

# Sujet de stage Semestre 4 - Master 2<sup>ème</sup> année

## IBMP | 2023-2024

### Titre/Title

*Français* : Mécanisme de tolérance à l'infection par le TMV chez Arabidopsis

*English* : Mechanism of tolerance for TMV infection in Arabidopsis

### Contacts

#### Responsable du projet :

NOM Prénom HEINLEIN Manfred  
Tél: 0 3 67 15 53 59  
Courrier-E : heinlein@unistra.fr

#### Responsable de l'équipe :

NOM Prénom ELVIRA-GONZALEZ Laura  
Tél :  
Courrier-E : laura.elvira@ibmp-cnrs.unistra.fr  
Lien page web de l'équipe  
<http://www.ibmp.cnrs.fr/equipes/interactions-plantes-virus-pendant-le-mouvement-viral-de-cellule-a-cellule/>

### Description du projet (20 lignes max) | *Project Description* (20 lines max.)

*Français* : La tolérance aux virus décrit la capacité des plantes à se défendre contre les effets négatifs de l'infection. Ainsi, alors que de nombreuses plantes développent une maladie dès l'infection, d'autres plantes peuvent rester en bonne santé grâce à la tolérance. D'autres encore présentent d'abord des symptômes de maladie mais ont la capacité de subir une "tolérance induite", c'est-à-dire qu'elles se remettent de la maladie et développent des feuilles saines à des stades ultérieurs de l'infection. Des études antérieures portant sur la récupération des symptômes chez des plantes d'*Arabidopsis thaliana* Col-0 infectées par le virus de la mosaïque du colza (ORMV) (Kørner et al., 2018, Nat Plants 4, 157-164 ; doi : 10.1038/s41477-018-0117-x; [hal-01723229v1](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01723229v1)) ont révélé que la tolérance induite repose sur des protéines impliquées dans la production cytoplasmique et nucléaire de petits ARN interférents (siRNA) (RDR6, DCL4, PolIV, RDR2). De plus, la tolérance induite implique également la régulation à la baisse du suppresseur du silencing de l'ARN viral. Plus récemment, nous avons pu montrer que la tolérance induite implique également CLASSY, une protéine qui cible la PolIV vers des loci génétiques spécifiques pour la transcription et la synthèse d'ARNsi.

Au cours de la thèse de maîtrise, l'étudiant sera intégré à des recherches actuelles passionnantes financée par l'ANR afin de déterminer si le mécanisme identifié de "tolérance induite" s'applique également à la tolérance (absence de symptômes). La tolérance se produit chez les plantes *A. thaliana* Col-0 infectées par le virus de la mosaïque du tabac (TMV) alors que le même virus provoque la maladie chez l'écotype *A. thaliana* Shadara (Sha). Il est intéressant de noter que les plantes Sha infectées par le TMV peuvent se remettre de la maladie au cours des derniers stades de l'infection, comme les plantes Col-0 infectées par l'ORMV. En utilisant des mutants *polIV* et *classy* dans Col-0 et Sha ainsi que des plantes de type sauvage, l'étudiant déterminera si PolIV et CLASSY, dont l'implication dans la tolérance induite chez les plantes Col-0 infectées par ORMV a été démontrée, jouent également un rôle dans la tolérance induite observée chez les plantes Sha infectées par TMV ainsi que dans la tolérance observée chez les plantes Col-0 infectées par TMV.



L'analyse fera appel à de nombreuses techniques. Ainsi, au cours du stage, l'étudiant apprendra à infecter des plantes mutantes et de type sauvage avec différents virus et à utiliser des méthodes d'isolement de l'ARN, de RT-qPCR, de Western blot et de siRNA blotting avec des sondes sensibles pour déterminer l'impact des mutations sur les niveaux d'ARN et de protéines virales ainsi que de siRNAs dérivés du virus et de l'hôte. Les résultats de ces approches seront examinés à l'aide d'une analyse statistique appropriée.

*English* : Tolerance for viruses describes the ability of plants to defend themselves against the negative effects of infection. Thus, whereas many plants develop disease upon infection, other plants can remain healthy because of tolerance. Yet other plants first show disease symptoms but have the ability to undergo "induced tolerance", i.e., they recover from disease and develop healthy leaves at later stages of infection. Previous studies to address symptoms recovery in *Arabidopsis thaliana* Col-0 plants infected with Oilseed rape mosaic virus (ORMV) (Kørner et al., 2018, Nat Plants 4, 157-164; doi: 10.1038/s41477-018-0117-x; [hal-01723229v1](#)) revealed that induced tolerance relies on proteins involved in the cytoplasmic and nuclear production of small interfering RNAs (siRNAs) (RDR6, DCL4, PolIV, RDR2). Moreover, induced tolerance also involves the downregulation of the viral RNA silencing suppressor. More recently we could show that induced tolerance also involves CLASSY, a protein that targets PolIV to specific gene loci for transcription and siRNA synthesis.

