Création variétale de poivron (*Capsicum annuum*) résistant au PVY en contexte de hausse des températures

APIMET - ECUE 1.3 : Tolérance aux stress biotiques et abiotiques

María José Arce – Clothilde Meyroux – Manon Monfort – Stacy Rousse

Remerciements

Avant toute chose, nous souhaiterions remercier William Billaud, Flavie Cussonneau, Véronique Marie-Jeanne, Louis McLeod ainsi que Benoît Moury d'avoir pris le temps de partager leurs expériences respectives ainsi que leurs connaissances sur le sujet. Leur aide nous a été très précieuse dans la réalisation de ce projet et c'est pourquoi nous tenions à la saluer.

Table des matières

Création variétale de poivron (Capsicum annuum) résistant au PVY en contexte de hausse des températures ***1***

Remerciements **1**

Introduction **3**

1. *Capsicum spp. annuum* **4**

1.1 Taxonomie et diversité 4

1.2 Contexte économique : Utilisations et marché européen 5

1.3 Itinéraire technique 5

2. Le PVY (Potato virus Y) **7**

2.1. Généralités 7

2.2 Génome et biologie moléculaire du virus PVY 7

2.3 : Taxonomie et Pathotypes 8

3. Résistance au virus : **10**

3.1 Résistance qualitative 10

3.2 Résistance quantitative 11

4. Description du stress abiotique : augmentation des températures **12**

4.1 Impact des températures sur le développement de *C.annuum* 12

4.2 Tolérances au stress haute température 12

4.3 Impact des températures sur l'interaction poivron-PVY 14

5. Phénotypage **15**

5.1 Phénotypage de la résistance au PVY 15

5.2. Phénotypage - Résistance aux températures élevées 17

5.3 Phénotypage traits agronomiques d'intérêts 18

6. Schéma de sélection **20**

6.1 Choix des parents 20

6.2 Schéma 21

7. Stratégies de durabilité **23**

8. Bibliographie **24**

9. Annexe **30**

Table des Figures

Figure 1: Illustration de quelques variétés du genre Capsicuum spp. (A) C. annuum (local name: bobo); (B) C. annuum (local name: bolita); (C) C. annuum (local name: dulce); (D) C. annuum var. aviculare (local name: maax); (E) C. frutescens (local name: pico paloma); (F) C. chinense (local name: rosita); (G) C. annuum (local name: verde); (H) C. annuum (local name: ecotipo Xcat'ic 1); (I) C. annuum (local name: Xcat'ic 2).(López Castilla *et al.*, 2019) 5
Figure 2: Stades de développement de *Capsicum annuum* 6
Figure 3: Déterminants de pathogénicité sur le génome du Potato Virus Y et principaux sites d'interaction avec la plante hôte. (Quenouille *et al.*, 2013b) 8
Figure 4: appareil de mesure LI-6400 XT 17
Figure 5 : Phénotypage de Capsicum annuum par imagerie RGB (Nankar *et al.*, 2020) 19
Figure 6 : Schéma de synthèse du schéma de sélection de la variété *Capsicum annuum* « Hotwarrior ».....22

Table des Tableaux

Tableau 1: Résumé des gènes majeurs de résistance au PVY (Kang *et al.*, 2005) 10
Tableau 2 : Grille d'évaluation de l'analyse sensorielle pour C. annuum.....19

Annexes

Annexe 1: Tableaux des temps de phénotypage estimé (en heures sauf mention contraire).....31
Annexe 2: Tableau des effectifs du schéma de sélection 32

Introduction

Le genre *Capsicum* comprend une trentaine d'espèces (Carrizo Garcia *et al.*, 2013) dont cinq ont été domestiquées (Heiser & Pickersgill, 1969). Originaire de Mésoamérique (Perry *et al.*, 2007), la culture s'est répandue dans le reste du monde à partir du milieu du XVe siècle (Halikowski Smith, 2015). Il est aujourd'hui consommé dans de nombreuses régions du monde, cuit, en poudre, séché en pâte ou utilisé comme plante ornementale ou médicinale, représentant ainsi plus de 40 millions de tonnes de production annuelle (FAO STAT 2019). L'espèce majoritairement cultivée dans le monde est l'espèce *C. annuum* dont l'un des produits les plus consommés est le poivron (Pickersgill, 1971).

