitats anthropisés, mais également dans un large éventail d'habitats naturellement perturbés (Picó et al., 2008). Il s'agit donc sans aucun doute d'une espèce rudérale. Il n'était donc pas surprenant que, parmi les génotypes testés, nous ayons trouvé un indice R élevé dans le schéma de stratégie CSR du triangle de Grime, calculé à partir des trois caractères de feuille (i.e. LA, SLA et LDMC), suivant la procédure de Pierce et al. (2017) (Chapitre 2 ; Article 2). De plus, conformément aux découvertes récentes (May et al., 2017; Vasseur et al., 2018), nous avons trouvé une variation significative le long de l'axe R entre les génotypes. Les stratégies rudérales, c'est-à-dire avec des scores R élevés, sont généralement associées à un cycle de vie court, à une faible densité de tissu foliaire (LDMC faible et / ou SLA élevé), et à un taux métabolique élevé et à une faible protection des tissus (Grime, 1977). Nous avons ainsi constaté dans notre échantillonnage de génotypes que le caractère rudéral d'un génotype était positivement lié à la montaison et à la floraison précoce, et ce inversement au LDMC et au LMA comme déjà démontré (Sartori et al., 2019; Vasseur et al., 2018).

Notre étude est la première tentative visant à établir un lien entre la variation intra spécifique des stratégies fonctionnelles de la théorie CSR et la tolérance aux virus. Au niveau interspécifique, il a été démontré que les espèces rudérales (R) hébergent des niveaux intermédiaires de diversité virale par rapport aux espèces compétitives (C) et tolérantes aux stress (S) qui hébergent respectivement un nombre de virus plus élevé et plus faible (Blumenthal et al., 2009). Ce schéma pourrait être lié au niveau interspécifique à une variation de sensibilité aux pathogènes, et au niveau intra spécifique par les stratégies de croissance inhérentes de la plante (Blumenthal et al., 2009). D'une part, les espèces rudérales peuvent être faiblement tolérantes aux agents pathogènes en raison de la faible concentration de composés chimiques de défense par rapport aux espèces tolérantes au stress (S). D'autre part, un cycle de vie court peut contribuer à échapper aux attaques d'agents pathogènes et à réduire leurs effets. Dans la deuxième étude, nous avons constaté que le caractère rudéral d'un génotype, déterminé à partir des caractéristiques de la feuille dans la phase végétative, était positivement lié à sa capacité à tolérer l'infection virale (Chapitre 2 ; Article 2). En relation avec la valeur adaptative des stratégies fonctionnelles sur la diversité naturelle d'*A. Thaliana* (May et al., 2017; Sartori et al., 2019; Vasseur et al., 2018), ce résultat confirme l'importance de la recherche de rôle des phytovirus en tant qu'agents de sélection dans les populations naturelles d'espèces rudérales (Montes et al., 2019; Rubio et al., 2019).

4- La tolérance des plantes à l'environnement en contexte d'infection virale

Comme discuté dans l'introduction, les virus peuvent être mutualistes ou même améliorer la tolérance de leur hôte à des stress environnementaux (Hily et al., 2016; Roossinck, 2015b; Xu et al., 2008). Dans le cadre de cette thèse, parmi le nombre assez important de génotypes de plantes testés (n = 52), nous n'avons trouvé aucun effet significatif de l'infection par le CaMV sur une amélioration de la tolérance de la plante au WD. Cependant, les études antérieures ne se sont intéressées qu'à l'étude de la phase végétative des plantes et non pas à leur phase de reproduction (évènement clé pour la survie de l'espèce végétale). Une étude récente s'est penchée sur la question en utilisant plusieurs pathosystèmes : *Potato virus X* (PVX) / *Nicotiana benthamiana* et *Plum pox virus* (PPV) / *A. thaliana* (Aguilar et al., 2015). Aguilar et al. (2015) ont exploré cette notion de tolérance induite par une infection virale en mesurant la production et le rendement en semences de plants de *N. benthamiana* et *d'A. thaliana* infectés par le virus lors d'un WD. Cependant, leurs conditions n'incluaient pas le scénario de sécheresse extrême

conduisant à la mortalité, et dans lequel seules les plantes infectées par un virus pourraient survivre. Les auteurs ont trouvé des taux de transpiration diminués chez les plantes infectées et corrélés à la tolérance à la sécheresse chez *N. benthamiana*. Dans le cas de *A. thaliana* cette corrélation n'est pas retrouvée. Dans le cas d'A. *thaliana* infectés par différents virus, les profils de métabolites et les profils hormonaux montrent toute une gamme de changements en corrélation positive avec une meilleure tolérance à la sécheresse. La descendance viable issue de plantes d'*A. thaliana* infectées par le virus PPV augmente également par rapport aux plantes non infectées, lorsqu'elle a été exposée au WD. En revanche, l'effet néfaste de virus plus virulents annihile la tolérance accrue à la sécheresse sur la valeur sélective de l'hôte (Aguilar et al., 2015). Ces résultats vont dans le sens de l'idée que les virus peuvent agir de manière mutualiste et offrir un retour sur investissement à leur hôte. Cependant, la relation entre l'infection virale, la tolérance à la sécheresse et la production de semences chez *N. benthamiana* semble plus complexe et les résultats dépendre du pathosystème étudié (Aguilar et al., 2015).

Il serait judicieux dans la poursuite des recherches sur cette notion de tolérance conférée par les virus de tenir compte de la co-évolution des partenaires virus-hôte afin de se placer dans un système biologique où le mutualisme puisse exister (Roossinck, 2015a). Dans le cas de l'étude précitée le virus utilisé, le PPV, est principalement un agent pathogène des arbres fruitiers et *A. thaliana* et *N. benthamiana* sont uniquement des hôtes expérimentaux du PPV (Cambra et al., 2006; Damsteegt et al., 2007). Néanmoins, *A. thaliana* reste un bon système car ses populations sauvages sont naturellement infectées par de multiples souches virales, dont le CMV ou le CaMV (Pagán et al., 2010).

Dans l'étude 2, nous avons mesuré la production de semences et la taille de la hampe principale. Nous avons mis en évidence un effet drastique d'une infection par le CaMV avec une inhibition totale de la reproduction chez tous les génotypes infectés que ce soit en condition optimale d'irrigation ou en WD (Chapitre 2 ; Article 2). Ceci suggère que toute amélioration de la tolérance potentielle au WD détectée durant la phase végétative n'aurait aucun avantage sélectif *in fine* pour la plante. En revanche, une survie accrue des plantes infectées durant leur phase végétative pourrait profiter au virus. La survie de ces plantes virosées dans un environnement hostile pourrait ainsi maintenir la présence du virus dans l'écosystème. Le CaMV est un virus qui se propage *in natura* essentiellement via des pucerons vecteurs, une propagation via la graine n'a jamais été reporté (Haas et al., 2002). Le gain principal pour le

virus serait ainsi lié à la durée de vie de l'hôte. En effet, plus l'hôte resterait en vie, plus la possibilité de transmission du virus à une autre plante serait forte.

Durant ce travail de thèse et de manière surprenante, nous avons constaté que le WD améliorait la survie des plantes infectées par le CaMV comparée à des plantes infectées et en condition contrôle. A ce jour, nous n'avons pas de conclusion sur les mécanismes impliqués et nous ne pouvons qu'émettre des hypothèses sur ces observations (Chapitre 2 ; Article 2). Il est possible que des voies activées en réponse au WD et associées à l'infection virale permettent à la plante de survivre plus longtemps que l'infection seule. En effet, un effet d'amorçage par un stress (phénomène de « priming » sur un autre pourrait activer des voies de défenses, en particulier la voie hormonale de l'ABA et les molécules signal ROS, permettant à la plante de réagir plus rapidement et plus efficacement à un stress (Martinez-Medina et al., 2016; Mauch-Mani et al., 2017).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse s'est intéressé à étudier le pathosystème *A. thaliana* / CaMV associé au vecteur *M. persicae* en condition de déficit hydrique. Une approche combinant phytopathologie et écophysiologie a permis d'enrichir les connaissances et mieux comprendre l'impact de l'environnement sur ce pathosystème, que ce soit sur l'hôte ou le virus. Au-delà de l'ensemble des résultats obtenus, ce travail de thèse constitue un exemple de l'intérêt d'utiliser des approches multidisciplinaires dans la compréhension d'interactions abiotiques et biotiques. Dans cette idée de développement d'études plus globales, les collaborations permettent d'exploiter et unir les compétences et connaissances de chacun.

Afin de préserver les écosystèmes naturels et de maintenir la productivité agricole, malgré les changements climatiques actuels il est important d'étudier les interactions abiotiques et biotiques simultanées auxquelles sont confrontées les plantes. Globalement, les exemples présentés au sein de cette thèse illustrent la diversité / complexité des effets modulateurs des conditions édapho-climatiques contrastées sur les relations entre la reproduction des plantes et la virulence des agents pathogènes, la sensibilité des plantes hôtes et les traits du cycle viral. L'étude de ces paramètres interconnectés est donc d'un intérêt primordial pour prédire et gérer le développement des ravageurs et des maladies. Au cours de cette thèse, nous avons mis en évidence les modifications importantes sur les traits viraux et sur les relations entre ces traits induites lors d'un WD. De plus, nous avons mis en évidence le lien potentiel entre les stratégies écologiques inhérentes des plantes et la tolérance au virus. De manière plus précise, l'étude préliminaire du chapitre 1 a montré que les réponses des plantes en termes de croissance face à un stress combiné étaient génotypes-dépendantes. De plus, le WD a modifié la transmission virale et l'accumulation virale de certains génotypes sans pour autant présenter une relation positive entre ces deux traits. Enfin, on a mis en évidence une corrélation positive entre la virulence et la transmission du CaMV et cette corrélation est rompue lors d'un WD. Cependant, il était nécessaire d'analyser ces interactions sur un plus grand nombre de génotypes de plante. Les deux chapitres suivants ont confirmé d'une part, que la combinaison de stress induisait plusieurs comportements contrastés pouvant être additifs ou en interactions et d'autre part, que le WD induisait des modifications sur la transmission et l'accumulation du CaMV au sein de l'hôte mais aussi sur leur relation. Le CaMV a modifié des traits importants liés à la plante, et à des stratégies fonctionnelles inhérentes de conservation ou d'acquisition des ressources, tout en conservant les relations connues entre ces traits. La tolérance du génotype au CaMV semble aussi liée à sa stratégie de ruderalité. Enfin, cette diversité de génotypes de plante nous a permis

d'étudier le compromis virulence – transmission très discuté dans la littérature, en associant l'accumulation virale et l'impact du WD. Nous n'avons pas pu mettre en évidence une corrélation significative entre virulence et transmission comme dans l'étude préliminaire du chapitre 1 mais nous avons pu montrer qu'il existait des relations entre ces traits avec l'accumulation virale et qui peuvent être modifiées par le WD.

Cette étude a donc mis en évidence l'importance de comprendre l'impact de l'environnement sur la pathogénicité d'un virus et sur sa persistance au sein d'un écosystème mais aussi d'associer les stratégies inhérentes des plantes à la tolérance au virus. La plateforme de phénotypage PHENOPSIS a facilité l'étude de ces interactions sur un grand nombre de génotypes de plante dans un environnement contrôlé. Cependant, il aurait été intéressant de pouvoir intégrer à cette variabilité génotypique, une plus grande variabilité d'isolats viraux (mais aussi des virus avec des stratégies de transmission différentes) pour avoir un plus grand panel de réponses et étudier les relations phénotype-génotype.

Dans un futur proche, il serait intéressant de réaliser ce même type d'étude avec une plus grande diversité de virus ou de génotypes de plante mais aussi d'autres stress environnementaux. Cette plus grande variabilité permettrait de réaliser des études de génétique d'associations (GWAS) pour trouver des gènes candidats dans la réponse à la combinaison de stress mais aussi afin de comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents à la modification de la transmission virale en réponse à un environnement fluctuant. Dans cette variabilité naturelle, l'utilisation de mutants permettrait d'étudier le rôle potentiel des hormones végétales, ou de facteurs de transcription. De plus, il me semble important de se concentrer sur le comportement alimentaire du vecteur, qui joue un rôle majeur dans la transmission du virus et qui peut être très influencé par la qualité de son hôte mais aussi par le virus lui-même. A plus long terme, toutes les données acquises sur ces interactions pourraient être intégrées dans des modèles épidémiologiques tenant compte à la fois des conditions environnementales contrastées et de leurs interactions.

Pour conclure, cette étude est une première étape dans le but d'évaluer la diversité et l'importance des interactions plantes-virus, un réel challenge pour maintenir la productivité agricole, ainsi que pour comprendre le fonctionnement des écosystèmes naturels. Cependant, des efforts supplémentaires doivent être réalisés pour analyser les mécanismes associés de manière plus précise.

MATERIEL ET METHODE

A. Matériel biologique et conditions de culture

1- Matériel végétal et viral

Une collection de 52 génotypes d'*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh provenant de la Péninsule Ibérique, sauf le génotype Columbia (Col-0) (choisi comme référence), a été utilisée au cours des cinq expériences menées durant cette étude. Ces génotypes sont référencés au sein du Projet 1001 Génomes (Alonso-Blanco et al., 2016).

L'isolat BJ-I du *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) maintenu sur navet (*Brassica rapa*) au laboratoire BGPI a été utilisé dans le cadre de cette thèse.

2- Le puceron vecteur : *Myzus persicae*

Une colonie du puceron vecteur (*Myzus persicae*), collectée il y a plus de 30 ans dans le sud de la France est maintenue sur aubergine (*Solanum melongena*) dans des cages à insectes au sein d'une chambre d'élevage à 23/18°C avec une photopériode de 14/10 h (jour / nuit), dans des conditions assurant la reproduction clonale. Les pucerons sont transférés dans de nouvelles cages et de nouvelles plantes hôtes non infestées (*Solanum melongena*) toutes les 2 semaines, afin d'éviter le surpeuplement et l'induction du développement de morphes ailés.

3- PHENOPSIS

L'ensemble des expérimentations ont été réalisées au sein de la plateforme PHENOPSIS. PHENOPSIS est un automate mis en place dans une chambre de culture où les conditions environnementales sont strictement contrôlées. Cet automate est composé d'un cadre en acier supportant 14 plateaux noirs comportant 36 alvéoles (chaque alvéole pouvant supporter un pot). Il est équipé d'un bras amovible qui se déplace pot à pot avec des capteurs de déplacement, une station d'irrigation (A1645-6; finition Electro), une station de pesée (XB620C; Precisa) et une station d'imagerie permettant d'acquérir des données phénotypiques non destructives (caméra CCD et Raspberry). Il permet grâce à un système de pesée, d'irriguer précisément chaque pot (ajustés au poids cible contrôle ou stress) plusieurs fois par jour si nécessaire. Les positions des pots sur les 14 plateaux, les dates et heures de cycle d'irrigation, le poids cible à atteindre par pot et la nécessité de prendre une photo ou non ont été programmé dans un ordinateur sur un logiciel développé par OptimaLog. Après chaque cycle d'irrigation ou de photo, un fichier de sortie EXCEL est créé automatiquement sur l'ordinateur contenant des données telles que la

position du pot dans la chambre, son poids avant d'être arrosé, la quantité d'eau apportée et le poids après arrosage. La lumière est fournie par une série de tubes fluorescents blanc (36 W T8 Grolux, 120 cm, Sylvania) et des lampes aux halogénures métalliques de quartz (HPI-T Plus 400 W 645 E40; Philips). L'intensité lumineuse est mesurée en permanence à hauteur de la plante, en utilisant un capteur de lumière sur la bande de fréquences de 400-700 nm (SKP215; Campbell Scientific). La température et l'humidité relative de l'air sont mesurées toutes les 20 secondes (HMP45C-L; Campbell Scientific). La régulation climatique de PHENOPSIS est contrôlée par un logiciel LoggerNet permettant le contrôle précis de l'environnement en utilisant un séchoir à air ou un pulvérisateur d'eau pour modifier l'humidité de l'air et un refroidisseur d'air ou un appareil de chauffage pour modifier la température de l'air. Il est possible d'avoir accès à l'ensemble des données météo qui sont enregistrées toutes les 3 minutes sur la base de données PHENOPSIS DB (Fabre et al., 2011). De même pour les données d'imagerie, d'irrigation et sur les données concernant chaque expérimentation.