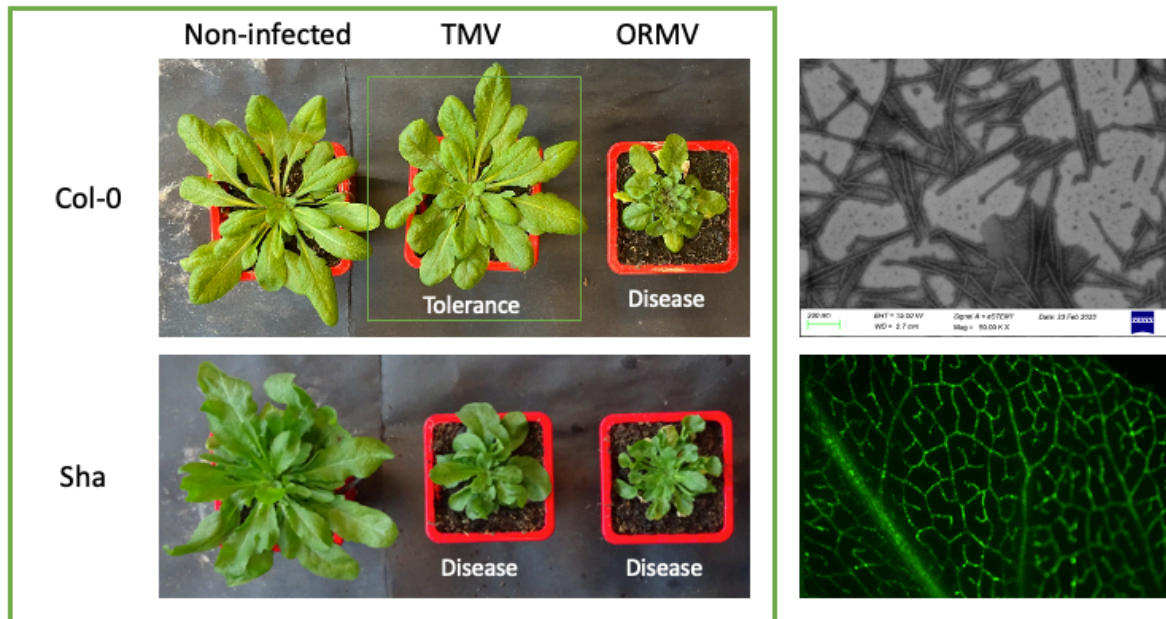
During the Master thesis, the student will be integrated into exciting current ANR-funded research to determine whether the identified mechanism of "induced tolerance" also applies to tolerance (absence of symptoms). Tolerance occurs in *A. thaliana* Col-0 plants infected with Tobacco mosaic virus (TMV) whereas the same virus causes disease in the *A. thaliana* ecotype Shadara (Sha). Interestingly, the TMV-infected Sha plants can recover from disease during later stages of infection like ORMV-infected Col-0 plants. Using *polIV* and *classy* Col-0 and Sha mutants as well as wild type plants, the student will determine if PolIV and CLASSY shown to be involved in induced tolerance in ORMV-infected Col-0 plants also play a role in induced tolerance observed in TMV-infected Sha plants as well as in tolerance observed in TMV-infected Col-0 plants.

The analysis will include numerous techniques. Thus, during the stage the student will learn how to infect mutant and wild type plants with different viruses and how to use methods of RNA isolation, RT-qPCR, Western blot and siRNA blotting with sensitive probes to determine the impact of the mutations on the levels of viral RNA and proteins as well as of virus- and host-derived siRNAs. The results of these approaches will be addressed with appropriate statistical analysis.

**Méthodologies** (mots clés) : Virology, Fluorescence microscopy, RT-qPCR, Western blot, Northern blot, data analysis.

**Références** (maximum 3) : Kørner CJ, Pitzalis N, Peña EJ, Erhardt M, Vazquez F, Heinlein M (2018) Crosstalk between PTGS and TGS pathways in natural antiviral immunity and disease recovery. Nat Plants 4, 157-164

**Illustration** (1 photo ou 1 schéma, petit format)



### Parcours de Master (cochez le ou les parcours souhaités) :

Master « Sciences du Vivant », Faculté des Sciences de la Vie, Université de Strasbourg

- 1- Biologie et génétique moléculaire : X
- 2- Microbiologie :
- 3- Plantes, biologie moléculaire et biotechnologies : X
- 4- Plantes, environnement et génie écologique :
- 5- Plantes, molécules bioactives et valorisation :
- 6- Virologie : X
- 7- Autres masters équivalents en France ou à l'étranger :