Cette culture fait face à plusieurs stress biotiques notamment le Potato Virus Y (PVY), un virus de la famille des Potyviridae, endommageant particulièrement les cultures de solanacées (Luis-Arteaga & Ponz, 2003). Ce virus présent dans la majorité des zones de production de *C. annuum* est responsable d'importantes pertes économiques dans les cultures de poivrons (Boiteux *et al.*, 1996). La création de cultivars résistants reste aujourd'hui la stratégie la plus efficace, économique, et respectueuse de l'environnement pour lutter contre cet agent pathogène (Boiteux *et al.*, 1996). Cependant l'occurrence d'apparition des contournements de résistance ainsi que l'influence d'autres facteurs sur la *fitness* du virus peuvent rendre difficile la création de telles variétés. En effet, aux stress biotiques s'ajoutent divers stress abiotiques notamment l'augmentation de la température atmosphérique. Les prévisions sur le changement climatique prévoient en effet une élévation des températures ainsi qu'une augmentation de la fréquence, de l'intensité, et de la durée des épisodes de fortes chaleurs (ICPP, 2019). Or, ce type de stress impacte non seulement le bon développement de la plante (Saha *et al.*, 1970; Erickson & Markhart, 2001, 2002; Pagamas & Nawata, 2008) mais peut diminuer également l'efficacité des résistances contre les pathogènes (Valkonen, 1997; Desaint *et al.*, 2021). Ainsi, le développement de nouvelles variétés de poivron nécessite la prise en compte des interactions plante-PVY-température dans le schéma de sélection (Desaint *et al.*, 2021).

Dans un premier temps nous présenterons la culture de *C. annuum* et son contexte. Nous développerons ensuite l'impact du virus PVY sur cette culture ainsi que celui de la hausse des températures et puis nous aborderons l'interaction plante-pathogène-température. Enfin, afin de répondre aux enjeux liés à ces stress, nous proposerons un schéma de sélection ayant pour objectif de créer une variété hybride de poivron *C. annuum* « Hotwarrior » adaptée aux cultures conventionnelles du Sud de l'Europe (Espagne, Italie, Sud de la France) à destination du marché du piment-légume c'est-à-dire pour une consommation en frais. Le caractère majeur à introgresser est une résistance durable et efficace au PVY dans un contexte d'augmentation de la température tout en maintenant des rendements garantissant un revenu convenable aux agriculteurs.

1. *Capsicum spp. annuum*

1.1 Taxonomie et diversité

Les plantes du genre *Capsicum* sont des angiospermes de la famille des Solanacées originaires des régions tropicales et subtropicales d'Amérique. Les espèces qui composent ce genre sont caractérisées par l'accumulation de capsaïcinoïdes qui sont responsables du goût piquant. Le genre comprend une trentaine d'espèces dont cinq sont cultivées (*C. annuum, C. frutescens*, *C. chinense*, *C. pubescens*, and *C. baccatum*) (Heiser & Pickersgill, 1969).

L'espèce la plus cultivée dans le monde est *Capsicum spp. Annuum* (Csilléry, 2006; Hill *et al.*, 2013). Elle est diploïde (2n=24) et autogame. Son génome, séquencé en 2014, a une taille estimée à 3,48 Gb dont 76,4% d'éléments transposables (Kim *et al.*, 2014). Originaire de Mésoamérique (Perry 2007), cette espèce a été domestiquée et cultivée par les peuples précolombiens et s'est ensuite répandue dans le reste du monde à partir du milieu du XVe siècle (Halikowski Smith, 2015). C'est une plante vivace frileuse, cultivée comme une annuelle en France. Haute d'environ 50 cm, ses tiges sont

dressées et ramifiées. Les feuilles, de forme lancéolée, sont vertes et luisantes. La grande diversité génétique de cette espèce a permis la création d'un large panel de variétés aux phénotypes très diversifiés. En effet, diverses formes, tailles, couleurs, textures, épaisseur de la chair et saveurs des légumes sont retrouvées parmi les variétés de cette même espèce (Cf. Figure 1). Cette variabilité est un vaste réservoir de diversité morphologique et génétique pouvant être utilisé dans le cadre de l'amélioration variétale (López Castilla *et al.*, 2019)

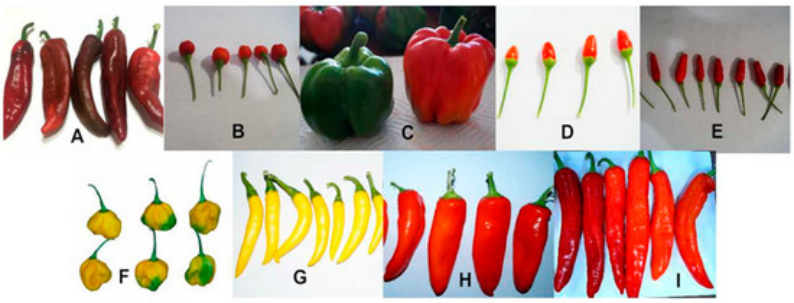

Figure 1: Illustration de quelques variétés du genre Capsicuum spp. (A) C. annuum (local name: bobo); (B) C. annuum (local name: bolita); (C) C. annuum (local name: dulce); (D) C. annuum var. aviculare (local name: maax); (E) C. frutescens (local name: pico paloma); (F) C. chinense (local name: rosita); (G) C. annuum (local name: verde); (H) C. annuum (local name: ecotipo Xcat'ic 1); (I) C. annuum (local name: Xcat'ic 2).(López Castilla *et al.*, 2019)

1.2 Contexte économique : Utilisations et marché européen

Les piments sont cultivés non seulement pour l'alimentation mais également pour leurs vertus médicinales et ornementales. Les fruits non piquants, communément appelés poivrons, sont largement utilisés comme légume et les fruits piquants, les piments, sont également présents dans une grande partie du globe notamment dans les cultures dont l'alimentation est épicée (Eshbaugh, 1993). De plus, les piments sont considérés comme des « cash crops » dans certaines régions du monde. Leur culture est donc une opportunité d'augmentation des revenus pour les communautés agricoles de subsistance (Selleck & Opena, 1985).