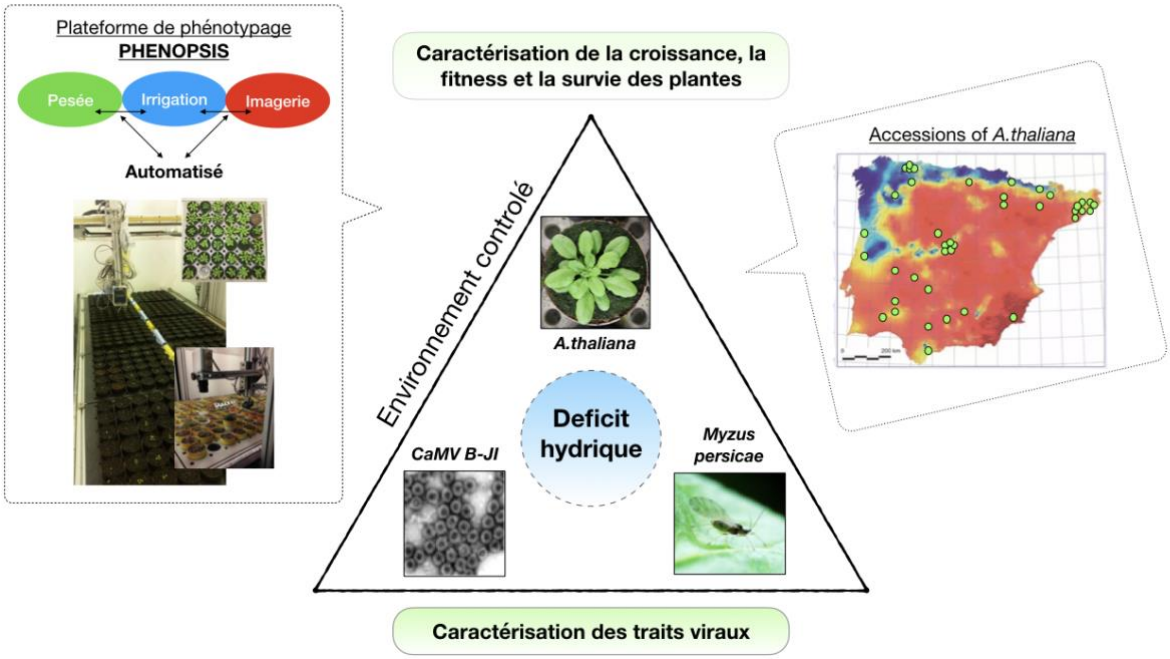


Figure M1 : Schématisation du trio d'organismes utilisés dans les expérimentations.

4- Description du design expérimental

Les différentes expérimentations ont toutes été réalisé au sein de PHENOPSIS avec une méthodologie standardisée d'inoculation du virus, de mise en place du WD, et des expériences de transmission. Plusieurs graines (n = 3 à 5) d'une même accession ont été semées à la surface

du sol dans des pots cylindriques de 250 cm_3, remplis au préalable avec un substrat (SP 15% KLASMANN, identique pour l'ensemble des expériences). Lors du semis, chaque pot a été pesé vide puis rempli de substrat préalablement homogénéisé et repesé. Après semis, les pots ont été arrosés avec 10 mL d'eau osmosée. Les pots ont été ensuite placés dans la plateforme de phénotypage PHENOPSIS de manière randomisée. Durant deux jours, les pots ont été laissé à l'obscurité et à une température de 12 C° et 70 % d'humidité relative de l'air pour garantir une germination la plus homogène possible malgré la diversité génétique des génotypes utilisés. Afin de permettre une bonne germination, de l'eau osmosée a été pulvérisée à la surface du sol de chaque pot trois fois par jour, jusqu'à l'apparition des deux premières feuilles (stade 1.02 d'après Boyes et al, 2001). A ce stade, chaque pot a été éclairci pour ne laisser qu'une plante par pot et l'irrigation automatisée a été initialisée. Les plantes ont été cultivées avec une photopériode de 8h ou de 12h à un PAR de 200 $\mu mol\ s^{-1}\ m^{-2}$, à une température de l'air de 18°C la nuit et 21°C le jour et un déficit de vapeur d'eau de 0 .75 KPa.

Environ 1 mois après le semis (stade 10-12 feuilles) l'inoculation mécanique du virus a été réalisé. Suivant les expérimentations et les questions posées, les récoltes ont été réalisées 30 jours après l'inoculation du virus ou lors de la fin du cycle des plantes. Les expériences de transmission et de mesures de l'accumulation virale ont été réalisées 30 jours après inoculation du virus. L'ensemble des traits, des expériences et du design expérimental est résumé dans la figure M2.

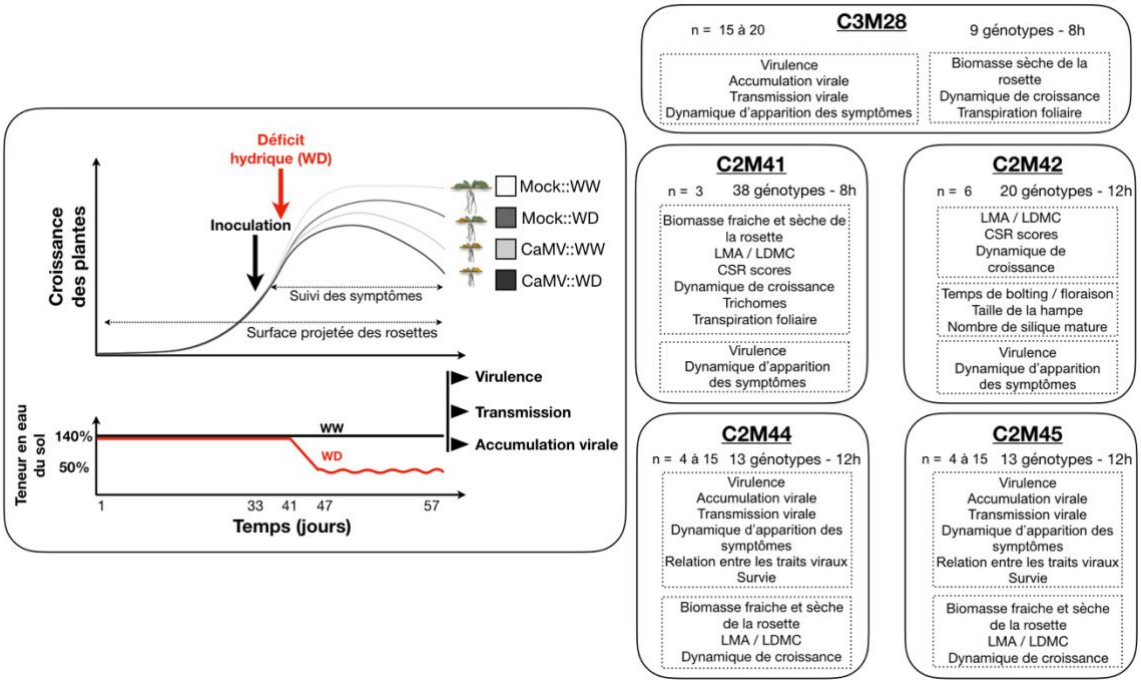


Figure M2 : Déroulement et mesures des différentes expérimentations réalisées au cours de la thèse.

5- Contrôle de la teneur en eau du sol

Pour déterminer la teneur en eau du substrat, plusieurs échantillons de substrat ont été prélevés lors du remplissage des pots (tous les dix pots) et pesés une première fois pour déterminer le poids frais du sol (MF_{sol}). Les échantillons ont ensuite été placés à l'étuve (105 °C pendant 4 jours) afin de mesurer le poids sec (MS_{sol}) et déterminer la teneur initiale en eau du substrat. Ainsi, le poids cible de chaque pot a été déterminé afin d'atteindre l'humidité du sol voulue : $TER_{sol} = (MF_{sol} - MS_{sol}) \times 100 \times MS_{sol}$. La condition bien irriguée (WW) retenue correspond à une teneur en eau du sol de 1.4 g d'H_2O g^{-1} de substrat sec et a été maintenu stable tout au long de l'expérimentation pour les plantes contrôles. Cette teneur en eau a été préalablement déterminée comme ne limitant pas la croissance d'*A. thaliana* (Vile, communication personnelle). Les plantes en condition de déficit hydrique (WD) ont été cultivé avec la même teneur en eau du sol durant les cinq semaines après semis (1.4 g d'H_2O g^{-1} de substrat sec) puis l'irrigation a été suspendue jusqu'à atteindre 0.50 d'H_2O g^{-1} de substrat sec puis maintenu à ce niveau durant les expériences.

B. Méthodes Générales

1- Méthode d'inoculation

a. Préparation de l'inoculum du CaMV

L'inoculum utilisé dans les différentes expériences a toujours été préparé le jour même de l'inoculation à partir d'une même purification virale initiale, de feuilles de navet infectées par le CaMV, d'eau et de carborundum. La purification virale a été réalisée à partir de 110 g de feuilles symptomatiques de navet (20 jours après inoculation (dpi)) broyées à froid sur glace dans une solution de KH_2PO_4 (0.5 M, pH 7.2) et de NA_2SO_3 (75%) avant d'être filtrée sur gaze fine. De l'urée à 1M (6%) et 2.5% de triton x100 ont été rajoutés dans le volume final pour dégrader les parois cellulosiques et membranaires puis mis à agitation à 4°C pendant 24 h. La solution a été ensuite clarifiée 15 min à 6000 rpm puis passée sur un coussin de saccharose (30%) et enfin centrifugée à 30 000 rpm, 4°C, 2 heures (SWING rotor, Beckman). Les culots enrichis en particules virales ont été lavés délicatement avec 2 mL de solution Tris-HCl (100mM, 2.5 mM $MgCl_2$, pH = 7) et resuspendu dans 300 µL de cette même solution. La concentration de cette purification virale initiale utilisée tout au cours de cette thèse a été estimée par mesures spectroscopiques à 230, 260 et 280 nm (NanoDrop 2000 spectrophotomètre), elle est de 0.63 mg ml^{-1}.

Pour environ 40 plantes à inoculer, un mélange contenant 1g de feuilles de navet infectées, 1mL d'H_20, 0.1ml de virus purifié et une pincée de carborundum ont été utilisés (inoculum « virus »). Pour environ 40 plantes non infectées, 1g de feuilles de navet sain, 1mL de tampon Tris-HCl (100mM, 2.5 mM $MgCl_2$, pH = 7) et une pincée de carborundum ont été utilisés (inoculum « sain »). Chaque inoculum a été broyé dans un mortier puis filtré et placé dans un tube Eppendorf avant utilisation. (Figure M3C). Les plantes non inoculées dites « mock » ont subi le même traitement avec l'inoculum « sain » (Figure M3).

b. Inoculation mécanique du CaMV

L'inoculation mécanique a été réalisé au stade 10-12 feuilles. Pour chaque plante, 10 µL de l'inoculum viral a été déposé sur trois feuilles de rang médian (Figure M3A). Ensuite,

ces trois feuilles ont été frottés à l'aide d'un pilon abrasif et de carborundum puis rincées à l'eau.



Figure M3 : Illustration de la technique d'inoculation du virus sur les rosettes d'A. thaliana. (A) et (B)10 ul d'inoculum est déposé à l'aide d'une pipette sur trois feuilles de la plante. (C) Inoculation du virus à l'aide d'un pilon abrasif et d'une étiquette pour maintenir la feuille. (D) Visualisation des traces de blessures induit par l'inoculation mécanique et rinçage à l'eau.

2- Notation et dynamique des symptômes

Le suivi des symptômes a été effectuée quotidiennement (de 9 à 30 dpi) sur les plantes infectées par le CaMV et en condition hydrique optimale (n = 3 à 20) ou en condition de déficit hydrique (n = 3 à 20) pour chaque accession. Les symptômes ont été notés 0, 1 ou 2 pour : absence de symptôme, présence du symptôme sur une seule feuille non inoculée ou symptômes systémiques, respectivement (Figure M4). Le délai de l'apparition des symptômes (jours), la vitesse de la propagation systémique (j^{-1}) et la proportion maximale de plantes infectées (%)

ont ensuite été calculés à partir de régressions logistiques adaptées à ces observations (Figure M4).

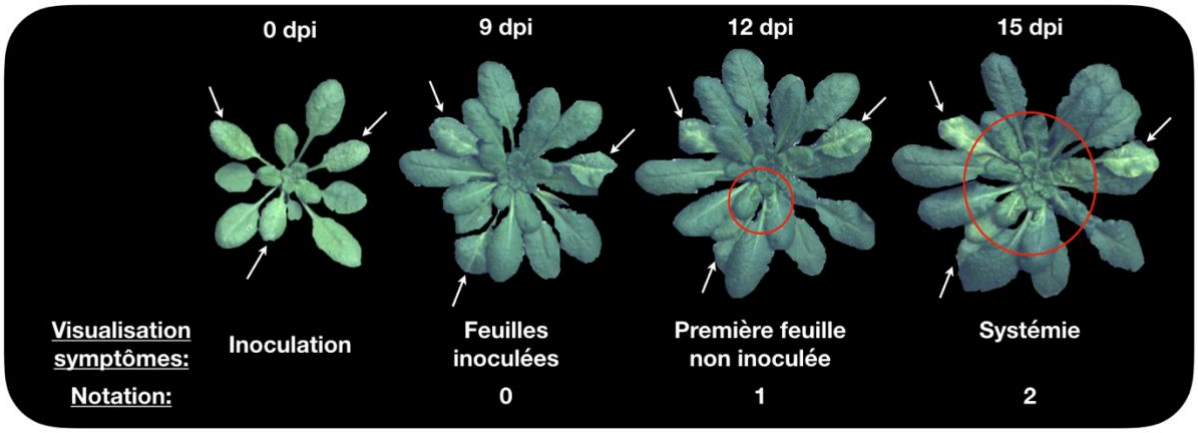


***Figure M4 : Notation de l'apparition des symptômes au cours du temps*.** Notation allant de 0 à 2 où le 0 représente le stade où les feuilles inoculées commencent à jaunir, 1 indique qu'il y a un symptôme sur une feuille non inoculée et le 2 indique qu'il y a systémie totale sur le centre de la rosette.

3- Test de transmission

Les tests de transmission par vecteur se sont déroulés en deux temps. Des lots de 20 pucerons *Myzus persicae* (stade larvaire L2-L4) ont été mis à jeuner 1h avant d'être déposés au centre des rosettes des plantes sources infectées pour la mise en acquisition du virus. Une fois stabilisation et immobilisation des pucerons sur la feuille, ceux-ci sont laissés deux minutes pour qu'ils réalisent leur piqure d'essai et puissent acquérir le virus. Ils sont alors récupérés dans une boite de Pétri avant d'être transféré individuellement à l'aide d'un pinceau sur les plantes tests pour une phase d'inoculation de 3 heures (9 plantes tests par plante source). Les plantes tests sont ensuite placées dans une chambre de culture (dans les mêmes conditions climatiques que les plantes sources) pendant une période de 3 semaines environ. La lecture visuelle des symptômes viraux sur les plantes tests permet de calculer le taux de transmission par condition (ratio de plantes tests symptomatiques sur le nombre de plantes tests totales par plante source) (Figure M5).

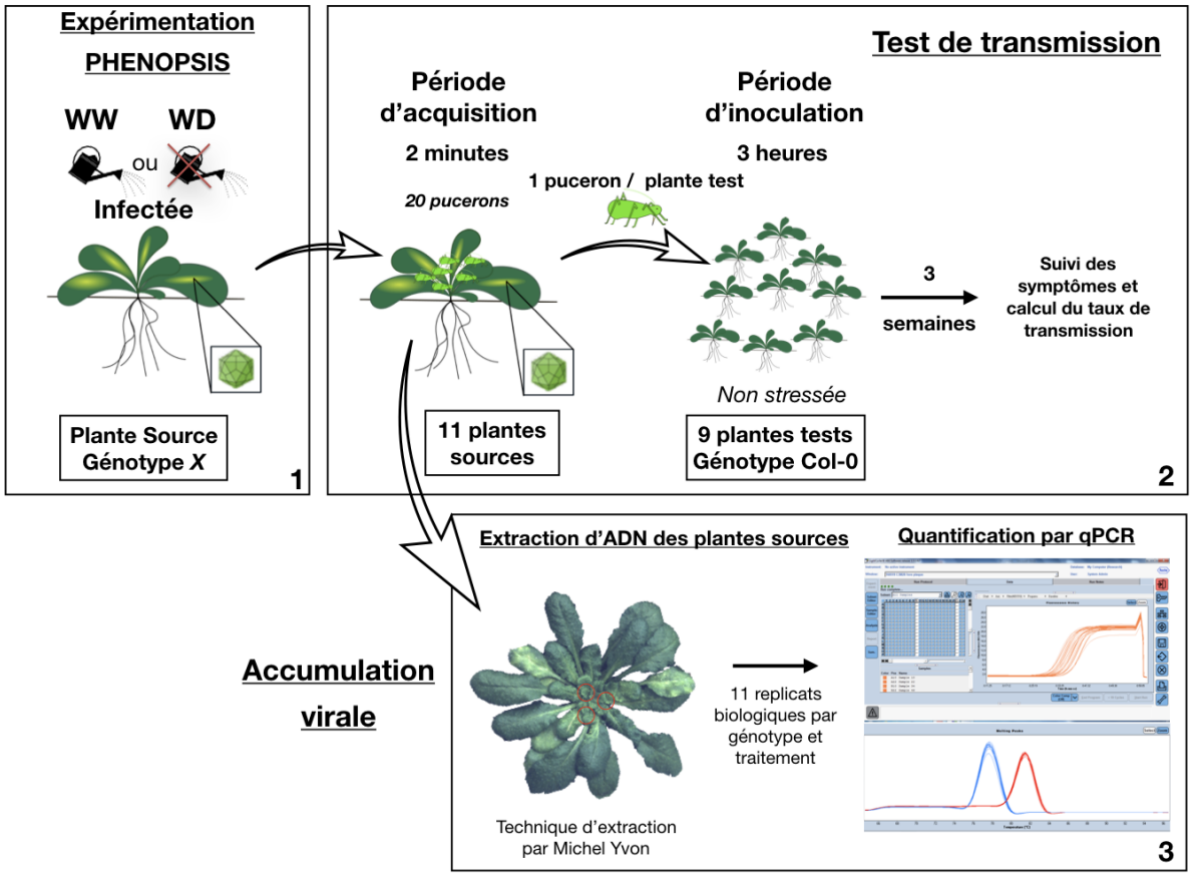


Figure M5 : Design expérimental pour le test de transmission du CaMV et la qPCR. (1) Croissance des plantes source au sein de la plateforme PHENOPSIS dans deux conditions hydrique, CaMV-WW (bien irriguée) ou CaMV-WD (déficit en eau). (2) L'efficacité de transmission du CaMV a été évaluée à 30 dpi. Des lots de 20 larves de *M. persicae* (stade L2-L4) sont transférés sur le centre de la rosette d'une plante source pour l'acquisition du virus. Onze plantes sources symptomatiques ont été testées par génotype et traitement. Après immobilisation, les pucerons sont autorisés à se nourrir pendant 2 mns afin d'acquérir le virus. Les pucerons potentiellement virulifères sont ensuite récupérés dans une boîte de Pétri et transférés individuellement sur des plantules Col-0 âgées d'un mois (plantes tests) cultivées sans conditions de stress (un puceron par plante test ; neuf plantes test par plante source). Après une période d'inoculation de trois heures, les pucerons sont éliminés par pulvérisation d'insecticide (Pirimor G à 0,2%). Les plantes tests sont ensuite placées dans une chambre de culture avec les mêmes conditions d'humidité de l'air, de température et de lumière que les plantes sources. Les symptômes de l'infection virale ont été relevés 21 jours plus tard par une inspection visuelle des plantes tests et le taux de transmission du virus a été calculé. (3) A la fin de l'expérience de transmission, trois feuilles au centre de la rosette de chaque plante source sont poinçonnées suivant la technique développée par Michel Yvon. L'ADN total a été extrait pour ensuite réaliser des expériences de qPCR afin de mesurer l'accumulation virale dans la plante.

a. Impact du génotype de la plante test

Au préalable, afin de vérifier qu'il n'existait pas un biais dans l'utilisation exclusive de l'accession Col-0 en tant que plante test, des tests de transmission à partir d'une plante source d'une accession donnée vers des plantes tests de la même accession et vers des plantes de l'accession Col-0 ont été également réalisés. Cela a permis de comparer les taux de transmission intra- et inter-accessions. Dans ce cas-là, les plantes sources n'ont pas subi de déficit hydrique (un puceron / plante test ; 9 plantes tests Col-0 / plante source de l'accession X ou 9 plantes tests accession X / plante source de l'accession X ; dix plantes sources par accession X) (Figure M6).

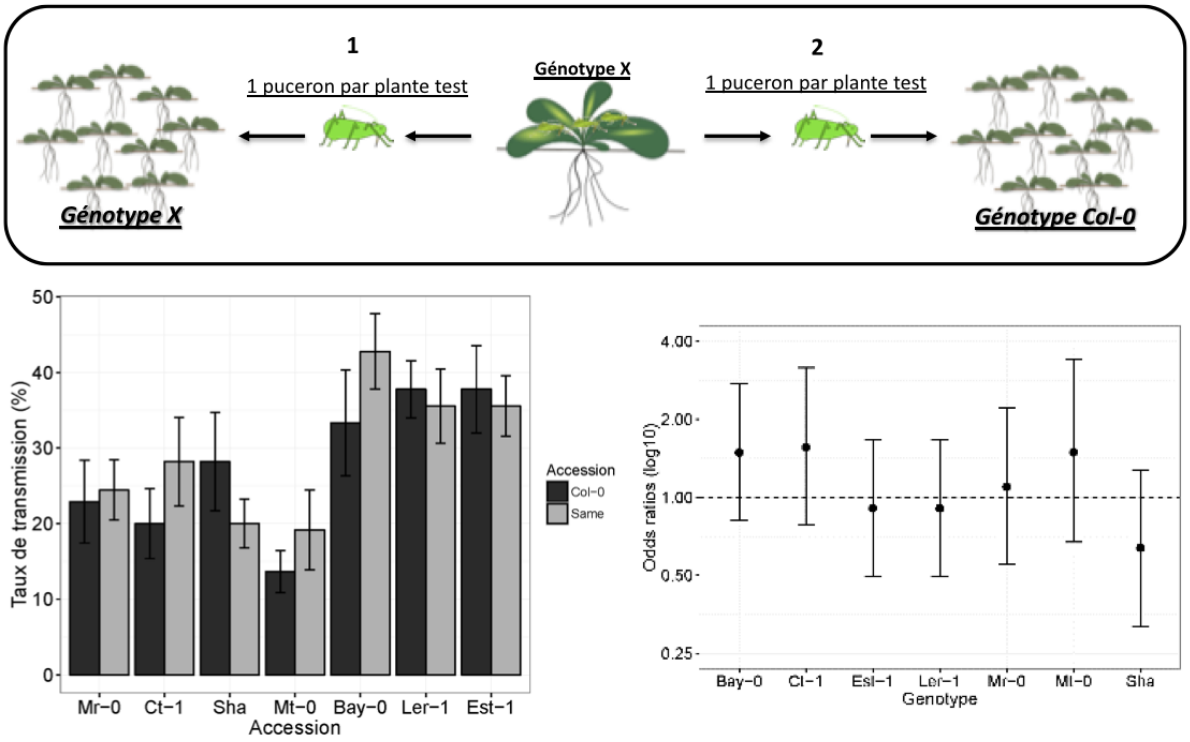


Figure M6 : Évaluation de l'impact du génotype des plantes tests sur la transmission virale.

b. Plantes sources en WD et effet sur la transmission virale

Pour tester l'effet du WD sur la transmission des différentes accessions, les plantes tests de lecture appartenant à l'accession Col-0 ont été utilisées (un puceron / plante test ; 9 plantes tests Col-0 / plante source de l'accession X ; dix plantes sources par accession X / traitement).

L'ensemble des tests de transmission ont été réalisés 30 jours après inoculation mécanique du CaMV aux plantes sources.

4- Évaluation de l'accumulation virale intra-hôte

a. Dosage immunoenzymatique (DAS-ELISA)

L'accumulation des particules du CaMV dans les plantes sources ayant subi ou non un WD a été évaluée par dosage immunoenzymatique DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) en utilisant le kit Reagent Set Alkaline Phosphatase SEDIAG pour CaMV. Après broyage des échantillons (environ 100mg) dans l'azote liquide, et resuspension dans 250 µL d'H_20, ceux-ci ont été centrifugés (10 mins, 5000 rcf). Une partie 1/5 est prélevé pour la qPCR comparative. Après ajout 350 µL de tampon de broyage (pour 1L ; 10 g de PVP, 0,5 ml de Tween20 ; pH 7.3), les échantillons sont centrifugés (5 mins, 5000 rcf) pour enlever les débris de feuilles. Dans chaque puit d'une plaque microtitration MaxiSorp Nunc ®, 100 µL de la solution de coating (pour 1L ; 1,59 g de Na_2C0_3, 2,93 g de $NaHC0_3$, 0,2 g de NaN_3, 5 mg de pourpre de Bromocresol ; pH 9.6) contenant un anticorps anti - CaMV ont été déposés suivi d'une incubation à 37 °C pendant 4 heures. Après trois rinçages avec du PBS Tween (139.9 mM NaCl, 1.47 mM KH2PO4, 2.68 mM KCl, 8.1mM Na2HPO4 et 0.05% v/v Tween 20), 100 µL d'échantillons (en doublon) sont déposés par puit, puis la plaque est placée à 4 °C toute la nuit. Les plaques sont alors lavées (un lavage à l'eau, puis 3 lavages avec un tampon PBS Tween).

Un anticorps (anti-lapin) conjugué à la phosphatase alcaline (dilution 1/200 dans du tampon conjugué ; pour 1L dans PBST ; 2 g de BSA, 40 mg de Rouge Congo ; pH 7.4) est déposé à raison de 100 µL/puit. Après incubation (4h, à 37°C) les plaques son lavées 3 fois avec du PBS Tween avant de déposer 100 µL/puits du tampon substrat pNPP (p-nitrophenyl phosphate) dilué à raison de 0.0001 g de pNPP pour 1 mL de tampon substrat (pour 1L ; 97 mL de Diethanolamine, 0,2 g de NaN_3 ; ajuster le pH à 9.8 avec HCl). La révélation s'effectue température ambiante à l'obscurité. La coloration jaune due à la transformation du substrat en para-nitrophénol par l'activité de la phosphatase alcaline est mesurée à 405 nm à l'aide d'un spectrophotomètre EPOCH (Biotek®) toutes les 15 minutes pendant 2 heures. Sur la plaque, des échantillons de plantes saines (navet sain et témoin – du kit) ainsi que des échantillons de plantes infectés par le CaMV (navet infecté et témoin + du kit) ont été déposés. Une analyse de la densité optique (DO) obtenue pour chaque échantillon est effectuée. Ainsi, dans un premier

temps, la valeur moyenne de DO des échantillons sains est soustraite à l'ensemble des DO puis la moyenne des deux mesures par échantillons est calculée.

b. Extraction de l'ADN total

En parallèle des tests de transmission, pour chaque plante source l'ADN total a été extrait (Figure M5). Pour cela, une extraction par poinçonnage « pression » a été réalisée suivant le protocole de Michel Yvon mis en place au laboratoire de BGPI (en cours de publication). Cette technique beaucoup plus rapide et moins couteuse que les méthodes classiques permettent d'obtenir de bons rendements en acides nucléiques et d'une bonne pureté (Michel Yvon, communication personnelle). Cette technique de poinçonnage permet de transférer le contenu cellulaire sur un papier Whatman™ GE Healthcare Grade GB004 Blotting Paper. L'ADN est alors extrait avec 100 µL d'un tampon Edwards modifié (200mM Tris HCl pH 7,5, 250mM Nacl, 25mM EDTA, 0,5% SDS is added 1% PVP 40) (Edward et al, 1991) suivi d'une étape de précipitation à l'isopropanol (100 µL par échantillon, centrifugation à 5000 RCF pendant 25 mins). L'isopropanol est ensuite retiré à l'aide d'une micropipette. Les culots sont ensuite lavés avec 200 µL à l'éthanol 70%. L'éthanol est ensuite retiré puis les tubes avec les culots sont mis à sécher pendant 15 mins à 65 °C. L'ADN est finalement resuspendu dans 50 µL d'eau milliQ. Le poinçonnage a été réalisé sur 3 feuilles symptomatiques où les pucerons ont été placés pour l'acquisition du virus lors des tests de transmission.

La qualité et la quantité de l'extraction de l'ADN total ont été contrôlées par des mesures spectroscopiques à 230, 260 et 280 nm (NanoDrop 2000 spectrophotomètre) avant quantification par PCR quantitative (qPCR) de l'ADN viral.

c. Quantification de l'accumulation virale par qPCR

Tous les échantillons d'ADN total sont dilués au 1/10 avant l'analyse par qPCR. La quantification de l'ADN viral de chaque échantillon est réalisée en duplicat par qPCR dans des plaques de 384 puits en utilisant le kit FastStart pour LightCycler DNA Master Plus SybrGreen I (Roche) dans un thermocycleur 480 LightCycler (Roche) selon les instructions du fabricant. Des amorces spécifiques conçues pour la quantification de l'ADN viral ont été utilisées ainsi que deux gènes de ménage de la plante (UBC21 et Actine) (Table M1). Toutes les réactions de qPCR ont été effectuées avec 40 cycles (95°C pendant 15 s, 62°C pendant 15 s et 72°C pendant 15 s) après une étape initiale à 95°C pendant 10 min. Les données qPCR ont été analysées avec

le programme LinReg PCR et la concentration initiale (N0) de chaque cible (CaMV, UBC21 et Actine) estimée (Rujiter, 2009). La moyenne de la concentration initiale des deux gènes de ménage a été estimée et ont servi à normaliser les données relatives au CaMV ($N0_{CaMV}$ / $N0_{moyenne\ (UBC21+actine)}$).

Tableau M1 : Séquences des amorces CaMV et des gènes de ménage utilisées lors de la qPCR

Genes	Noms des amorces	Séquences
CaMV	Ca4443-F	5'-GACCTAAAAGTCATCAAGCCCA-3'
	Ca4557-R	5'-TAGCTTTGTAGTTGACTACCATACG-3'
Ubiquitine	UBC21_At_F	5'-TGCAACCTCCTCAAGTTCGA-3'
	UBC21_At_R	5'-GCAGGACTCCAAGCATTCTT-3'
Actine	Act_Bra_R	5'-GATCTCTTTGCTCATACGGTCTG-3'
	Act2_Bra_F	5'-GACYBTAYGGTAACATTGTGCTC-3'

5- Caractérisation phénotypique des plantes

a. Mesure de la croissance

Pendant la croissance des plantes, les différents stades ont été noté : germination, nombre de feuilles, apparition de l'inflorescence, première fleur ouverte and première silique mature (stages 0.7, 5.01, 6.00 and 8.00 of Boyes et al. (2001)).

La surface projetée au cours du temps a été estimé par l'analyse d'image des photos prises de manière quotidienne par le robot PHENOPSIS à l'aide d'un script semi-automatique développé sur ImageJ (Research Services National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) au laboratoire du LEPSE. La surface projetée finale a été estimée à l'aide du même script mais soit avec des images issues de PHENOPSIS ou de la Photobox (outil développé par moi-même pour photographier les plantes par le dessus ; Figure M7)

Les récoltes ont soit été réalisées à 30 dpi ou au stade de la première silique mature sur la hampe florale. Chaque rosette ou une feuille par rosette a été récoltée pour mesurer la masse fraiche (mg) et la masse fraiche réhydratée (mg) (après récolte et pesée de la masse fraiche les rosettes sont maintenues dans de l'eau désionisée pendant une nuit à 4°C avant d'être repesées). Ensuite, Les rosettes sont placées à l'étuve à 65 ° C, 5 jours afin de déterminer leur masse sèche (mg). Sur certaines expériences, une feuille de rosette mature et non sénescente a été marquée

pour effectuer toutes les mesures physiologiques liées à la feuille. Après détermination du poids saturé en eau, les feuilles individuelles ont été scannées afin de déterminer le LA (mm^2) à l'aide du programme ImageJ. À partir de ces mesures, la teneur en matière sèche des feuilles (LDMC, masse sèche / masse fraîche saturée en eau, en $mg\ g^{-1}$), la masse foliaire par zone (LMA, masse sèche de la feuille / surface de la feuille, en $mg\ mm^{-2}$) et la surface foliaire spécifique (SLA, surface feuille / masse sèche de la feuille, en $mm^2\ mg^{-1}$) ont été estimées au niveau de la rosette et de la feuille.

Ces paramètres ont permis de déterminer le CSR score (pourcentages le long des axes C, S et R) pour tous les génotypes disposés dans PHENOPSIS en utilisant la méthode développée par Pierce et al. (2017). La méthode est basée sur un algorithme combinant les données de trois caractéristiques de feuille (LA, SLA et LDMC). Les scores de CSR ont été calculés pour chaque plante individuelle et pour chaque expérience grâce au tableau de calcul fourni dans les informations supplémentaires de Pierce et al. (2017). La moyenne de ces scores CSR a été calculée par génotype et expérience (pour les expériences C2M41 et C2M42). Puis, les scores CSR ont été représenté dans un diagramme en triangle avec le paquetage sur R «ggtern» (Hamilton et Ferry, 2018).

Le changement relatif des traits (LDMC, LMA ou masse sèche aérienne) a été calculé pour chaque génotype comme suit : (valeur moyenne du trait pour un traitement donné) - (valeur moyenne du trait sous inoculation factice : WW) * 100 / (valeur moyenne du trait sous inoculation factice : WW).

La virulence (ou agressivité) a été estimée pour chaque plante de chaque génotype par le changement relatif de la masse sèche moyenne aérienne de la rosette : (infection par le CaMV : WW - inoculation factice: WW) * 100) / (inoculation factice: WW) et (infection par le CaMV: WD - inoculation factice: WW) * 100) / (inoculation factice: WW).

La survie des plantes infectées par le CaMV a été estimée 30 jours après la germination. Le taux de survie des plantes (%) a été calculé : (nombre de plantes vivantes / nombre de plantes mortes) pour chaque génotype.

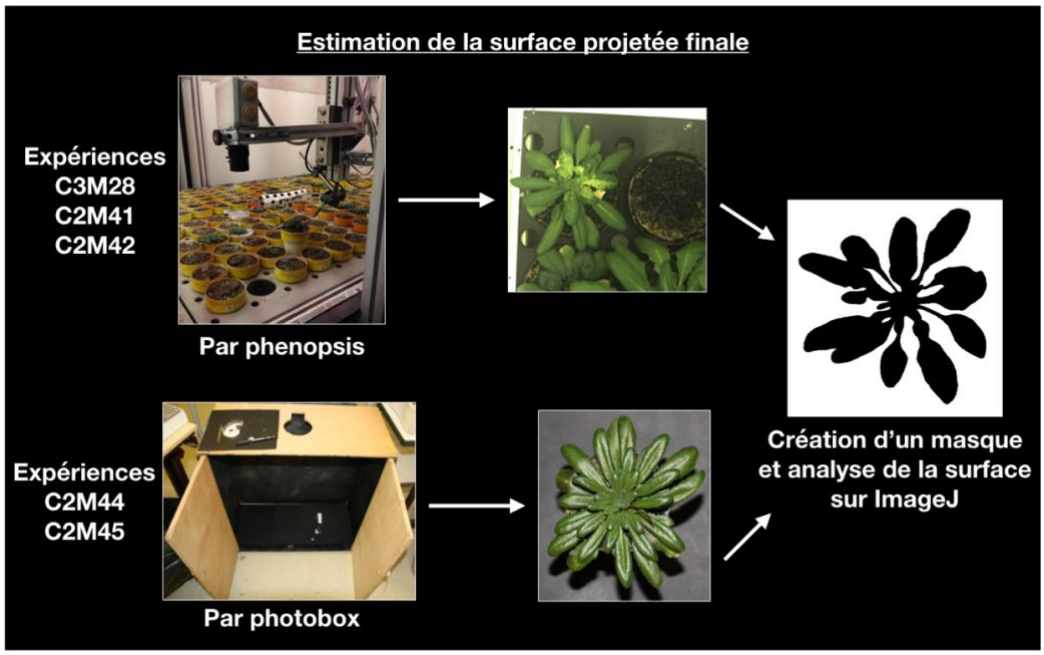


Figure M7 : Estimation de la surface projetée finale des plantes d'A. thaliana par analyse d'image.

b. Mesure de la fitness

Le nombre de jours avant la montaison (apparition du bouton floral) et le nombre de jours avant la floraison (ouverture de la première fleur) ont été calculés en rapportant les dates de la montaison et de la floraison à la date de germination. Des mesures de silique mature (taille de la tige principale, nombre de siliques matures) ont été effectuées sur toutes les plantes pendant la récolte. Ces mesures ont été réalisé sur des photographies issues de la photobox et analysé sur Image-J (Figure M8).