La culture de *C. annuum* est pratiquée dans presque toutes les régions du monde avec une production pouvant atteindre environ 40 millions de tonnes par an. La Chine est le principal producteur avec environ 19 millions de tonnes annuelles. En Europe, c'est l'une des cultures les plus importantes avec plus de cent mille hectares cultivés et une production annuelle de près de 4 millions de tonnes. La production de poivron sous tunnel est assurée principalement dans le sud de l'Europe, l'Espagne et l'Italie étant les premiers producteurs. Les Pays-Bas mènent le leadership de la production sous serres (FAO STAT 2019). En France, les régions productrices sont principalement la région PACA (Bouche du Rhône principalement) et l'Aquitaine (Lot et Garonne principalement). Quant à son chiffre d'affaires, l'exportation européenne de piment rapporte environ 2,8 milliards de dollars par an.

1.3 Itinéraire technique

Conditions de croissance

C. annuum est une plante de climat chaud avec une température optimale de 20 à 25°C et est de ce fait principalement cultivée sous tunnel à l'abri du froid. Cette méthode de production permet d'allonger la période de production d'un à deux mois. Dans une perspective d'augmentation des températures du fait du dérèglement climatique, nous nous intéresserons dans ce rapport aux pratiques culturales sous tunnel dans la zone méditerranéenne du sud de l'Europe. Cette zone, dénommée zone Csa dans la classification climatique de Köppen, a une température moyenne annuelle de 17°C et se caractérise par des étés chauds pouvant atteindre des températures de 32°C.

Cette espèce est adaptée à de nombreux types de sols (texture et pH) mais a besoin de sols profonds, se réchauffant vite et se ressuyant bien. Des sols fatigués peuvent être nuisibles du fait de la fragilité de son système racinaire. Elle ne tolère pas la salinité. C'est une plante très exigeante en luminosité, surtout dans les premiers stades de développement et pendant la floraison (OIER, 2013)

L'humidité relative optimale varie de 50 à 70%. Une humidité relative très élevée favorise le développement de maladies aériennes. La coïncidence de températures élevées et d'une faible humidité relative peut provoquer la chute des fleurs et des fruits fraîchement noués(OIER, 2013)

Les besoins en eau de la culture se situent entre 500 et 550 millimètres sur l'ensemble du cycle cultural, soit 1,2 à 3,6 millimètres par jour entre la plantation et la floraison, et 5 à 6 millimètres par jour de la floraison à la récolte. Un manque d'eau se traduit rapidement par une nécrose apicale des fruits et une chute prématurée des feuilles. C'est pourquoi l'irrigation permanente est nécessaire en culture conventionnelle. L'aération du tunnel est un requis afin d'éviter les principales infections par les pathogènes (OIER, 2013)

Semis et plantation

La croissance des semis dure entre 45 et 60 jours et doit se faire à des températures optimales de 20-25°C. Le transfert de la pépinière aux tunnels se réalise entre mars et juin avec une densité idéale de deux plants par mètre carré. Le cycle de croissance dure environ cinq mois de la transplantation à la récolte. Un plant de poivron aux caractéristiques optimales pour la transplantation doit présenter 4 à 5 feuilles et un bon développement de l'appareil racinaire (Heuvelink *et al.*, 2004; Sánchez del Castillo *et al.*, 2017).

Croissance et récolte

Les plants de *C. annuum* cultivés présentent une croissance indéterminée (Jovicich *et al.*, 2004) et une ramification de leurs tiges en deux branches ou plus. Sur chacune de ces branches, entre une et trois feuilles se développent et se ramifient à nouveau. Cette croissance se répète successivement; un fruit se forme sur chaque branche (Sánchez del Castillo *et al.*, 2017). Ainsi, la plante pousse librement sous forme arbustive. La floraison s'étale depuis la fin du printemps et durant tout l'été, mais les premiers fruits apparaissent bien avant que la dernière fleur ne soit fanée. Les premiers fruits développés entrent en plus grande compétition avec la croissance végétative et reproductive qui se poursuit dans le reste de la plante pour les photoassimilats. La principale conséquence est un nombre élevé de fruits avortés au début de leur développement. Après la récolte des premiers fruits, les nouveaux fruits cessent d'avorter. Ainsi, pendant le cycle de croissance (Cf. figure 2) la production est obtenue en deux flux de récolte séparés de deux à trois mois. Les rendements obtenus sont d'environ 100 tonnes par hectare (Cantliffe & Vansickle, 1969; Jovicich *et al.*, 2004). Ce système permet d'obtenir des fruits verts qui répondent à une demande croissante du marché. Une récolte plus tardive permet la maturation en rouge des fruits. Elle s'étale donc sur plusieurs mois, de juin à septembre selon les variétés et les zones de production (Jovicich *et al.*, 2004).