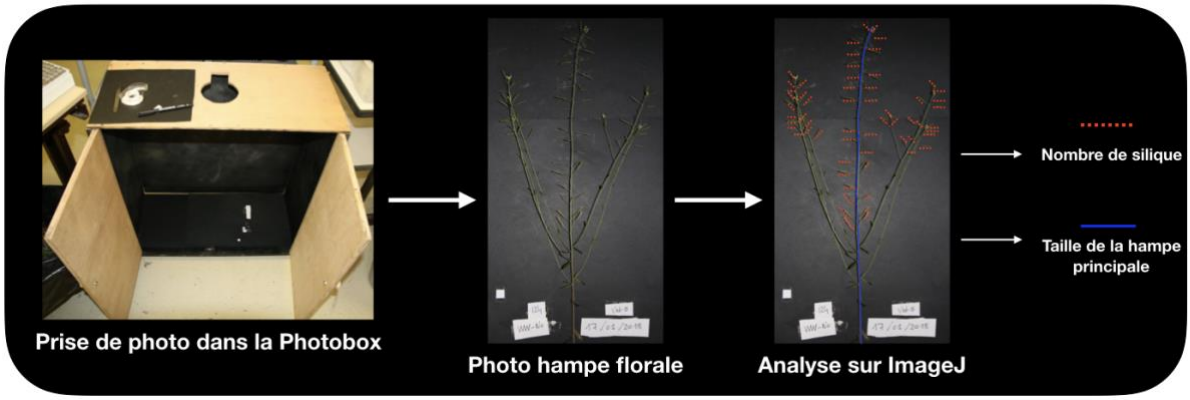


Figure M8 : Estimation du nombre de silique et de la taille de la hampe principale des plantes d'A. thaliana par analyse d'image.

6- Analyses statistiques des données

Toutes les analyses ont été effectuées dans l'environnement de programmation R (R Core Team, 2017). Pour chaque génotype, le changement relatif a été calculé comme le rapport de la différence entre la valeur de trait de chaque plante et la valeur de trait moyenne dans des conditions de contrôle sur la valeur de trait moyenne dans des conditions de contrôle (mean trait value$_{\text{given treatment}}$) − (mean trait value$_{\text{mock-inoculated:WW}}$)*100 / (mean trait value $_{\text{mock-inoculated:WW}}$). Pour chaque génotype, les effets des traitements sur la masse sèche, le taux de transmission, la charge virale ou la virulence ont été analysés par des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis. Le délai d'apparition des symptômes, la vitesse d'apparition des symptômes et la proportion maximale de plantes infectées ont été extraites pour chaque condition et génotype à partir de la régression logistique à l'aide de l'équation $A / (1 + \exp((4 * \mu / A) * (\lambda - t) + 2))$, où A est le taux d'infection maximum, λ est le temps nécessaire à l'apparition d'un symptôme systémique sur une feuille non inoculée et μ est le temps nécessaire à la détection de symptômes systémiques sur la plante entière. Des tests ANOVA robustes pour tous les effets principaux et interactifs (génotype, infection virale et irrigation) ont été réalisés pour chaque génotype à l'aide de la fonction correspondante du package RFIT. Des intervalles de confiance (IC) initialisés à 95% des valeurs de trait moyen ont été calculés en suivant la procédure mean_cl_boot du package HMISC. Les modèles non linéaires ont été ajustés à l'aide de la fonction nls et les intervalles de confiance à 95% pour les paramètres des modèles ajustés ont été calculés avec la fonction de configuration du package MASS. Les modèles linéaires généralisés ont été testés à l'aide de la fonction glm du package STAT. Les relations entre les traits ont été testées avec les coefficients de corrélation de Pearson (r), le cas échéant, ou avec les coefficients de corrélation de rang de Spearman (ρ), à l'aide de la fonction cor.test.

REFERENCES

Adhab M, Angel C, Leisner S, Schoelz JE (2018) The P1 gene of Cauliflower mosaic virus is responsible for breaking resistance in Arabidopsis thaliana ecotype Enkheim (En-2). Virology **523**: 15–21

Adie BAT, Pérez-Pérez J, Pérez-Pérez MM, Godoy M, Sánchez-Serrano J-J, Schmelz EA, Solano R (2007) ABA Is an Essential Signal for Plant Resistance to Pathogens Affecting JA Biosynthesis and the Activation of Defenses in Arabidopsis. Plant Cell **19**: 1665–1681

Adio AM, Casteel CL, Vos MD, Kim JH, Joshi V, Li B, Juéry C, Daron J, Kliebenstein DJ, Jander G (2011) Biosynthesis and Defensive Function of Nδ-Acetylornithine, a Jasmonate-Induced Arabidopsis Metabolite. Plant Cell **23**: 3303–3318

Agnew P, C. Koella J, Michalakis Y (2000) Host life history responses to parasitism. Microbes Infect **2**: 891–896

Aguilar E, Allende L, del Toro FJ, Chung B-N, Canto T, Tenllado F (2015) Effects of Elevated CO2 and Temperature on Pathogenicity Determinants and Virulence of Potato virus X/Potyvirus-Associated Synergism. Mol Plant Microbe Interact **28**: 1364–1373

Aguirrezabal L, Bouchier-Combaud S, Radziejwoski A, Dauzat M, Cookson SJ, Granier C (2006) Plasticity to soil water deficit in Arabidopsis thaliana: dissection of leaf development into underlying growth dynamic and cellular variables reveals invisible phenotypes. Plant Cell Environ **29**: 2216–2227

Alamillo JM, Saénz P, García JA (2006) Salicylic acid-mediated and RNA-silencing defense mechanisms cooperate in the restriction of systemic spread of plum pox virus in tobacco. Plant J **48**: 217–227

Alazem M, Lin N-S (2017) Antiviral Roles of Abscisic Acid in Plants. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2017.01760

Al-Bahrany AM (King FU (2002) Callus growth and proline accumulation in response to polyethylene glycol- induced osmotic stress in rice, Oryza sativa L. Pak. J. Biol. Sci. Pak.

Alizon S, Hurford A, Mideo N, Van Baalen M (2009) Virulence evolution and the trade-off hypothesis: history, current state of affairs and the future. J Evol Biol **22**: 245–259

Alizon S, Michalakis Y (2015) Adaptive virulence evolution: the good old fitness-based approach. Trends Ecol Evol **30**: 248–254

Alonso-Blanco C, Andrade J, Becker C, Bemm F, Bergelson J, Borgwardt KM, Cao J, Chae E, Dezwaan TM, Ding W, et al (2016) 1,135 Genomes Reveal the Global Pattern of Polymorphism in Arabidopsis thaliana. Cell **166**: 481–491

Alonso-Blanco C, Koornneef M (2000) Naturally occurring variation in Arabidopsis: an underexploited resource for plant genetics. Trends Plant Sci **5**: 22–29

Anderson PK, Cunningham AA, Patel NG, Morales FJ, Epstein PR, Daszak P (2004) Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. Trends Ecol Evol **19**: 535–544

Anderson RM, May RM (1982) Coevolution of hosts and parasites. Parasitology **85**: 411–426

Anstead J, Samuel P, Song N, Wu C, Thompson GA, Goggin F (2010) Activation of ethylene-related genes in response to aphid feeding on resistant and susceptible melon and tomato plants. Entomol Exp Appl **134**: 170–181

Apel K, Hirt H (2004) REACTIVE OXYGEN SPECIES: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. Annu Rev Plant Biol **55**: 373–399

Araus JL, Slafer GA, Reynolds MP, Royo C (2002) Plant Breeding and Drought in C3 Cereals: What Should We Breed For? Ann Bot **89**: 925–940

Argandoña VH, Chaman M, Cardemil L, Muñoz O, Zúñiga GE, Corcuera LJ (2001) Ethylene Production and Peroxidase Activity in Aphid-Infested Barley. J Chem Ecol **27**: 53–68

Arimura G-I, Ozawa R, Maffei ME (2011) Recent Advances in Plant Early Signaling in Response to Herbivory. Int J Mol Sci **12**: 3723–3739

Ashraf M, Akram NA, Al-Qurainy F, Foolad MR (2011) Chapter five - Drought Tolerance: Roles of Organic Osmolytes, Growth Regulators, and Mineral Nutrients. *In* DL Sparks, ed, Adv. Agron. Academic Press, pp 249–296

Asselbergh B, De Vleesschauwer D, Höfte M (2008) Global Switches and Fine-Tuning—ABA Modulates Plant Pathogen Defense. Mol Plant Microbe Interact **21**: 709–719

Assmann SM (2013) Natural Variation in Abiotic Stress and Climate Change Responses in Arabidopsis: Implications for Twenty-First-Century Agriculture. Int J Plant Sci **174**: 3–26

Atkinson NJ, Lilley CJ, Urwin PE (2013) Identification of genes involved in the response of Arabidopsis to simultaneous biotic and abiotic stresses. Plant Physiol **162**: 2028–2041

Atkinson NJ, Urwin PE (2012) The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. J Exp Bot **63**: 3523–3543

Atreya CD, Atreya PL, Thornbury DW, Pirone TP (1992) Site-directed mutations in the potyvirus HC-Pro gene affect helper component activity, virus accumulation, and symptom expression in infected tobacco plants. Virology **191**: 106–111

Baduel P, Arnold B, Weisman CM, Hunter B, Bomblies K (2016) Habitat-Associated Life History and Stress-Tolerance Variation in Arabidopsis arenosa. Plant Physiol **171**: 437–451

Bak A, Patton MF, Perilla-Henao LM, Aegerter BJ, Casteel CL (2019) Ethylene signaling mediates potyvirus spread by aphid vectors. Oecologia. doi: 10.1007/s00442-019-04405-0

Ballaré CL (2014) Light Regulation of Plant Defense. Httpdxdoiorg101146annurev-Arplant-050213-040145. doi: 10.1146/annurev-arplant-050213-040145

Banik MT, Zitter TA (1990) Determination of cucumber mosaic virus titer in muskmelon by enzyme-linked immunosorbent assay and correlation with aphid transmission. Plant Dis **74**: 857–859

Bansal S, Thakur A, Singh S, Bakshi M, Bansal S (2019) Changes in crop physiology under drought stress: A review. 4

Bari R, Jones JDG (2009) Role of plant hormones in plant defence responses. Plant Mol Biol **69**: 473–488

Bartels D, Sunkar R (2005) Drought and Salt Tolerance in Plants. Crit Rev Plant Sci **24**: 23–58

Baxter A, Mittler R, Suzuki N (2014) ROS as key players in plant stress signalling. J Exp Bot **65**: 1229–1240

Bedford ID, Briddon RW, Brown JK, Rosell RC, Markham PG (1994) Geminivirus transmission and biological characterisation of Bemisia tabaci (Gennadius) biotypes from different geographic regions. Ann Appl Biol **125**: 311–325

Bernardo P, Muhire B, François S, Deshoux M, Hartnady P, Farkas K, Kraberger S, Filloux D, Fernandez E, Galzi S, et al (2016) Molecular characterization and prevalence of two capulaviruses: Alfalfa leaf curl virus from France and Euphorbia caput-medusae latent virus from South Africa. Virology **493**: 142–153

Berthelot E, Ducousso M, Macia J-L, Bogaert F, Baecker V, Thébaud G, Gallet R, Yvon M, Blanc S, Khelifa M, et al (2019) Turnip mosaic virus is a second example of a virus using transmission activation for plant-to-plant propagation by aphids. J Virol JVI.01822-18

Biezen EAVD, Jones JDG (1998) Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. Trends Biochem Sci **23**: 454–456

Blanc S, Drucker M, Uzest M (2014) Localizing Viruses in Their Insect Vectors. Annu Rev Phytopathol **52**: 403–425

Blanc S, Michalakis Y (2016) Manipulation of hosts and vectors by plant viruses and impact of the environment. Curr Opin Insect Sci **16**: 36–43

Blanc S, Schmidt I, Vantard M, Scholthof HB, Kuhl G, Esperandieu P, Cerutti M, Louis C (1996) The aphid transmission factor of cauliflower mosaic virus forms a stable complex with microtubules in both insect and plant cells. Proc Natl Acad Sci **93**: 15158–15163

Blanc S, Uzest M, Drucker M (2011) New research horizons in vector-transmission of plant viruses. Curr Opin Microbiol **14**: 483–491

Blonder B, Vasseur F, Violle C, Shipley B, Enquist BJ, Vile D (2015) Testing models for the leaf economics spectrum with leaf and whole-plant traits in Arabidopsis thaliana. AoB PLANTS. doi: 10.1093/aobpla/plv049

Blum A (2005) Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential—are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? Aust J Agric Res **56**: 1159–1168

Blum A (2011) Drought resistance – is it really a complex trait? Funct Plant Biol **38**: 753–757

Blumenthal D, Mitchell CE, Pyšek P, Jarošík V (2009) Synergy between pathogen release and resource availability in plant invasion. Proc Natl Acad Sci **106**: 7899–7904

Bommarco R, Kleijn D, Potts SG (2013) Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. Trends Ecol Evol **28**: 230–238

Bos JIB, Prince D, Pitino M, Maffei ME, Win J, Hogenhout SA (2010) A Functional Genomics Approach Identifies Candidate Effectors from the Aphid Species Myzus persicae (Green Peach Aphid). PLOS Genet **6**: e1001216

Bradley DJ, Kjellbom P, Lamb CJ (1992) Elicitor- and wound-induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cell wall protein: A novel, rapid defense response. Cell **70**: 21–30

Bragard C, Caciagli P, Lemaire O, Lopez-Moya JJ, MacFarlane S, Peters D, Susi P, Torrance L (2013) Status and prospects of plant virus control through interference with vector transmission. Annu Rev Phytopathol **51**: 177–201

Brault V, van den Heuvel J f., Verbeek M, Ziegler-Graff V, Reutenauer A, Herrbach E, Garaud J c., Guilley H, Richards K, Jonard G (1995) Aphid transmission of beet western yellows luteovirus requires the minor capsid read-through protein P74. EMBO J **14**: 650–659

Brault V, Périgon S, Reinbold C, Erdinger M, Scheidecker D, Herrbach E, Richards K, Ziegler-Graff V (2005) The Polerovirus Minor Capsid Protein Determines Vector Specificity and Intestinal Tropism in the Aphid. J Virol **79**: 9685–9693

Brault V, Uzest M, Monsion B, Jacquot E, Blanc S (2010) Aphids as transport devices for plant viruses. C R Biol **333**: 524–538

Bray EA (1997) Plant responses to water deficit. Trends Plant Sci **2**: 48–54

Breitbart M, Rohwer F (2005) Here a virus, there a virus, everywhere the same virus? Trends Microbiol **13**: 278–284

Bresson J, Varoquaux F, Bontpart T, Touraine B, Vile D (2013) The PGPR strain Phyllobacterium brassicacearum STM196 induces a reproductive delay and physiological changes that result in improved drought tolerance in Arabidopsis. New Phytol **200**: 558–569

Bresson J, Vasseur F, Dauzat M, Koch G, Granier C, Vile D (2015) Quantifying spatial heterogeneity of chlorophyll fluorescence during plant growth and in response to water stress. Plant Methods **11**: 23

Bricault CA, Perry KL (2013) Alteration of intersubunit acid–base pair interactions at the quasi-threefold axis of symmetry of Cucumber mosaic virus disrupts aphid vector transmission. Virology **440**: 160–170

Bricchi I, Bertea CM, Occhipinti A, Paponov IA, Maffei ME (2012) Dynamics of Membrane Potential Variation and Gene Expression Induced by Spodoptera littoralis, Myzus persicae, and Pseudomonas syringae in Arabidopsis. PLOS ONE **7**: e46673

Broeke CJM ten, Dicke M, Loon JJA van (2013) Performance and feeding behaviour of two biotypes of the black currant-lettuce aphid, Nasonovia ribisnigri, on resistant and susceptible Lactuca sativa near-isogenic lines. Bull Entomol Res **103**: 511–521

Brunner I, Herzog C, Dawes MA, Arend M, Sperisen C (2015) How tree roots respond to drought. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2015.00547

Buckley TN (2005) The control of stomata by water balance. New Phytol **168**: 275–292

Buckley TN, Sack L, Gilbert ME (2011) The Role of Bundle Sheath Extensions and Life Form in Stomatal Responses to Leaf Water Status. Plant Physiol **156**: 962–973

Bureau M, Leh V, Haas M, Geldreich A, Ryabova L, Yot P, Keller M (2004) P6 protein of Cauliflower mosaic virus, a translation reinitiator, interacts with ribosomal protein L13 from Arabidopsis thaliana. J Gen Virol **85**: 3765–3775

Cakmak I (2005) The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. J Plant Nutr Soil Sci **168**: 521–530

Callaway A, Liu W, Andrianov V, Stenzler L, Zhao J, Wettlaufer S, Jayakumar P, Howell SH (1996) Characterization of cauliflower mosaic virus (CaMV) resistance in virus-resistant ecotypes of Arabidopsis. Mol Plant-Microbe Interact MPMI **9**: 810–818

Cambra M, Capote N, Myrta A, Llácer G (2006) Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease. EPPO Bull **36**: 202–204

Canto T, Palukaitis P (2002) Novel N Gene-Associated, Temperature-Independent Resistance to the Movement of Tobacco Mosaic Virus Vectors Neutralized by a Cucumber Mosaic Virus RNA1 Transgene. J Virol **76**: 12908–12916

Carmo-Sousa M, Moreno A, Garzo E, Fereres A (2014) A non-persistently transmitted-virus induces a pull–push strategy in its aphid vector to optimize transmission and spread. Virus Res **186**: 38–46

Carval D, Ferriere R (2010) A UNIFIED MODEL FOR THE COEVOLUTION OF RESISTANCE, TOLERANCE, AND VIRULENCE: RESISTANCE, TOLERANCE, AND VIRULENCE. Evolution no-no

Casadebaig P, Debaeke P, Lecoeur J (2008) Thresholds for leaf expansion and transpiration response to soil water deficit in a range of sunflower genotypes. Eur J Agron **28**: 646–654

Cecchini E, Al-Kaff NS, Bannister A, Giannakou ME, McCallum DG, Maule AJ, Milner JJ, Covey SN (1998) Pathogenic interactions between variants of cauliflower mosaic virus and Arabidopsis thaliana. J Exp Bot **49**: 731–737

Chandra-Shekara AC, Gupte M, Navarre D, Raina S, Raina R, Klessig D, Kachroo P (2006) Light-dependent hypersensitive response and resistance signaling against Turnip Crinkle Virus in Arabidopsis. Plant J **45**: 320–334

Chaudhary R, Atamian HS, Shen Z, Briggs SP, Kaloshian I (2014) GroEL from the endosymbiont Buchnera aphidicola betrays the aphid by triggering plant defense. Proc Natl Acad Sci **111**: 8919–8924

Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS (2003) Understanding plant responses to drought — from genes to the whole plant. Funct Plant Biol **30**: 239–264

Chaves MM, Pereira JS, Maroco J, Rodrigues ML, Ricardo CPP, Osório ML, Carvalho I, Faria T, Pinheiro C (2002) How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. Ann Bot **89**: 907–916

Chen C, Dickman MB (2005) Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen Colletotrichum trifolii. Proc Natl Acad Sci **102**: 3459–3464

Cheng RH, Olson NH, Baker TS (1992) Cauliflower Mosaic Virus: A 420 Subunit (T = 7), Multilayer Structure. Virology **186**: 655–668

Chisholm ST, Coaker G, Day B, Staskawicz BJ (2006) Host-Microbe Interactions: Shaping the Evolution of the Plant Immune Response. Cell **124**: 803–814

Choi HW, Klessig DF (2016) DAMPs, MAMPs, and NAMPs in plant innate immunity. BMC Plant Biol **16**: 232

Choudhury FK, Rivero RM, Blumwald E, Mittler R (2017) Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. Plant J **90**: 856–867

Christmann A, Weiler EW, Steudle E, Grill E (2007) A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. Plant J **52**: 167–174

Chung BN, Canto T, Tenllado F, Choi KS, Joa JH, Ahn JJ, Kim CH, Do KS (2016) The Effects of High Temperature on Infection by Potato virus Y, Potato virus A, and Potato leafroll virus. Plant Pathol J **32**: 321–328

Clover GRG, Smith HG, Azam-Ali SN, Jaggard KW (1999) The effects of drought on sugar beet growth in isolation and in combination with beet yellows virus infection. J Agric Sci **133**: 251–261

Collar JL, Avilla C, Fereres A (1997) New Correlations Between Aphid Stylet Paths and Nonpersistent Virus Transmission. Environ Entomol **26**: 537–544

Coolen S, Proietti S, Hickman R, Olivas NHD, Huang P-P, Verk MCV, Pelt JAV, Wittenberg AHJ, Vos MD, Prins M, et al (2016) Transcriptome dynamics of Arabidopsis during sequential biotic and abiotic stresses. Plant J **86**: 249–267

Czerniewicz P, Sytykiewicz H, Durak R, Borowiak-Sobkowiak B, Chrzanowski G (2017) Role of phenolic compounds during antioxidative responses of winter triticale to aphid and beetle attack. Plant Physiol Biochem **118**: 529–540

Dáder B, Fereres A, Moreno A, Trębicki P (2016) Elevated CO2 impacts bell pepper growth with consequences to Myzus persicae life history, feeding behaviour and virus transmission ability. Sci Rep. doi: 10.1038/srep19120

Dáder B, Then C, Berthelot E, Ducousso M, Ng JCK, Drucker M (2017) Insect transmission of plant viruses: multilayered interactions optimize viral propagation: Virus-insect-plant interactions in transmission. Insect Sci 929–946

Damour G, Simonneau T, Cochard H, Urban L (2010) An overview of models of stomatal conductance at the leaf level. Plant Cell Environ **33**: 1419–1438

Damsteegt VD, Scorza R, Stone AL, Schneider WL, Webb K, Demuth M, Gildow FE (2007) Prunus Host Range of Plum pox virus (PPV) in the United States by Aphid and Graft Inoculation. Plant Dis **91**: 18–23

Dautel S, Guidasci T, Pique M, Mougeot J-L, Lebeurier G, Yot P, Mesnard J-M (1994) The Full-Length Product of Cauliflower Mosaic Virus Open Reading Frame Ill Is Associated with the Viral Particle. Virology **202**: 1043–1045

Davies PJ (2012) Plant Hormones and their Role in Plant Growth and Development. Springer Science & Business Media

Davies WJ, Zhang J (1991) Root Signals and the Regulation of Growth and Development of Plants in Drying Soil. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol **42**: 55–76

Davletova S, Schlauch K, Coutu J, Mittler R (2005) The Zinc-Finger Protein Zat12 Plays a Central Role in Reactive Oxygen and Abiotic Stress Signaling in Arabidopsis. Plant Physiol **139**: 847–856

De Paula FM, Thi ATP, De Silva JV, Justin AM, Demandre C, Mazliak P (1990) Effects of water stress on the molecular species composition of polar lipids from Vigna unguiculata L. leaves. Plant Sci **66**: 185–193

Delseny M, Hull R (1983) Isolation and characterization of faithful and altered clones of the genomes of cauliflower mosaic virus isolates Cabb B-JI, CM4-184, and Bari I. Plasmid **9**: 31–41

Díaz S, Kattge J, Cornelissen JHC, Wright IJ, Lavorel S, Dray S, Reu B, Kleyer M, Wirth C, Colin Prentice I, et al (2016) The global spectrum of plant form and function. Nature **529**: 167–171

Dietzgen RG, Mann KS, Johnson KN (2016) Plant Virus–Insect Vector Interactions: Current and Potential Future Research Directions. Viruses. doi: 10.3390/v8110303

Dixon LK, Koenig I, Hohn T (1983) Mutagenesis of cauliflower mosaic virus. Gene **25**: 189–199

Djilianov D, Georgieva T, Moyankova D, Atanassov A, Shinozaki K, Smeeken SCM, Verma DPS, Murata N (2005) Improved Abiotic Stress Tolerance in Plants by Accumulation of Osmoprotectants—Gene Transfer Approach. Biotechnol Biotechnol Equip **19**: 63–71

Dodd AN, Kudla J, Sanders D (2010) The Language of Calcium Signaling. Annu Rev Plant Biol **61**: 593–620

Dorokhov YL, Komarova TV, Petrunia IV, Frolova OY, Pozdyshev DV, Gleba YY (2012) Airborne signals from a wounded leaf facilitate viral spreading and induce antibacterial resistance in neighboring plants. PLOS Pathog **8**: e1002640

Doumayrou J, Avellan A, Froissart R, Michalakis Y (2013a) An experimental test of the transmission-virulence trade-off hypothesis in a plant virus. Evolution **67**: 477–486

Doumayrou J, Leblaye S, Froissart R, Michalakis Y (2013b) Reduction of leaf area and symptom severity as proxies of disease-induced plant mortality: The example of the Cauliflower mosaic virus infecting two Brassicaceae hosts. Virus Res **176**: 91–100

Drucker M, Froissart R, Hébrard E, Uzest M, Ravallec M, Espérandieu P, Mani J-C, Pugnière M, Roquet F, Fereres A, et al (2002) Intracellular distribution of viral gene products regulates a complex mechanism of cauliflower mosaic virus acquisition by its aphid vector. Proc Natl Acad Sci **99**: 2422–2427

Du Y-L, Wang Z-Y, Fan J-W, Turner NC, He J, Wang T, Li F-M (2013) Exogenous abscisic acid reduces water loss and improves antioxidant defence, desiccation tolerance and transpiration efficiency in two spring wheat cultivars subjected to a soil water deficit. Funct Plant Biol **40**: 494–506

Duchen MR (1999) Contributions of mitochondria to animal physiology: from homeostatic sensor to calcium signalling and cell death. J Physiol **516**: 1–17

Duveiller EM, Sharma RC (2009) Genetic Improvement and Crop Management Strategies to Minimize Yield Losses in Warm Non-traditional Wheat Growing Areas due to Spot Blotch Pathogen Cochliobolus sativus. J Phytopathol **157**: 521–534

Ebert D, Bull JJ (2003) Challenging the trade-off model for the evolution of virulence: is virulence management feasible? Trends Microbiol **11**: 15–20

Ellis C, Karafyllidis I, Turner JG (2002) Constitutive Activation of Jasmonate Signaling in an Arabidopsis Mutant Correlates with Enhanced Resistance to Erysiphe cichoracearum, Pseudomonas syringae, and Myzus persicae. Mol Plant Microbe Interact **15**: 1025–1030

El-Lithy ME, Reymond M, Stich B, Koornneef M, Vreugdenhil D (2010) Relation among plant growth, carbohydrates and flowering time in the Arabidopsis Landsberg erecta × Kondara recombinant inbred line population. Plant Cell Environ **33**: 1369–1382

Esau K (1968) Viruses in plant hosts. Form, distribution, and pathologic effects. Viruses Plant Hosts Form Distrib. Pathol. Eff.

Esau K, Hoefert LL (1972) Development of infection with beet western yellows virus in the sugarbeet. Virology **48**: 724–738

Escriu F, Perry KL, García-Arenal F (2000) Transmissibility of Cucumber mosaic virus by Aphis gossypii Correlates with Viral Accumulation and Is Affected by the Presence of Its Satellite RNA. Phytopathology **90**: 1068–1072

Ewald PW (1983) Host-Parasite Relations, Vectors, and the Evolution of Disease Severity. Annu Rev Ecol Syst **14**: 465–485

Fabre J, Dauzat M, Nègre V, Wuyts N, Tireau A, Gennari E, Neveu P, Tisné S, Massonnet C, Hummel I, et al (2011) PHENOPSIS DB: an information system for Arabidopsis thaliana phenotypic data in an environmental context. BMC Plant Biol **11**: 77

Fang Y, Xiong L (2015) General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. Cell Mol Life Sci **72**: 673–689

Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agron Sustain Dev **29**: 185–212

Farquhar GD, Sharkey TD (1982) Stomatal Conductance and Photosynthesis. Annu Rev Plant Physiol **33**: 317–345

Fereres A, Moreno A (2009) Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. Virus Res **141**: 158–168

Filiault DL, Maloof JN (2012) A Genome-Wide Association Study Identifies Variants Underlying the Arabidopsis thaliana Shade Avoidance Response. PLOS Genet **8**: e1002589

Fine PEM (1975) Vectors and Vertical Transmission: An Epidemiologic Perspective. Ann N Y Acad Sci **266**: 173–194

Foyer CH, Noctor G (2005) Redox Homeostasis and Antioxidant Signaling: A Metabolic Interface between Stress Perception and Physiological Responses. Plant Cell **17**: 1866–1875

Fraile A, García-Arenal F (2016) Environment and evolution modulate plant virus pathogenesis. Curr Opin Virol **17**: 50–56

Franck A, Guilley H, Jonard G, Richards K, Hirth L (1980) Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA. Cell **21**: 285–294

Frankham R (1999) Quantitative genetics in conservation biology. Genet Res **74**: 237–244

Franz AWE, van der Wilk F, Verbeek M, Dullemans AM, van den Heuvel JFJM (1999) Faba Bean Necrotic Yellows Virus (Genus Nanovirus) Requires a Helper Factor for Its Aphid Transmission. Virology **262**: 210–219

Fraser RSS (2003) The Genetics of Resistance to Plant Viruses. http://dx.doi.org/101146/annurev.py28090190001143. doi: 10.1146/annurev.py.28.090190.001143

Froissart R, Doumayrou J, Vuillaume F, Alizon S, Michalakis Y (2010a) The virulence–transmission trade-off in vector-borne plant viruses: a review of (non-)existing studies. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **365**: 1907–1918

Froissart R, Doumayrou J, Vuillaume F, Alizon S, Michalakis Y (2010b) The virulence–transmission trade-off in vector-borne plant viruses: a review of (non-)existing studies. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **365**: 1907–1918

Furch ACU, Bel AJE van, Fricker MD, Felle HH, Fuchs M, Hafke JB (2009) Sieve Element Ca2+ Channels as Relay Stations between Remote Stimuli and Sieve Tube Occlusion in Vicia faba. Plant Cell **21**: 2118–2132

Gadjev I, Vanderauwera S, Gechev TS, Laloi C, Minkov IN, Shulaev V, Apel K, Inzé D, Mittler R, Breusegem FV (2006) Transcriptomic Footprints Disclose Specificity of Reactive Oxygen Species Signaling in Arabidopsis. Plant Physiol **141**: 436–445

Garcia-Hernandez M, Berardini T, Chen G, Crist D, Doyle A, Huala E, Knee E, Lambrecht M, Miller N, Mueller LA, et al (2002) TAIR: a resource for integrated Arabidopsis data. Funct Integr Genomics **2**: 239–253

Gigon A, Matos A-R, Laffray D, Zuily-Fodil Y, Pham-Thi A-T (2004) Effect of Drought Stress on Lipid Metabolism in the Leaves of Arabidopsis thaliana (Ecotype Columbia). Ann Bot **94**: 345–351

Gilroy S, Białasek M, Suzuki N, Górecka M, Devireddy AR, Karpiński S, Mittler R (2016) ROS, Calcium, and Electric Signals: Key Mediators of Rapid Systemic Signaling in Plants. Plant Physiol **171**: 1606–1615

Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, Pretty J, Robinson S, Thomas SM, Toulmin C (2010) Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. Science **327**: 812–818

Gonsalves D, Garnsey SM (1989) Cross-protection techniques for control of plant virus diseases in the tropics. Plant Dis **73**: 592–597

Granier C, Aguirrezabal L, Chenu K, Cookson SJ, Dauzat M, Hamard P, Thioux J-J, Rolland G, Bouchier-Combaud S, Lebaudy A, et al (2006) PHENOPSIS, an automated platform for reproducible phenotyping of plant responses to soil water deficit in Arabidopsis thaliana permitted the identification of an accession with low sensitivity to soil water deficit. New Phytol **169**: 623–635

Grime JP (1977) Evidence for the Existence of Three Primary Strategies in Plants and Its Relevance to Ecological and Evolutionary Theory. Am Nat **111**: 1169–1194

Grime JP, Hunt R (1975) Relative Growth-Rate: Its Range and Adaptive Significance in a Local Flora. J Ecol **63**: 393–422

Grime JP, Thompson K, Hunt R, Hodgson JG, Cornelissen JHC, Rorison IH, Hendry GAF, Ashenden TW, Askew AP, Band SR, et al (1997) Integrated Screening Validates Primary Axes of Specialisation in Plants. Oikos **79**: 259–281

Guo H, Sun Y, Peng X, Wang Q, Harris M, Ge F (2016) Up-regulation of abscisic acid signaling pathway facilitates aphid xylem absorption and osmoregulation under drought stress. J Exp Bot **67**: 681–693

Guo W-Y, Kleunen M van, Winter M, Weigelt P, Stein A, Pierce S, Pergl J, Moser D, Maurel N, Lenzner B, et al (2018) The role of adaptive strategies in plant naturalization. Ecol Lett **21**: 1380–1389

Gutiérrez S, Michalakis Y, Van Munster M, Blanc S (2013) Plant feeding by insect vectors can affect life cycle, population genetics and evolution of plant viruses. Funct Ecol **27**: 610–622

Haas M, Bureau M, Geldreich A, Yot P, Keller M (2002) Cauliflower mosaic virus: still in the news. Mol Plant Pathol **3**: 419–429

Haas M, Geldreich A, Bureau M, Dupuis L, Leh V, Vetter G, Kobayashi K, Hohn T, Ryabova L, Yot P, et al (2005) The Open Reading Frame VI Product of Cauliflower mosaic virus Is a Nucleocytoplasmic Protein: Its N Terminus Mediates Its Nuclear Export and Formation of Electron-Dense Viroplasms. Plant Cell **17**: 927–943

Harb A, Krishnan A, Ambavaram MMR, Pereira A (2010) Molecular and Physiological Analysis of Drought Stress in Arabidopsis Reveals Early Responses Leading to Acclimation in Plant Growth. Plant Physiol **154**: 1254–1271