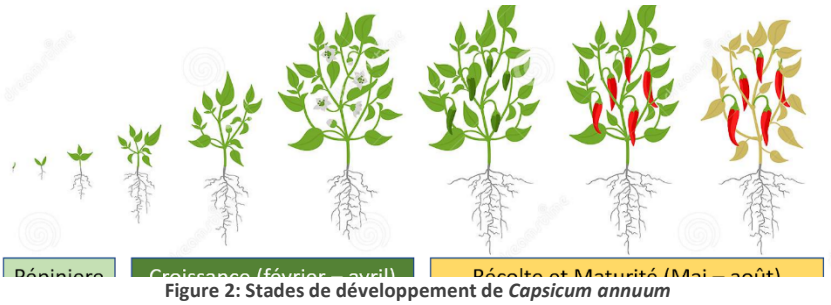

Figure 2: Stades de développement de *Capsicum annuum*

2. Le PVY (Potato virus Y)

2.1. Généralités

Le virus Y de la pomme de terre (PVY) appartient au genre des Potyvirus de la famille des *Potyviridae* et cause d'importantes pertes économiques sur une large gamme d'hôtes de la famille des Solanacées ainsi que de certaines de leurs adventices. Chez le piment, la perte de rendement associée au virus PVY peut être totale (Luis-Arteaga & Ponz, 2003).

Cycle de développement et épidémiologie

PVY est un virus qui se transmet principalement de manière non persistante via des insectes vecteurs : les aphides (genre *Aphis*). Plus de quarante espèces de la famille des *Aphididae* ont été recensées comme vecteurs potentiels de PVY (Singh *et al. 2007*; Luis-Arteaga & Ponz, 2003). Ce mode de transmission se caractérise par la capacité du vecteur à transmettre le virus dans un laps de temps très court après avoir piqué une plante infectée, ce qui rend inefficace les méthodes de lutte qui visent le vecteur. Additionnellement aux insectes vecteurs, la présence de résidus de matériel végétal contaminé dans le sol peut être responsable d'infections des cultures par PVY (Luis-Arteaga & Ponz, 2003).

Il est à noter que l'augmentation des températures semble défavorable pour les vecteurs. Des études menées sur plusieurs espèces de pucerons ont montré une chute de la longévité et de la fécondité des pucerons avec l'augmentation de la température (Barro, 1992; Asin & Pons, 2001; Ma *et al.*, 2004). Cependant, la chaleur a tendance à favoriser le développement des virus et compter sur un bénéfice du stress abiotique sur le vecteur représenterait un risque trop important pour la création variétale.

Symptômes sur la plante hôte

L'infection se manifeste phénotypiquement par un éclaircissement progressif des nervures des feuilles pouvant aboutir à une géométrie en mosaïque, voire une perte de feuilles (Quenouille *et al.*, 2013b). Des lésions locales suivies de nécroses sont caractéristiques de l'infection par PVY sur *C.annuum* (Gebre Selassie *et al.*, 1985) mais d'autres nécroses sur les nervures et le pétiole peuvent aussi se développer, accompagnées ou non de nécroses au niveau de la tige et du bourgeon apical. Dans les cas les plus sévères, la mort de la plante peut survenir (Luis-Arteaga & Ponz, 2003).

Concernant le fruit, des patrons nécrotiques en forme de mosaïque peuvent également se développer, entraînant une déformation de ce dernier. De manière générale, plus l'infection a lieu tôt dans le stade de développement de la plante, plus la sévérité des symptômes est importante (Quenouille *et al.*, 2013; Gebre Selassie *et al.*, 1985; Luis-Arteaga & Ponz, 2003).

2.2 Génome et biologie moléculaire du virus PVY

Le PVY est un virus à ARN simple brin de polarité positive, de taille 9,7 kb. Chacun de ses virions a une taille d'environ 730 nm et un diamètre de 12 nm. L'expression de son génome aboutit à la production d'une poly protéine de 3062 acides aminés qui sera ensuite clivée en onze protéines virales matures. L'ARN viral est schématisé sur la figure ci-dessous (Cf. Figure3), avec une liaison en 5' à une protéine VPg (genome-linked Viral Protein - protéine virale liée de manière covalente en 5' du génome), et sa stabilité est assurée par une queue polyadénosine en 3' (Quenouille et al., 2013b).

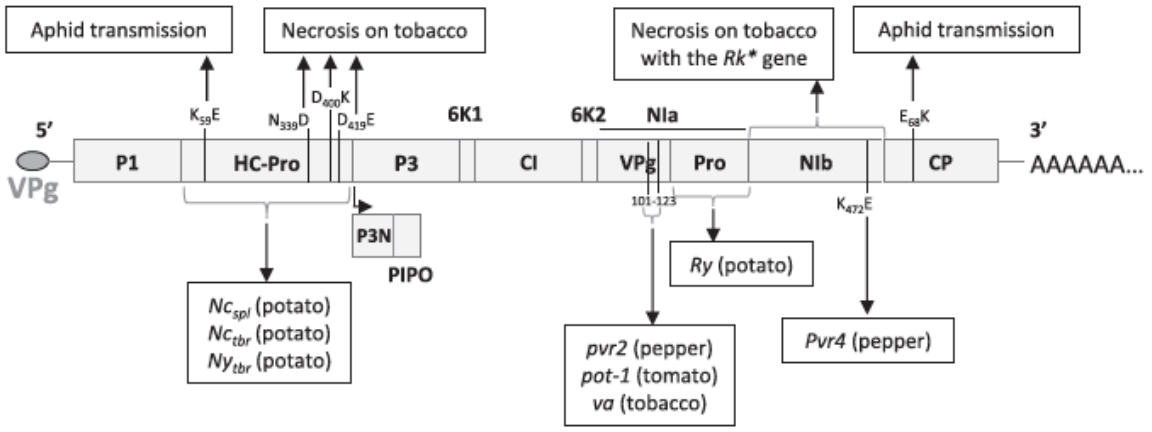

Figure 3: Déterminants de pathogénicité sur le génome du Potato Virus Y et principaux sites d'interaction avec la plante hôte. (Quenouille *et al.*, 2013b)

Les différentes protéines codées ont des rôles multifonctionnels dans le cycle du virus et dans la mise en place de l'infection chez la plante hôte. Pour réaliser son cycle viral, PVY a d'abord besoin d'exprimer son génome. Pour ce faire, la protéine VPg interagit avec le facteur d'initiation de la traduction des plantes eIF4E (ou son isoforme eIFiso4E chez *C. annuum*). Cette interaction permet le recrutement de la machinerie cellulaire nécessaire à la traduction de la polyprotéine virale ce qui induit par la suite la multiplication du virus (Tavert-Roudet *et al.*, 2012). Les résistances au PVY recensées sur *C. annuum* sont principalement causées par des mutations de ce facteur.

Les protéines virales de PVY sont toutes impliquées de près ou de loin dans la sévérité des symptômes, chacune avec des rôles particuliers dans le processus de colonisation de la plante hôte (Quenouille *et al.*, 2013b). Certaines ont des fonctions structurales ou motrices, comme P3 et 6K2 qui garantissent l'accrochage du complexe réplicatif à la membrane du réticulum endoplasmique de la cellule infectée. D'autres vont permettre le mouvement des virions de cellule à cellule. La réplication du génome viral est assurée par la fonction polymérase de la protéine Nlb et grâce à la fonction hélicase de la protéine CI (cylindrical inclusion). Les protéines de la capside CP et du helper-component HC sont impliquées dans la transmission des virions de plante à la plante *via* les pucerons en se liant au stylet de ces insectes (Pirone & Blanc, 1996). Enfin, les protéines P1 et HC constituent un premier arsenal de lutte contre les résistances des plantes notamment en empêchant les phénomènes de silencing d'ARN (Pruss *et al.*, 1997). Bien que chacune des protéines décrites ci-dessus joue un rôle dans l'invasion de la plante hôte, de nombreuses études mettent en évidence les possibilités de résistance des plantes, notamment grâce aux propriétés défensives de protéines comme la Rubisco qui limitent le développement et l'accumulation des protéines virales des Potyvirus (Duprat *et al.*, 2002).

2.3 : Taxonomie et Pathotypes

La première infection de PVY sur piment a été identifiée aux États-Unis dans les années 1940. Depuis, des isolats du virus ont été retrouvés partout dans le monde, avec des gammes d'hôtes différentielles (Gebre Selassie *et al.*, 1985). Il existe donc naturellement une certaine variabilité dans les populations de virus PVY : trois pathotypes de virulence croissante ont été définis. Des tests de pathogénicité ont permis la mise en évidence des caractéristiques communes aux souches virulentes de PVY sur *C.annuum* :

- Le pathotype PVY-0 n'est virulent que chez les variétés sensibles comme par exemple la variété Yolo Wonder. Ces variétés ne possèdent pas la résistance au PVY conférée par la présence d'un allèle récessif de $pvr2^1$ ou de $pvr2^2$.
- Le pathotype PVY-1 induit une mosaïque sur certaines variétés résistantes au PVY-0 qui peuvent aller jusqu'à la nécrose pour certaines souches. Ces souches peuvent donc contourner une résistance conférée par $pvr2^1$ ou par $pvr2^2$.
- Le pathotype PVY-1-2 induit des symptômes plus tardifs chez toutes les variétés sensibles aux deux pathotypes précédents, et déclenche également une infection chez Yolo Y, résistante aux deux autres. A ce jour, les variétés résistantes reconnues sont Solario et Novi 3 (GEVES, 2020). Ce dernier pathotype est plus rare mais plus dangereux car capable de contourner les deux résistances acquises sur $pvr2^1$ et $pvr2^2$ (Singh *et al.,2007*). Cependant, il existe un autre gène de résistance Pvr4 qui confère une résistance à ce pathotype (Ruffel *et al.*, 2002).