Harries P, Ding B (2011) Cellular factors in plant virus movement: At the leading edge of macromolecular trafficking in plants. Virology **411**: 237–243

Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu J-K, Bohnert HJ (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol **51**: 463–499

Hébrard E, Froissart R, Louis C, Blanc S (1999) Les modes de transmission des virus phytopathogènes par vecteurs. Virologie **3**: 35–48

Heinlein M (2015) Plant virus replication and movement. Virology **479**–**480**: 657–671

Herms DA, Mattson WJ (1992) The Dilemma of Plants: To Grow or Defend. Q Rev Biol **67**: 283–335

Hily J-M, Poulicard N, Mora M-Á, Pagán I, García-Arenal F (2016) Environment and host genotype determine the outcome of a plant–virus interaction: from antagonism to mutualism. New Phytol **209**: 812–822

Hipper C, Brault V, Ziegler-Graff V, Revers F (2013) Viral and cellular factors involved in phloem transport of plant viruses. Front Plant Sci **4**: 1–24

Hodgson JG, Wilson PJ, Hunt R, Grime JP, Thompson K (1999) Allocating C-S-R Plant Functional Types: A Soft Approach to a Hard Problem. Oikos **85**: 282–294

Hoekstra FA, Golovina EA, Buitink J (2001) Mechanisms of plant desiccation tolerance. Trends Plant Sci **6**: 431–438

Hogenhout SA, Ammar E-D, Whitfield AE, Redinbaugh MG (2008) Insect Vector Interactions with Persistently Transmitted Viruses*. http://dx.doi.org/101146/annurev.phyto022508092135. doi: 10.1146/annurev.phyto.022508.092135

Hogenhout SA, Bos JI (2011) Effector proteins that modulate plant–insect interactions. Curr Opin Plant Biol **14**: 422–428

Hoh F, Uzest M, Drucker M, Plisson-Chastang C, Bron P, Blanc S, Dumas C (2010) Structural Insights into the Molecular Mechanisms of Cauliflower Mosaic Virus Transmission by Its Insect Vector. J Virol **84**: 4706–4713

Horváth E, Szalai G, Janda T (2007) Induction of Abiotic Stress Tolerance by Salicylic Acid Signaling. J Plant Growth Regul **26**: 290–300

Hsiao TC (1973) Plant Responses to Water Stress. Annu Rev Plant Physiol **24**: 519–570

Huang L, Ren Q, Sun Y, Ye L, Cao H, Ge F (2012) Lower incidence and severity of tomato virus in elevated CO2 is accompanied by modulated plant induced defence in tomato. Plant Biol **14**: 905–913

Huberty AF, Denno RF (2004) Plant Water Stress and Its Consequences for Herbivorous Insects: A New Synthesis. Ecology **85**: 1383–1398

Hull R (1994) Molecular Biology of Plant Virus-Vector Interactions. *In* KF Harris, ed, Adv. Dis. Vector Res. Springer New York, New York, NY, pp 361–386

Ingram J, Bartels D (1996) The Molecular Basis of Dehydration Tolerance in Plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol **47**: 377–403

Ingwell LL, Eigenbrode SD, Bosque-Pérez NA (2012) Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. Sci Rep **2**: 578

Jackson RB, Sperry JS, Dawson TE (2000) Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions. Trends Plant Sci **5**: 482–488

Jaleel CA (DMJM I (Cansult ML, Manivannan P (Annamalai U, Wahid A (University of A, Farooq M (University of A, Al-Juburi HJ (Annamalai U, Somasundaram R (Annamalai U, Vam RP (Annamalai U (2009) Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. Int. J. Agric. Biol. Pak.

Jalmi SK, Sinha AK (2015) ROS mediated MAPK signaling in abiotic and biotic stress-striking similarities and differences. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2015.00769

Janda M, Ruelland E (2015) Magical mystery tour: Salicylic acid signalling. Environ Exp Bot **114**: 117–128

Jaspers P, Kangasjärvi J (2010) Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. Physiol Plant **138**: 405–413

Jia D, Chen Q, Mao Q, Zhang X, Wu W, Chen H, Yu X, Wang Z, Wei T (2018) Vector mediated transmission of persistently transmitted plant viruses. Curr Opin Virol **28**: 127–132

Johnson R (1984) A Critical Analysis of Durable Resistance. Annu Rev Phytopathol **22**: 309–330

Jones JDG, Dangl JL (2006) The plant immune system. Nature **444**: 323

Jones RAC (2009) Plant virus emergence and evolution: Origins, new encounter scenarios, factors driving emergence, effects of changing world conditions, and prospects for control. Virus Res **141**: 113–130

Jones RAC (2006) Control of Plant Virus Diseases. Adv. Virus Res. Academic Press, pp 205–244

Kadota Y, Shirasu K, Zipfel C (2015) Regulation of the NADPH Oxidase RBOHD During Plant Immunity. Plant Cell Physiol **56**: 1472–1480

Kafle D, Hänel A, Lortzing T, Steppuhn A, Wurst S (2017) Sequential above- and belowground herbivory modifies plant responses depending on herbivore identity. BMC Ecol **17**: 5

Kanchiswamy CN, Takahashi H, Quadro S, Maffei ME, Bossi S, Bertea C, Zebelo SA, Muroi A, Ishihama N, Yoshioka H, et al (2010) Regulation of Arabidopsis defense responses against Spodoptera littoralisby CPK-mediated calcium signaling. BMC Plant Biol **10**: 97

Kanvil S, Powell G, Turnbull C (2014) Pea aphid biotype performance on diverse Medicago host genotypes indicates highly specific virulence and resistance functions. Bull Entomol Res **104**: 689–701

Karsies A, Hohn T, Leclerc D (2001) Degradation signals within both terminal domains of the cauliflower mosaic virus capsid protein precursor. Plant J **27**: 335–343

Kauss H, Jeblick W, Young DH (1983) Chitin Deacetylase from the Plant Pathogen Colletotrichum Lindemuthianum. Plant Sci Lett **28**: 231–236

Kazan K (2015) Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance. Trends Plant Sci **20**: 219–229

Kennedy JS, Day MF, Eastop VF (1962) A conspectus of aphids as vectors of plant viruses. Conspec. Aphids Vectors Plant Viruses

Kenney AM, McKay JK, Richards JH, Juenger TE (2014) Direct and indirect selection on flowering time, water-use efficiency (WUE, δ 13C), and WUE plasticity to drought in Arabidopsis thaliana. Ecol Evol **4**: 4505–4521

Kerchev PI, Fenton B, Foyer CH, Hancock RD (2012) Plant responses to insect herbivory: interactions between photosynthesis, reactive oxygen species and hormonal signalling pathways. Plant Cell Environ **35**: 441–453

Khan MIR, Fatma M, Per TS, Anjum NA, Khan NA (2015) Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2015.00462

Khelifa M, Journou S, Krishnan K, Gargani D, Espérandieu P, Blanc S, Drucker M (2007) Electron-lucent inclusion bodies are structures specialized for aphid transmission of cauliflower mosaic virus. J Gen Virol **88**: 2872–2880

Kiegle E, Moore CA, Haseloff J, Tester MA, Knight MR (2001) Cell-type-specific calcium responses to drought, salt and cold in the Arabidopsis root. Plant J **23**: 267–278

Kim K-H, Kabir E, Jahan SA (2017) Exposure to pesticides and the associated human health effects. Sci Total Environ **575**: 525–535

Kissoudis C, Chowdhury R, van Heusden S, van de Wiel C, Finkers R, Visser RGF, Bai Y, van der Linden G (2015) Combined biotic and abiotic stress resistance in tomato. Euphytica **202**: 317–332

Knight H, Trewavas AJ, Knight MR (1997) Calcium signalling in Arabidopsis thaliana responding to drought and salinity. Plant J **12**: 1067–1078

Koch G, Rolland G, Dauzat M, Bédiée A, Baldazzi V, Bertin N, Guédon Y, Granier C (2018) Are compound leaves more complex than simple ones? A multi-scale analysis. Ann Bot **122**: 1173–1185

Koornneef M, Alonso-Blanco C, Vreugdenhil D (2004) Naturally Occurring Genetic Variation in Arabidopsis Thaliana. Annu Rev Plant Biol **55**: 141–172

Koornneef M, Hanhart CJ, van der Veen JH (1991) A genetic and physiological analysis of late flowering mutants in Arabidopsis thaliana. Mol Gen Genet MGG **229**: 57–66

Kooyers NJ (2015) The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. Plant Sci **234**: 155–162

Korte A, Farlow A (2013) The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review. Plant Methods **9**: 29

Kozlowski TT (1968) Water deficit and plant growth. Vol. 1. Development, control and measurement. Water Deficit Plant Growth Vol 1 Dev. Control Meas.

Kröel-Dulay G, Ransijn J, Schmidt IK, Beier C, De Angelis P, de Dato G, Dukes JS, Emmett B, Estiarte M, Garadnai J, et al (2015) Increased sensitivity to climate change in disturbed ecosystems. Nat Commun **6**: 6682

Kudla J, Batistič O, Hashimoto K (2010) Calcium Signals: The Lead Currency of Plant Information Processing. Plant Cell **22**: 541–563

Kudla J, Becker D, Grill E, Hedrich R, Hippler M, Kummer U, Parniske M, Romeis T, Schumacher K (2018) Advances and current challenges in calcium signaling. New Phytol **218**: 414–431

Kurusu T, Kuchitsu K, Tada Y (2015) Plant signaling networks involving Ca2+ and Rboh/Nox-mediated ROS production under salinity stress. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2015.00427

Lacroix C, Seabloom EW, Borer ET (2017) Environmental Nutrient Supply Directly Alters Plant Traits but Indirectly Determines Virus Growth Rate. Front Microbiol. doi: 10.3389/fmicb.2017.02116

Lake JA, Wade RN (2009) Plant–pathogen interactions and elevated CO2: morphological changes in favour of pathogens. J Exp Bot **60**: 3123–3131

Lamesch P, Berardini TZ, Li D, Swarbreck D, Wilks C, Sasidharan R, Muller R, Dreher K, Alexander DL, Garcia-Hernandez M, et al (2012) The Arabidopsis Information Resource (TAIR): improved gene annotation and new tools. Nucleic Acids Res **40**: D1202–D1210

Lannou C (2011) Variation and Selection of Quantitative Traits in Plant Pathogens. Annu Rev Phytopathol **50**: 319–338

Lawlor DW (2013) Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. J Exp Bot **64**: 83–108

Lee I, Bleecker A, Amasino R (1993) Analysis of naturally occurring late flowering in Arabidopsis thaliana. Mol Gen Genet MGG **237**: 171–176

Lei W, Li P, Han Y, Gong S, Yang L, Hou M (2016) EPG Recordings Reveal Differential Feeding Behaviors in *Sogatella furcifera* in Response to Plant Virus Infection and Transmission Success. Sci Rep **6**: 30240

Leisner SM, Howell SH (1992) Symptom variation in different Arabidopsis thaliana ecotypes produced by cauliflower mosaic virus. Phytopathol. USA

Leisner SM, Turgeon R, Howell SH (1993) Effects of host plant development and genetic determinants on the long-distance movement of cauliflower mosaic virus in Arabidopsis. Plant Cell Online **5**: 191–202

Levitt J (1980) Responses of Plants to Environmental Stress, 2nd Edition, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses. Responses Plants Environ. Stress 2nd Ed. Vol. 1 Chill. Freez. High Temp. Stress.

Li B, Suzuki J-I, Hara T (1998) Latitudinal variation in plant size and relative growth rate in Arabidopsis thaliana. Oecologia **115**: 293–301

Lievens L, Pollier J, Goossens A, Beyaert R, Staal J (2017) Abscisic Acid as Pathogen Effector and Immune Regulator. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2017.00587

Lilley JM, Ludlow MM, McCouch SR, O'Toole JC (1996) Locating QTL for osmotic adjustment and dehydration tolerance in rice. J Exp Bot **47**: 1427–1436

Linz LB, Liu S, Chougule NP, Bonning BC (2015) In Vitro Evidence Supports Membrane Alanyl Aminopeptidase N as a Receptor for a Plant Virus in the Pea Aphid Vector. J Virol **89**: 11203–11212

Lipsitch M, Moxon ER (1997) Virulence and transmissibility of pathogens: what is the relationship? Trends Microbiol **5**: 31–37

Lipsitch M, Siller S, Nowak MA (1996) The Evolution of Virulence in Pathogens with Vertical and Horizontal Transmission. Evolution **50**: 1729–1741

Liu B, Sun L, Ma L, Hao F-S (2017) Both AtrbohD and AtrbohF are essential for mediating responses to oxygen deficiency in Arabidopsis. Plant Cell Rep **36**: 947–957

Liu Y, Fiskum G, Schubert D (2002) Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. J Neurochem **80**: 780–787

Liu Y, He C (2016) Regulation of plant reactive oxygen species (ROS) in stress responses: learning from AtRBOHD. Plant Cell Rep **35**: 995–1007

Louis J, Shah J (2013) Arabidopsis thaliana—Myzus persicae interaction: shaping the understanding of plant defense against phloem-feeding aphids. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2013.00213

Love AJ, Geri C, Laird J, Carr C, Yun B-W, Loake GJ, Tada Y, Sadanandom A, Milner JJ (2012) Cauliflower mosaic virus Protein P6 Inhibits Signaling Responses to Salicylic Acid and Regulates Innate Immunity. PLoS ONE **7**: e47535

Lu S, Chen M, Li J, Shi Y, Gu Q, Yan F (2019) Changes in Bemisia tabaci feeding behaviors caused directly and indirectly by cucurbit chlorotic yellows virus. Virol J **16**: 106

Ludlow (1989) Strategies of response to water stress. https://publications.csiro.au/rpr/pub?list=BRO&pid=procite:de5798db-fbcd-4558-99be-1076567d5131

Ludwig AA, Saitoh H, Felix G, Freymark G, Miersch O, Wasternack C, Boller T, Jones JDG, Romeis T (2005) Ethylene-mediated cross-talk between calcium-dependent protein kinase and MAPK signaling controls stress responses in plants. Proc Natl Acad Sci **102**: 10736–10741

Macho AP, Boutrot F, Rathjen JP, Zipfel C (2012) ASPARTATE OXIDASE Plays an Important Role in Arabidopsis Stomatal Immunity. Plant Physiol **159**: 1845–1856

Mahmood I, Imadi SR, Shazadi K, Gul A, Hakeem KR (2016) Effects of Pesticides on Environment. *In* KR Hakeem, MS Akhtar, SNA Abdullah, eds, Plant Soil Microbes Vol. 1 Implic. Crop Sci. Springer International Publishing, Cham, pp 253–269

Malmstrom CM, Melcher U, Bosque-Pérez NA (2011) The expanding field of plant virus ecology: Historical foundations, knowledge gaps, and research directions. Virus Res **159**: 84–94

Mantelin S, Bhattarai KK, Kaloshian I (2009) Ethylene contributes to potato aphid susceptibility in a compatible tomato host. New Phytol **183**: 444–456

Markham PG, Pinner MS, Raccah B, Hull R (1987) The acquisition of a caulimovirus by different aphid species: comparison with a potyvirus. Ann Appl Biol **111**: 571–587

Marquez LM, Redman RS, Rodriguez RJ, Roossinck MJ (2007) A Virus in a Fungus in a Plant: Three-Way Symbiosis Required for Thermal Tolerance. Science **315**: 513–515

Martinez-Medina A, Flors V, Heil M, Mauch-Mani B, Pieterse CMJ, Pozo MJ, Ton J, van Dam NM, Conrath U (2016) Recognizing Plant Defense Priming. Trends Plant Sci **21**: 818–822

Martínez-Vilalta J, Garcia-Forner N (2017) Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: deconstructing the iso/anisohydric concept. Plant Cell Environ **40**: 962–976

Martinière A, Bak A, Macia J-L, Lautredou N, Gargani D, Doumayrou J, Garzo E, Moreno A, Fereres A, Blanc S, et al (2013) A virus responds instantly to the presence of the vector on the host and forms transmission morphs. eLife **2**: e00183

Martinière A, Zancarini A, Drucker M (2009) Aphid transmission of Cauliflower mosaic virus. Plant Signal Behav **4**: 548–550

Matros A, Amme S, Kettig B, Buck-Sorlin GH, Sonnewald U, Mock H-P (2006) Growth at elevated CO2 concentrations leads to modified profiles of secondary metabolites in tobacco cv. SamsunNN and to increased resistance against infection with potato virus Y. Plant Cell Environ **29**: 126–137

Matthews REF (1991) Plant Virology. Academic Press, San Diego , CA , USA

Mauch-Mani B, Baccelli I, Luna E, Flors V (2017) Defense Priming: An Adaptive Part of Induced Resistance. Annu Rev Plant Biol **68**: 485–512

Mauck KE, De CM, Mescher MC (2010) Deceptive chemical signals induced by a plant virus attract insect vectors to inferior hosts. Proc Natl Acad Sci U S A **107**: 3600–3605

Mauck KE, Moraes CMD, Mescher MC (2014) Biochemical and physiological mechanisms underlying effects of Cucumber mosaic virus on host-plant traits that mediate transmission by aphid vectors. Plant Cell Environ **37**: 1427–1439

May R-L, Warner S, Wingler A (2017) Classification of intra-specific variation in plant functional strategies reveals adaptation to climate. Ann Bot **119**: 1343–1352