Il a été montré que ce sont les souches du pathotype PVY-0 qui sont les plus abondantes en France sur les cultures de *C.annuum.* Cependant, les populations naturelles de PVY peuvent contenir des souches de pathotypes différents, formant alors des sous-populations. C'est seulement après inoculation sur plusieurs variétés aux spectres de résistance différents que ces sous-populations se révèlent (Gebre Selassie *et al.*, 1985). De telles informations sont importantes dans le pilotage de la sélection variétale chez le piment afin de choisir les résistances à privilégier.

3. Résistance au virus :

Il n'existe pas à ce jour de traitement antiviral efficace contre le PVY. Selon le réservoir viral initial, l'intensité de l'épidémie, et la sensibilité du cultivar au PVY, il est possible d'aménager les itinéraires de culture pour lutter contre le PVY (Fabre *et al.*, 2012b). Le plus efficace demeure la lutte génétique, c'est-à-dire l'utilisation de variétés dont le patrimoine génétique empêche l'infection ou la multiplication du PVY. Ainsi, des résistances quantitatives et qualitatives peuvent être mobilisées contre ce virus (Quenouille *et al.*, 2013a).

3.1 Résistance qualitative

PVY est lié de manière covalente à une protéine VPg (voir 2.2). Après l'infection des cellules végétales, la partie protéique du virus se fixe sur le facteur de traduction eIF4e. La machinerie de traduction est alors recrutée, et la réplication est amorcée (Ruffel *et al.*, 2002). La résistance qualitative est permise par une mutation du facteur de transcription eIF4E qui empêche la formation du complexe VPg x eIF4E, empêchant ensuite la traduction de la polyprotéine virale, et mettant donc fin à la reproduction du virus. Pour obtenir génétiquement cette résistance, il faut une mutation dans le facteur eIF4E (Ruffel *et al.*, 2002). Il existe plusieurs gènes de résistances déjà identifiés : pvr2[1], pvr2[2] , pvr2[3], pvr3, Pvr4 et pvr6 (Cf. Tableau 1) .

Tableau 1: Résumé des gènes majeurs de résistance au PVY (Kang *et al.*, 2005)

Gène	Pathotype	Autres résistance	Dominant | Récessif
pvr2[1]	PVY 0	TEV	Récessif
pvr2[2]	PVY 0, PVY 1	TEV	Récessif
pvr2[3]	PVY 0		Récessif
pvr3	Tous les PVY		Récessif
pvr4	Tous les PVY	PeMV	Dominant
pvr6	Tous les PVY	TEV, PeMV	Récessif

Ces mécanismes peuvent cependant être contournés par une mutation virale affectant la VPg, ce qui permet de nouveau son interaction avec le complexe eIF4E. Le contournement est plus ou moins rapide selon les mutations, mais il n'est pas possible de déterminer à quelle vitesse le contournement sera effectué selon les mutations affectant la VPg (Ayme *et al.*, 2006).

Pour les gènes majeurs de résistance, le contournement de la mutation peut être repoussé au maximum si le gène de résistance possède les caractéristiques suivantes (Quenouille *et al.*, 2013a):

- Il est accompagné d'un background de résistance quantitative, qui permet une première lutte contre le virus et limite sa multiplication. Par conséquent, cela diminue la probabilité d'apparition d'une mutation contournante.
- Un grand nombre de mutations de la VPg est nécessaire pour pouvoir le contourner. A nouveau, cela diminue la probabilité d'apparition d'un mutant contournant.
- Une diminution de la fitness des mutants contournant la résistance. Si les mutants qui contournent la résistance ont une fitness plus faible que les autres virus, ils sont moins rapidement sélectionnés.

Les gènes de résistance retenus sont pvr2² et Pvr4. Ce sont deux gènes très durables. Pour le moment il n'a pas été mentionné de contournement de la résistance donnée par Pvr4. Pvr2² a été utilisé durant environ 50 ans, et il n'y a eu que deux contournements relatés. Le premier a été observé en laboratoire. Le seconde en Espagne, en 1988 (Loebenstein & Lecoq, 2012). Aucun de ces contournements n'a entraîné d'épidémie. Pour contourner pvr2² il faut que le virus accumule deux mutations. Pour contourner Pvr4, Il faut une seule mutation mais celle-ci entraîne une importante perte de fitness pour le virus ce qui permet une très forte durabilité de ce gène (Rousseau *et al.*, 2019). De plus, la résistance conférée par Pvr4 n'est pas diminuée lors des augmentations de températures, et les symptômes sont moins importants quand la température est élevée que faible (Arnedo-Andrés *et al.*, 2006). Outre leur forte durabilité ; ils permettent d'offrir une résistance contre tous les PVY et aussi contre d'autres potyvirus : le PVMV (*Pepper veinal mottle virus*) et le TEV (*Tobacco etch virus*). Même si ces deux virus ne sont pas au cœur de ce projet, il sera toujours bénéfique d'avoir une résistance contre eux car ils pourraient affecter la culture en cas d'épidémie en région méditerranéenne.

Pvr2³ n'a pas été retenu car il s'agit d'un allèle peu durable, essentiellement utilisé en laboratoire ou associé à des QTL de résistance quantitative. Pvr6 n'a pas été retenu non plus car lorsqu'il est combiné à pvr2² il ne permet pas de lutter contre d'autres potyvirus ou alors il diminue la durabilité de ce gène (Ruffel *et al.*, 2006).

3.2 Résistance quantitative

Pour optimiser cette résistance qualitative, l'ajout d'une résistance quantitative peut-être préconisé. En effet, elle limite la croissance de la population de virus, donc la probabilité d'apparition d'un virus qui contourne la résistance. En 2014, des QTL de résistance quantitative chez *C. anuum* ont été identifiés. En particulier il y a quatre QTL qui permettent de limiter l'accumulation du virus et ou de l'expression des symptômes (Tamisier *et al.*, 2020). Cependant, l'introgression des QTL de résistance quantitative représente un surplus couteux dans le schéma de sélection face aux faibles risques de contournements existants avec le choix de deux gènes majeurs de résistances.

4. Description du stress abiotique : augmentation des températures

4.1 Impact des températures sur le développement de *C.annuum*

Les scénarios prospectifs sur le changement climatique présagent une augmentation des températures allant jusqu'à 4°C dans certaines régions ainsi qu'une augmentation de la fréquence, de l'intensité, et de la durée des épisodes de fortes chaleurs (ICPP 2019). Les pertes de rendement causées par le stress haute température risque donc de s'accentuer dans les années à venir. Or, *C. annuum* fait partie des nombreuses cultures sensibles aux stress hautes températures (Cochran, 1936; Pagamas & Nawata, 2008). Au-delà de 30°C, on observe une réduction du temps de croissance (Pagamas & Nawata, 2008), ainsi qu'une diminution de la taille de la plante et du fruit aboutissant à une baisse du rendement (Saha *et al.*, 1970; Erickson & Markhart, 2002). Selon le stade phénologique pendant lequel la plante est exposée au stress thermique, son développement sera affecté différemment (Pagamas & Nawata, 2008). Un stress thermique durant la floraison aboutit à une augmentation d'abscission des fleurs et des bourgeons et à une diminution de la nouaison (Cochran, 1936; Erickson & Markhart, 2001). Plus précisément, les périodes critiques de sensibilité au stress thermique hautes températures sont le stade précoce du développement de la fleur (microsporogenèse), et le stade final du développement (maturation des microspores, anthèse et pollinisation) (Erickson & Markhart, 2002). Durant la formation du fruit, des températures supérieures à l'optimale aboutissent à une diminution du calibre du fruit avec une réduction de l'accumulation de carbohydrates et donc une diminution du rendement (Pagamas & Nawata, 2008).

Au niveau cellulaire et physiologique, de nombreuses modifications sont observées telles qu'une augmentation de la fluidité et de la perméabilité des membranes, une perturbation de la respiration et de l'homéostasie, ou encore l'instabilité de certaines protéines (Bita & Gerats, 2013; Gray & Brady, 2016; Nievola *et al.*, 2017; Desaint *et al.*, 2021). Dans le cadre d'une production commerciale, la perturbation la plus dommageable est la réduction de photosynthèse conduisant à une diminution de la fixation de carbone et de la synthèse de carbohydrates et *in fine* à une baisse de rendement (Nievola *et al.*, 2017). Plusieurs phénomènes causent la baisse de photosynthèse dont le principal est la baisse d'activité de la Rubisco activase (Crafts-Brandner & Salvucci, 2004; Sage *et al.*, 2008). A cela s'ajoute l'instabilité de la membrane des chloroplastes et des thylakoïdes ce qui a un impact négatif sur le photosystème II. On observe également une diminution de la teneur en chlorophylle (Reynolds *et al.*, 1990; Guo *et al.*, 2014; Feng *et al.*, 2019) et l'accumulation de dérivés réactifs de l'oxygène (H_2O_2, O_2 et autres), responsables de dommages oxydatifs perturbant la photosynthèse (Feng *et al.*, 2019).

4.2 Tolérances au stress haute température

L'espèce *C. annuum* présente une diversité de sensibilité au stress hautes températures (Saha *et al.*, 1970). Au niveau génétique, l'étude transcriptomique de diverses accessions a démontré des origines génétiques pour ce trait (Dahal *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2015). De nombreux gènes liés à la réponse au stress thermique chez *C.annuum* ont été mis en évidence. Ces gènes appartiennent principalement à la famille des Hsf (Heat shock transcription factors) (Guo *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2015), ainsi qu'à la famille des CaHsp (*C. annuum* Heat-shock protein). Ces CaHsp agissent par exemple en augmentant la stabilité des protéines et diminuant la concentration de dérivés réactifs de l'oxygène (Guo *et al.*, 2014, 2015, 2016; Li *et al.*, 2015; Haq *et al.*, 2019). Cependant, les mécanismes précis derrière ces phénomènes restent encore mal connus (Guo *et al.*, 2016). Des gènes impliqués dans la transduction du signal de stress impliquant des hormones (acide salicylique, acide abscissique), du calcium et des kinases ont également été révélés (Li *et al.*, 2015; Guo *et al.*, 2016; Chhapekar *et al.*, 2018). Ainsi, la tolérance au stress hautes températures est un phénomène au déterminisme génétique complexe impliquant un grand nombre de gènes. De plus, l'effet

des gènes identifiés est souvent dû à des variations du taux de transcription et non à des variations alléliques. L'introgression de gènes précis pour augmenter la tolérance à ce stress semble alors peu réaliste.