Mayek-Pérez N, GarcÍa-Espinosa R, Lopez-CastaÑeda Cá, Acosta-Gallegos JA, Simpson J (2002) Water relations, histopathology and growth of common bean (Phaseolus vulgaris L.) during pathogenesis of Macrophomina phaseolina under drought stress. Physiol Mol Plant Pathol **60**: 185–195

Mayo MA, Ziegler-Graff V (1996) Molecular Biology of Luteoviruses. *In* K Maramorosch, FA Murphy, AJ Shatkin, eds, Adv. Virus Res. Academic Press, pp 413–460

Mazzolini L, Bonneville JM, Volovitch M, Magazin M, Yot P (1985) Strand-specific viral DNA synthesis in purified viroplasms isolated from turnip leaves infected with cauliflower mosaic virus. Virology **145**: 293–303

McDowell NG (2011) Mechanisms Linking Drought, Hydraulics, Carbon Metabolism, and Vegetation Mortality. Plant Physiol **155**: 1051–1059

Mckay JK, Richards JH, Mitchell-Olds T (2003) Genetics of drought adaptation in Arabidopsis thaliana: I. Pleiotropy contributes to genetic correlations among ecological traits. Mol Ecol **12**: 1137–1151

McMaster GS, White JW, Weiss A, Baenziger PS, Wilhelm WW, Porter JR, Jamieson PD (2008) Simulating Crop Phenological Responses to Water Deficits. Response Crops Ltd Water Underst Model Water Stress Eff Plant Growth Process **advancesinagric**: 277–300

Medina-Ortega KJ, Bosque-Pérez NA, Ngumbi E, Jiménez-Martínez ES, Eigenbrode SD (2009) Rhopalosiphum padi (Hemiptera: Aphididae) Responses to Volatile Cues From Barley Yellow Dwarf Virus–Infected Wheat. Environ Entomol **38**: 836–845

Melcher U (1989) Symptoms of Cauliflower Mosaic Virus Infection in Arabidopsis thaliana and Turnip. Bot Gaz **150**: 139–147

Melotto M, Underwood W, Koczan J, Nomura K, He SY (2006) Plant Stomata Function in Innate Immunity against Bacterial Invasion. Cell **126**: 969–980

Mink GI (1993) Pollen and Seed-Transmitted Viruses and Viroids. Annu Rev Phytopathol **31**: 375–402

Mittler R (2006) Abiotic stress, the field environment and stress combination. Trends Plant Sci **11**: 15–19

Mittler R, Blumwald E (2015) The Roles of ROS and ABA in Systemic Acquired Acclimation. Plant Cell **27**: 64–70

Mittler R, Vanderauwera S, Suzuki N, Miller G, Tognetti VB, Vandepoele K, Gollery M, Shulaev V, Van Breusegem F (2011) ROS signaling: the new wave? Trends Plant Sci **16**: 300–309

Montes N, Alonso-Blanco C, García-Arenal F (2019) Cucumber mosaic virus infection as a potential selective pressure on Arabidopsis thaliana populations. PLOS Pathog **15**: e1007810

Montes N, Pagán I (2019) Light Intensity Modulates the Efficiency of Virus Seed Transmission through Modifications of Plant Tolerance. Plants **8**: 304

Moreno A, Palacios I, Blanc S, Fereres A (2005) Intracellular Salivation Is the Mechanism Involved in the Inoculation of Cauliflower Mosaic Virus by Its Major Vectors Brevicoryne brassicae and Myzus persicae. Ann Entomol Soc Am **98**: 763–769

Mulot M, Monsion B, Boissinot S, Rastegar M, Meyer S, Bochet N, Brault V (2018) Transmission of Turnip yellows virus by Myzus persicae Is Reduced by Feeding Aphids on Double-Stranded RNA Targeting the Ephrin Receptor Protein. Front Microbiol. doi: 10.3389/fmicb.2018.00457

van Munster M, Yvon M, Vile D, Dader B, Fereres A, Blanc S (2017) Water deficit enhances the transmission of plant viruses by insect vectors. PLOS ONE **12**: e0174398

Mysore KS, Ryu C-M (2004) Nonhost resistance: how much do we know? Trends Plant Sci **9**: 97–104

Nachappa P, Culkin CT, Saya PM, Han J, Nalam VJ (2016) Water Stress Modulates Soybean Aphid Performance, Feeding Behavior, and Virus Transmission in Soybean. Plant Biot Interact 552

Nancarrow N, Constable FE, Finlay KJ, Freeman AJ, Rodoni BC, Trebicki P, Vassiliadis S, Yen AL, Luck JE (2014) The effect of elevated temperature on Barley yellow dwarf virus-PAV in wheat. Virus Res **186**: 97–103

Naylor M, Murphy AM, Berry JO, Carr JP (1998) Salicylic Acid Can Induce Resistance to Plant Virus Movement. Mol Plant Microbe Interact **11**: 860–868

Newman M-A, Sundelin T, Nielsen JT, Erbs G (2013) MAMP (microbe-associated molecular pattern) triggered immunity in plants. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2013.00139

Ng JC, Zhou JS (2015) Insect vector–plant virus interactions associated with non-circulative, semi-persistent transmission: current perspectives and future challenges. Curr Opin Virol **15**: 48–55

Ng JCK, Perry KL (2004) Transmission of plant viruses by aphid vectors. Mol Plant Pathol **5**: 505–511

Ngumbi E, Eigenbrode SD, Bosque-Pérez NA, Ding H, Rodriguez A (2007) Myzus persicae is Arrested More by Blends Than by Individual Compounds Elevated in Headspace of PLRV-Infected Potato. J Chem Ecol **33**: 1733–1747

Niinemets Ü (2010) Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: Past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. For Ecol Manag **260**: 1623–1639

Nühse TS, Peck SC, Hirt H, Boller T (2000) Microbial Elicitors Induce Activation and Dual Phosphorylation of the Arabidopsis thaliana MAPK 6. J Biol Chem **275**: 7521–7526

Obrępalska-Stęplowska A, Renaut J, Planchon S, Przybylska A, Wieczorek P, Barylski J, Palukaitis P (2015) Effect of temperature on the pathogenesis, accumulation of viral and satellite RNAs and on plant proteome in peanut stunt virus and satellite RNA-infected plants. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2015.00903

O'Kane SL, Al-Shehbaz IA (1997) A Synopsis of Arabidopsis (Brassicaceae). Novon **7**: 323–327

O'Kane SL, Al-Shehbaz IA (2003) Phylogenetic Position and Generic Limits of Arabidopsis (Brassicaceae) Based on Sequences of Nuclear Ribosomal DNA. Ann Mo Bot Gard **90**: 603–612

Olson AJ, Pataky JK, D'Arcy CJ, Ford RE (1990) Effects of drought stress and infection by maize dwarf mosaic virus on sweet corn. Plant Dis **74**: 147–151

Olszewski NE, Hagen G, Guilfoyle TJ (1982) A transcriptionally active, covalently closed minichromosome of cauliflower mosaic virus DNA isolated from infected turnip leaves. Cell **29**: 395–402

Ouibrahim L, Caranta C (2013) Exploitation of natural genetic diversity to study plant–virus interactions: what can we learn from Arabidopsis thaliana? Mol Plant Pathol. doi: 10.1111/mpp.12052

Pagán I, Alonso-Blanco C, García-Arenal F (2008) Host Responses in Life-History Traits and Tolerance to Virus Infection in Arabidopsis thaliana. PLOS Pathog **4**: e1000124

Pagán I, Fraile A, Fernandez-Fueyo E, Montes N, Alonso-Blanco C, García-Arenal F (2010) Arabidopsis thaliana as a model for the study of plant–virus co-evolution. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **365**: 1983–1995

Pagán I, García-Arenal F (2018) Tolerance to Plant Pathogens: Theory and Experimental Evidence. Int J Mol Sci **19**: 810

Pallas V, García JA (2011) How do plant viruses induce disease? Interactions and interference with host components. J Gen Virol **92**: 2691–2705

Pandey P, Ramegowda V, Senthil-Kumar M (2015) Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: physiological and molecular mechanisms. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2015.00723

Pandey V, Shukla A (2015) Acclimation and Tolerance Strategies of Rice under Drought Stress. Rice Sci **22**: 147–161

Pariaud B, Ravigné V, Halkett F, Goyeau H, Carlier J, Lannou C (2009) Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. Plant Pathol **58**: 409–424

Parizipour MHG, Ramazani L, Sardrood BP (2018) Temperature affected transmission, symptom development and accumulation of Wheat dwarf virus. Plant Prot Sci **54 (2018)**: 222–233

Parmesan C, Hanley ME (2015) Plants and climate change: complexities and surprises. Ann Bot **116**: 849–864

Passioura JB (1996) Drought and drought tolerance. Plant Growth Regul **20**: 79–83

Pedras MSC, Adio AM (2008) Phytoalexins and phytoanticipins from the wild crucifers Thellungiella halophila and Arabidopsis thaliana: Rapalexin A, wasalexins and camalexin. Phytochemistry **69**: 889–893

Peleg Z, Blumwald E (2011) Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. Curr Opin Plant Biol **14**: 290–295

Peleman J, Boerjan W, Engler G, Seurinck J, Botterman J, Alliotte T, Montagu MV, Inzé D (1989) Strong cellular preference in the expression of a housekeeping gene of Arabidopsis thaliana encoding S-adenosylmethionine synthetase. Plant Cell **1**: 81–93

Peñalver-Cruz A, Garzo E, Prieto-Ruiz I, Díaz-Carro M, Winters A, Moreno A, Fereres A (2019) Feeding behavior, life history, and virus transmission ability of Bemisia tabaci Mediterranean species (Hemiptera: Aleyrodidae) under elevated CO2. Insect Sci. doi: 10.1111/1744-7917.12661

Perbal M-C, Thomas CL, Maule AJ (1993) Cauliflower Mosaic Virus Gene I Product (P1) Forms Tubular Structures Which Extend from the Surface of Infected Protoplasts. Virology **195**: 281–285

Picó FX, Méndez-Vigo B, Martínez-Zapater JM, Alonso-Blanco C (2008) Natural Genetic Variation of Arabidopsis thaliana Is Geographically Structured in the Iberian Peninsula. Genetics **180**: 1009–1021

Pierce S, Brusa G, Vagge I, Cerabolini BEL (2013) Allocating CSR plant functional types: the use of leaf economics and size traits to classify woody and herbaceous vascular plants. Funct Ecol **27**: 1002–1010

Pierce S, Negreiros D, Cerabolini BEL, Kattge J, Díaz S, Kleyer M, Shipley B, Wright SJ, Soudzilovskaia NA, Onipchenko VG, et al (2017) A global method for calculating plant CSR ecological strategies applied across biomes world-wide. Funct Ecol 444–457

Pirone TP, Blanc S (1996) Helper-dependent vector transmission of plant viruses. Annu Rev Phytopathol **34**: 227–247

Pitzschke A, Schikora A, Hirt H (2009) MAPK cascade signalling networks in plant defence. Curr Opin Plant Biol **12**: 421–426

Pompon J, Quiring D, Giordanengo P, Pelletier Y (2010) Role of xylem consumption on osmoregulation in Macrosiphum euphorbiae (Thomas). J Insect Physiol **56**: 610–615

Pompon J, Quiring D, Goyer C, Giordanengo P, Pelletier Y (2011) A phloem-sap feeder mixes phloem and xylem sap to regulate osmotic potential. J Insect Physiol **57**: 1317–1322

Poulicard N, Pinel-Galzi A, Hebrard E, Fargette D (2010) Why Rice yellow mottle virus, a rapidly evolving RNA plant virus, is not efficient at breaking rymv1-2 resistance. Mol Plant Pathol **11**: 145–154

Prasch CM, Sonnewald U (2013) Simultaneous application of heat, drought, and virus to Arabidopsis plants reveals significant shifts in signaling networks. Plant Physiol **162**: 1849–1866

Prochazkova D, Wilhelmova N (2007) Leaf senescence and activities of the antioxidant enzymes. A review. Biol. Plant. Czech Repub.

Qu F (2010) Plant viruses versus RNAi: Simple pathogens reveal complex insights on plant antimicrobial defense. Wiley Interdiscip Rev RNA **1**: 22–33

Råberg L (2014) How to Live with the Enemy: Understanding Tolerance to Parasites. PLOS Biol **12**: e1001989

Rajabaskar D, Wu Y, Bosque-Pérez NA, Eigenbrode SD (2013) Dynamics of Myzus persicae arrestment by volatiles from Potato leafroll virus-infected potato plants during disease progression. Entomol Exp Appl **148**: 172–181

Ramegowda V, Senthil-Kumar M (2015) The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination. J Plant Physiol **176**: 47–54

Rauf S, Sadaqat HA (2008) Identification of physiological traits and genotypes combined to high achene yield in sunflower (Helianthus annuus L.) under contrasting water regimes. Aust. J. Crop Sci.

Reich PB (2014) The world-wide 'fast–slow' plant economics spectrum: a traits manifesto. J Ecol **102**: 275–301

Rejeb IB, Pastor V, Mauch-Mani B (2014) Plant Responses to Simultaneous Biotic and Abiotic Stress: Molecular Mechanisms. Plants **3**: 458–475

Revers F, García JA (2015) Chapter Three - Molecular Biology of Potyviruses. *In* K Maramorosch, TC Mettenleiter, eds, Adv. Virus Res. Academic Press, pp 101–199

Reymond M, Muller B, Leonardi A, Charcosset A, Tardieu F (2003) Combining Quantitative Trait Loci Analysis and an Ecophysiological Model to Analyze the Genetic Variability of the Responses of Maize Leaf Growth to Temperature and Water Deficit. Plant Physiol **131**: 664–675

Roberts IM, Wang D, Findlay K, Maule AJ (1998) Ultrastructural and Temporal Observations of the Potyvirus Cylindrical Inclusions (CIs) Show That the CI Protein Acts Transiently in Aiding Virus Movement. Virology **245**: 173–181

Rodrigues ML, Pacheco CMA, Chaves MM (1995) Soil-plant water relations, root distribution and biomass partitioning in Lupinus albus L. under drought conditions. J Exp Bot **46**: 947–956

Rodriguez PA, Stam R, Warbroek T, Bos JIB (2013) Mp10 and Mp42 from the Aphid Species Myzus persicae Trigger Plant Defenses in Nicotiana benthamiana Through Different Activities. Mol Plant Microbe Interact **27**: 30–39

Rodríguez-Cerezo E, Klein PG, Shaw JG (1991) A determinant of disease symptom severity is located in the 3'-terminal noncoding region of the RNA of a plant virus. Proc Natl Acad Sci **88**: 9863–9867

de Ronde D, Butterbach P, Kormelink R (2014) Dominant resistance against plant viruses. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2014.00307

Roossinck MJ (2012) Plant Virus Metagenomics: Biodiversity and Ecology. Annu Rev Genet **46**: 359–369

Roossinck MJ (2015a) Plants, viruses and the environment: Ecology and mutualism. Virology **479**–**480**: 271–277

Roossinck MJ (2015b) A new look at plant viruses and their potential beneficial roles in crops. Mol Plant Pathol **16**: 331–333

Roossinck MJ (2013) Plant Virus Ecology. PLOS Pathog **9**: e1003304

Roumagnac P, Granier M, Bernardo P, Deshoux M, Ferdinand R, Galzi S, Fernandez E, Julian C, Abt I, Filloux D, et al (2015) Alfalfa Leaf Curl Virus: an Aphid-Transmitted Geminivirus. J Virol **89**: 9683–9688

Rubio B, Cosson P, Caballero M, Revers F, Bergelson J, Roux F, Schurdi-Levraud V (2019) Genome-wide association study reveals new loci involved in Arabidopsis thaliana and Turnip mosaic virus (TuMV) interactions in the field. New Phytol **221**: 2026–2038

Rushton PJ, Somssich IE, Ringler P, Shen QJ (2010) WRKY transcription factors. Trends Plant Sci **15**: 247–258

Rymaszewski W, Dauzat M, Bédiée A, Rolland G, Luchaire N, Granier C, Hennig J, Vile D (2018) Measurement of Arabidopsis thaliana Plant Traits Using the PHENOPSIS Phenotyping Platform. BIO-Protoc. doi: 10.21769/BioProtoc.2739

Rymaszewski W, Vile D, Bediee A, Dauzat M, Luchaire N, Kamrowska D, Granier C, Hennig J (2017) Stress-Related Gene Expression Reflects Morphophysiological Responses to Water Deficit. Plant Physiol **174**: 1913–1930

Sartori K, Vasseur F, Violle C, Baron E, Gerard M, Rowe N, Ayala-Garay O, Christophe A, Jalón LG de, Masclef D, et al (2019) Leaf economics and slow-fast adaptation across the geographic range of Arabidopsis thaliana. Sci Rep **9**: 10758

Sastry KS (2013) Seed-borne plant virus diseases. Springer Science & Business Media

Scherm H (2004) Climate change: can we predict the impacts on plant pathology and pest management? Can J Plant Pathol **26**: 267–273

Schieber M, Chandel NS (2014) ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. Curr Biol **24**: R453–R462

Schoelz J, Shepherd RJ, Daubert S (1986) Region VI of cauliflower mosaic virus encodes a host range determinant. Mol Cell Biol **6**: 2632–2637

Schoelz JE, Angel CA, Nelson RS, Leisner SM (2015) A model for intracellular movement of Cauliflower mosaic virus: the concept of the mobile virion factory. J Exp Bot 2039–2048

Scholthof HB (2005) Plant virus transport: motions of functional equivalence. Trends Plant Sci **10**: 376–382

Schwessinger B, Zipfel C (2008) News from the frontline: recent insights into PAMP-triggered immunity in plants. Curr Opin Plant Biol **11**: 389–395

Serraj R, Sinclair TR (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? Plant Cell Environ **25**: 333–341

Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012) Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. J Bot. doi: 10.1155/2012/217037

Sharp RE, Poroyko V, Hejlek LG, Spollen WG, Springer GK, Bohnert HJ, Nguyen HT (2004) Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. J Exp Bot **55**: 2343–2351

Shavrukov Y, Kurishbayev A, Jatayev S, Shvidchenko V, Zotova L, Koekemoer F, de Groot S, Soole K, Langridge P (2017) Early Flowering as a Drought Escape Mechanism in Plants: How Can It Aid Wheat Production? Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2017.01950

Shindo C, Bernasconi G, Hardtke CS (2007) Natural Genetic Variation in Arabidopsis: Tools, Traits and Prospects for Evolutionary EcologyShindo et al. — Natural Genetic Variation in ArabidopsisShindo et al. — Natural Genetic Variation in Arabidopsis. Ann Bot **99**: 1043–1054

Shukla A, López-González S, Hoffmann G, Hafrén A (2019) Diverse plant viruses: a toolbox for dissection of cellular pathways. J Exp Bot **70**: 3029–3034

Singh LP, Gill SS, Tuteja N (2011) Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. Plant Signal Behav **6**: 175–191

Soosaar JLM, Burch-Smith TM, Dinesh-Kumar SP (2005) Mechanisms of plant resistance to viruses. Nat Rev Microbiol **3**: 789–798

Spoel SH, Dong X (2008) Making Sense of Hormone Crosstalk during Plant Immune Responses. Cell Host Microbe **3**: 348–351

Subbarao GV, Chauhan YS, Johansen C (2000) Patterns of osmotic adjustment in pigeonpea — its importance as a mechanism of drought resistance. Eur J Agron **12**: 239–249

Sun Y, Guo H, Ge F (2016) Plant–Aphid Interactions Under Elevated CO2: Some Cues from Aphid Feeding Behavior. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2016.00502

Suntio T, Mäkinen K (2012) Abiotic stress responses promote Potato virus A infection in Nicotiana benthamiana. Mol Plant Pathol **13**: 775–784

Suzuki N, Katano K (2018) Coordination Between ROS Regulatory Systems and Other Pathways Under Heat Stress and Pathogen Attack. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2018.00490

Suzuki N, Rivero RM, Shulaev V, Blumwald E, Mittler R (2014) Abiotic and biotic stress combinations. New Phytol **203**: 32–43

Swarbreck D, Wilks C, Lamesch P, Berardini TZ, Garcia-Hernandez M, Foerster H, Li D, Meyer T, Muller R, Ploetz L, et al (2008) The Arabidopsis Information Resource (TAIR): gene structure and function annotation. Nucleic Acids Res **36**: D1009–D1014

Szczepaniec A, Finke D (2019) Plant-Vector-Pathogen Interactions in the Context of Drought Stress. Front Ecol Evol. doi: 10.3389/fevo.2019.00262

Taj G, Agarwal P, Grant M, Kumar A (2010) MAPK machinery in plants. Plant Signal Behav **5**: 1370–1378

Tardieu F (2013) Plant response to environmental conditions: assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. Front Physiol. doi: 10.3389/fphys.2013.00017

Tardieu F (2003) Virtual plants: modelling as a tool for the genomics of tolerance to water deficit. Trends Plant Sci **8**: 9–14

Tardieu F, Davies WJ (1993) Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. Plant Cell Environ **16**: 341–349

Tardieu F, Granier C, Muller B (2011) Water deficit and growth. Co-ordinating processes without an orchestrator? Curr Opin Plant Biol **14**: 283–289

Tardieu F, Simonneau T (1998) Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. J Exp Bot **49**: 419–432

Tardieu F, Zhang J, Davies WJ (1992) What information is conveyed by an ABA signal from maize roots in drying field soil? Plant Cell Environ **15**: 185–191

Tester M, Bacic A (2005) Abiotic Stress Tolerance in Grasses. From Model Plants to Crop Plants. Plant Physiol **137**: 791–793

Tester M, Langridge P (2010) Breeding Technologies to Increase Crop Production in a Changing World. Science **327**: 818–822

Theologis A, Ecker JR, Palm CJ, Federspiel NA, Kaul S, White O, Alonso J, Altafi H, Araujo R, Bowman CL, et al (2000) Sequence and analysis of chromosome 1 of the plant Arabidopsis thaliana. Nature **408**: 816–820

Tjallingii WF (1988) Electrical recording of stylet penetration activities. Aphids Their Biol. Nat. Enemies Control. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp 95–108

Tjallingii WF, Esch TH (1993) Fine structure of aphid stylet routes in plant tissues in correlation with EPG signals. Physiol Entomol **18**: 317–328

del Toro FJ, Choi KS, Rakhshandehroo F, Aguilar E, Tenllado F, Canto T (2019) Ambient conditions of elevated temperature and CO2 levels are detrimental to the probabilities of transmission by insects of a Potato virus Y isolate and to its simulated prevalence in the environment. Virology **530**: 1–10

Torres MA, Dangl JL (2005) Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development. Curr Opin Plant Biol **8**: 397–403

Torruella M, Gordon K, Hohn T (1989) Cauliflower mosaic virus produces an aspartic proteinase to cleave its polyproteins. EMBO J **8**: 2819–2825

Tschaplinski TJ, Stewart DB, Norby RJ (1995) Interactions between drought and elevated CO2 on osmotic adjustment and solute concentrations of tree seedlings. New Phytol **131**: 169–177

Tscharntke T, Clough Y, Wanger TC, Jackson L, Motzke I, Perfecto I, Vandermeer J, Whitbread A (2012) Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. Biol Conserv **151**: 53–59

Turner NC, Wright GC, Siddique KHM (2001) Adaptation of grain legumes (pulses) to water-limited environments. Adv. Agron. Academic Press, pp 193–231

Uzest M, Gargani D, Dombrovsky A, Cazevieille C, Cot D, Blanc S (2010) The "acrostyle": A newly described anatomical structure in aphid stylets. Arthropod Struct Dev **39**: 221–229

Uzest M, Gargani D, Drucker M, Hébrard E, Garzo E, Candresse T, Fereres A, Blanc S (2007) A protein key to plant virus transmission at the tip of the insect vector stylet. Proc Natl Acad Sci **104**: 17959–17964

Vasseur F, Bontpart T, Dauzat M, Granier C, Vile D (2014) Multivariate genetic analysis of plant responses to water deficit and high temperature revealed contrasting adaptive strategies. J Exp Bot **65**: 6457–6469

Vasseur F, Sartori K, Baron E, Fort F, Kazakou E, Segrestin J, Garnier E, Vile D, Violle C (2018) Climate as a driver of adaptive variations in ecological strategies in Arabidopsis thaliana. Ann Bot. doi: 10.1093/aob/mcy165

Vasseur F, Violle C, Enquist BJ, Granier C, Vile D (2012) A common genetic basis to the origin of the leaf economics spectrum and metabolic scaling allometry. Ecol Lett **15**: 1149–1157

Vaughn MW, Tanurdžić M, Lippman Z, Jiang H, Carrasquillo R, Rabinowicz PD, Dedhia N, McCombie WR, Agier N, Bulski A, et al (2007) Epigenetic Natural Variation in Arabidopsis thaliana. PLOS Biol **5**: e174

Verret F, Wheeler G, Taylor AR, Farnham G, Brownlee C (2010) Calcium channels in photosynthetic eukaryotes: implications for evolution of calcium-based signalling. New Phytol **187**: 23–43

Verslues PE, Agarwal M, Katiyar-Agarwal S, Zhu J, Zhu J-K (2006) Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. Plant J **45**: 523–539

Verslues PE, Juenger TE (2011) Drought, metabolites, and Arabidopsis natural variation: a promising combination for understanding adaptation to water-limited environments. Curr Opin Plant Biol **14**: 240–245

Vickers LH (2012) Aphid responses to drought: a combined physiological and transcriptomic approach. d_ph. University of Birmingham

Vile D, Pervent M, Belluau M, Vasseur F, Bresson J, Muller B, Granier C, Simonneau T (2012) Arabidopsis growth under prolonged high temperature and water deficit: independent or interactive effects? Plant Cell Environ **35**: 702–718

Vincent TR, Avramova M, Canham J, Higgins P, Bilkey N, Mugford ST, Pitino M, Toyota M, Gilroy S, Miller AJ, et al (2017) Interplay of Plasma Membrane and Vacuolar Ion Channels, Together with BAK1, Elicits Rapid Cytosolic Calcium Elevations in Arabidopsis during Aphid Feeding. Plant Cell **29**: 1460–1479

Vos MD, Jander G (2009) Myzus persicae (green peach aphid) salivary components induce defence responses in Arabidopsis thaliana. Plant Cell Environ **32**: 1548–1560

Wang Y, Li J, Hou S, Wang X, Li Y, Ren D, Chen S, Tang X, Zhou J-M (2010) A Pseudomonas syringae ADP-Ribosyltransferase Inhibits Arabidopsis Mitogen-Activated Protein Kinase Kinases. Plant Cell **22**: 2033–2044

Waszczak C, Carmody M, Kangasjärvi J (2018) Reactive Oxygen Species in Plant Signaling. Annu Rev Plant Biol **69**: 209–236

Webster CG, Pichon E, Munster M van, Monsion B, Deshoux M, Gargani D, Calevro F, Jimenez J, Moreno A, Krenz B, et al (2018) Identification of Plant Virus Receptor Candidates in the Stylets of Their Aphid Vectors. J Virol **92**: e00432-18

Weigel D (2012) Natural Variation in Arabidopsis: From Molecular Genetics to Ecological Genomics. Plant Physiol **158**: 2–22

Westwood JH, Mccann L, Naish M, Dixon H, Murphy AM, Stancombe MA, Bennett MH, Powell G, Webb AAR, Carr JP (2013) A viral RNA silencing suppressor interferes with abscisic acid-mediated signalling and induces drought tolerance in Arabidopsis thaliana. Mol Plant Pathol **14**: 158–170

White PJ, Broadley MR (2003) Calcium in Plants. Ann Bot **92**: 487–511

Whitfield AE, Falk BW, Rotenberg D (2015) Insect vector-mediated transmission of plant viruses. Virology **479**–**480**: 278–289

Wilkinson S, Davies WJ (2002) ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. Plant Cell Environ **25**: 195–210

Wilson PJ, Thompson K, Hodgson JG (1999) Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. New Phytol **143**: 155–162

Win J, Chaparro-Garcia A, Belhaj K, Saunders DGO, Yoshida K, Dong S, Schornack S, Zipfel C, Robatzek S, Hogenhout SA, et al (2012) Effector Biology of Plant-Associated Organisms: Concepts and Perspectives. Cold Spring Harb Symp Quant Biol **77**: 235–247

Winner WE, Pell EJ (2012) Response of Plants to Multiple Stresses. Academic Press

Wintermantel WM, Cortez AA, Anchieta AG, Gulati-Sakhuja A, Hladky LL (2008) Co-Infection by Two Criniviruses Alters Accumulation of Each Virus in a Host-Specific Manner and Influences Efficiency of Virus Transmission. Phytopathology **98**: 1340–1345

Wojtaszek P (1997) Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. Biochem J **322**: 681–692

Wood JL, Franks AE (2018) Understanding microbiomes through trait-based ecology. Microbiol Aust. doi: 10.1071/MA18014

Woolhouse MEJ, Webster JP, Domingo E, Charlesworth B, Levin BR (2002) Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. Nat Genet **32**: 569

Wu D, Qi T, Li W-X, Tian H, Gao H, Wang J, Ge J, Yao R, Ren C, Wang X-B, et al (2017) Viral effector protein manipulates host hormone signaling to attract insect vectors. Cell Res. doi: 10.1038/cr.2017.2

Xin X-F, He SY (2013) Pseudomonas syringae pv. tomato DC3000: A Model Pathogen for Probing Disease Susceptibility and Hormone Signaling in Plants. Annu Rev Phytopathol **51**: 473–498

Xu P, Chen F, Mannas JP, Feldman T, Sumner LW, Roossinck MJ (2008) Virus infection improves drought tolerance. New Phytol **180**: 911–921

Yadava P, Suyal G, Mukherjee SK (2010) Begomovirus DNA replication and pathogenicity. Curr Sci **98**: 9

Yang J, Kloepper JW, Ryu C-M (2009) Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends Plant Sci **14**: 1–4

Yvon M, Vile D, Brault V, Blanc S, van Munster M (2017) Drought reduces transmission of Turnip yellows virus, an insect-vectored circulative virus. Virus Res 131–136

Zhang S, Klessig DF (2001) MAPK cascades in plant defense signaling. Trends Plant Sci **6**: 520–527

Zhang X, Zhang X, Singh J, Li D, Qu F (2012) Temperature-Dependent Survival of Turnip Crinkle Virus-Infected Arabidopsis Plants Relies on an RNA Silencing-Based Defense That Requires DCL2, AGO2, and HEN1. J Virol **86**: 6847–6854

Zhang Z, Mao Y, Ha S, Liu W, Botella JR, Zhu J-K (2016) A multiplex CRISPR/Cas9 platform for fast and efficient editing of multiple genes in Arabidopsis. Plant Cell Rep **35**: 1519–1533

Zhao X, Xiang H, Bai X, Fei N, Huang Y, Song X, Zhang H, Zhang L, Tong D (2016) Porcine parvovirus infection activates mitochondria-mediated apoptotic signaling pathway by inducing ROS accumulation. Virol J **13**: 26

Zhu J, Dong C-H, Zhu J-K (2007) Interplay between cold-responsive gene regulation, metabolism and RNA processing during plant cold acclimation. Curr Opin Plant Biol **10**: 290–295

Zipfel C (2014) Plant pattern-recognition receptors. Trends Immunol **35**: 345–351

Zipfel C (2009) Early molecular events in PAMP-triggered immunity. Curr Opin Plant Biol **12**: 414–420

Réponse d'*Arabidopsis thaliana* au *Cauliflower mosaic virus* en condition de déficit hydrique : phénotypage à haut débit de la croissance, étude des stratégies écologiques des plantes, des traits viraux et de leurs relations

Les plantes sont des organismes sessiles qui doivent répondre et s'adapter à de multiples contraintes abiotiques et biotiques. La production agricole et le fonctionnement des écosystèmes sont fréquemment contraints par des épisodes de sécheresse dont la fréquence et la durée devraient augmenter sous l'influence des changements climatiques. L'étude des interactions entre les plantes, leurs cortèges de pathogènes, de vecteurs et l'environnement abiotique sont encore trop peu intégrées aux problématiques de limitation en eau. Afin d'améliorer la compréhension des interactions entre les plantes et les virus en condition de déficit hydrique, nous avons évalué les effets du *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) sur la croissance de nombreux génotypes d'*A. thaliana* cultivés dans un automate de phénotypage ainsi que l'effet du déficit hydrique sur les traits viraux du CaMV et sur leurs relations. Ce travail a permis **i)** de caractériser la croissance et la performance d'*A. thaliana* en réponse à l'infection par le CaMV en condition de déficit hydrique en exploitant la diversité naturelle **ii)** de mettre en relation des traits importants liés à la stratégie fonctionnelle des génotypes avec la tolérance aux stress **iii)** de montrer que le déficit hydrique peut modifier des traits importants liés au cycle de vie du CaMV comme la transmission ou l'accumulation intra-hôte **iv)** d'étudier les relations entre les traits viraux sur la diversité naturelle des génotypes d'*A. thaliana* en condition optimale d'irrigation ou de déficit hydrique. Cette étude a mis en évidence l'importance de comprendre l'impact de l'environnement sur la pathogénicité d'un virus et sur sa persistance au sein d'un écosystème. La multidisciplinarité des approches constitue la richesse de ce travail de thèse qui contribue à une meilleure caractérisation et compréhension de la réponse des plantes lors d'une infection virale et d'un déficit hydrique.

Mots clés : *A. thaliana* – *Cauliflower mosaic virus* – Déficit hydrique – Traits viraux – Phénotypage haut-débit – Stratégies écologiques

---

Response of *A. thaliana* to *Cauliflower mosaic virus* under water deficit: high throughput phenotyping of plant growth, study of plant ecological strategies, viral traits and their relationships

Agricultural production and ecosystem functioning are frequently constrained by drought and the frequency and duration drought periods should increase under the influence of climate change. Water limitation has been insufficiently integrated into the study of the interactions between plants and their pathogens, vectors and the abiotic environment. In order to improve the understanding of interactions between plants and viruses under water deficit, we evaluated the effects of the *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) on growth and performance of several *A. thaliana* genotypes grown in a phenotyping automaton as well as the effect of water deficit on CaMV viral traits and their relationship. This work allowed **i)** to characterize the response of growth and performance of *A. thaliana* to CaMV under water deficit by exploiting the natural diversity, **ii)** to relate important traits related to plant functional strategies with stress tolerance **iii)** to show that water deficit can modify important traits related to CaMV such as transmission or intra-host accumulation **iv)** to study the relationships between viral traits on the natural diversity of *A. thaliana* genotypes in optimal irrigation condition or water deficit. This study has therefore highlighted the importance of understanding the impact of the environment on virus pathogenicity and virus persistence within ecosystems. The multidisciplinary approach contributed to a better characterization and understanding of plant-virus interaction and water deficit.

Keywords: *A. thaliana* – *Cauliflower mosaic virus* – Water deficit –Viral traits – High-throughput phenotyping – Ecological strategies

---

UMR - Laboratoire d'Écophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux
2, place Pierre Viala – 34060 Montpellier - France