Au niveau phénotypique, les variétés tolérantes sont généralement caractérisées par un maintien de la photosynthèse ainsi qu'une meilleure thermostabilité des membranes permises par l'augmentation de la proportion d'acide gras saturés (Ghai *et al.*, 2016; Nievola *et al.*, 2017). Cependant, la sélection sur des gènes impliqués dans le métabolisme lipidique ou la transduction du signal pourraient avoir des conséquences imprévues sur la qualité du fruit ou la sensibilité à d'autres stress. De plus, le phénotypage des mécanismes liés à la stabilité des membranes est coûteux et laborieux. Ainsi, une sélection phénotypique sur le maintien d'un fort taux de photosynthèse en condition de hautes températures sera préférable en contexte commercial. De plus, ce caractère est très héritable, ce qui le rend pertinent dans le cadre d'un schéma de sélection (H^2=1, (Usman *et al.*, 2014)).

Afin d'augmenter les chances d'obtention d'individus tolérants à la chaleur, il peut également être intéressant de chercher à protéger les photosystèmes lorsque les températures augmentent, afin de limiter l'impact sur le rendement. Des études empiriques ont montré les rôles des caroténoïdes dans l'augmentation de la tolérance aux hausses de températures chez les plantes. En effet, les caroténoïdes sont liés aux mêmes complexes pigments-protéines que les chlorophylles et permettent la photoprotection ainsi que le transfert d'énergie par l'absorption de lumière dans une gamme de longueurs d'onde différente de la chlorophylle (Frank & Cogdell, 1993). Par ailleurs, ces molécules sont importantes pour assurer la coloration du fruit, caractère d'intérêt pour la création d'une variété rouge. Enfin, les caroténoïdes apportent des propriétés nutritives antioxydantes recherchées de certains consommateurs (Hornero-Méndez *et al.*, 2000; Conforti *et al.*, 2007).

En ce qui concerne le déterminisme génétique, la régulation de la concentration de ces pigments intervient au niveau de leur voie de biosynthèse. Celle-ci dérive de la voie de biosynthèse des isoprénoïdes, impliquée dans la régulation d'autres molécules telles que les stérols, les phytols ou encore les gibbérellines. La transcriptomique a mis en évidence des échanges entre les différentes voies des isoprénoïdes. Cependant, interagir sur des enzymes catalyseurs de la voie des caroténoïdes entraînerait une dérégulation dans d'autres voies de biosynthèse, impactant la maturation des fruits (Fray *et al.*, 1995; Fraser *et al.*, 1999). Un autre groupe de gènes également impliqués dans la meilleure accumulation des caroténoïdes du fruit, le groupe SEP, fait l'objet d'observations similaires car aussi impliqué dans la maturation des fruits de différentes Solanacées dont *C. annuum* (Guo *et al.*, 2017; Dubey *et al.*, 2019). Ces éléments rendent la sélection sur l'accumulation des transcrits de ces gènes impossible, puisqu'ils semblent compromettre le développement du fruit (Johnson & Williamson, 2003).

Une autre possibilité consisterait à ajouter un transgène « Orange » induisant une plus grande synthèse de caroténoïdes qui procure une meilleure tolérance à la chaleur (Wang *et al.*, 2018). Cependant, aucun gène orthologue n'a été mis en évidence chez *C annuum*, et dans le cadre d'une variété à destination du marché européen, cette alternative a été écartée.

Au niveau phénotypique, les fruits les plus riches en caroténoïdes sont ceux récoltés le plus tardivement. Sur la jeune plante, en condition de hautes températures, la forte teneur en caroténoïdes peut s'évaluer directement grâce à des capteurs (voir 5.2). La classe des caroténoïdes étant vaste, des résultats d'héritabilité sens large fluctuent entre 30 et 60% pour certains pigments tandis que d'autres montrent des héritabilités supérieures à 60%. L'absence de corrélation entre la teneur en caroténoïdes et le rendement permet d'envisager l'amélioration en parallèle de ces deux traits (Halilu *et al.*, 2016).

Une stratégie d'évitement de stress par sélection sur la précocité a été écartée compte tenu de la possible perte de rendement que cela implique et de l'incertitude quant à la période précise des vagues de chaleurs dans le futur.

4.3 Impact des températures sur l'interaction poivron-PVY

En plus d'avoir un impact direct sur le développement et les tissus, l'interaction entre le PVY et la hausse des températures est également défavorable pour la plante. En effet, le facteur température est, avec le facteur humidité, le facteur central dans l'évolution des pathogènes. L'augmentation de température risque d'augmenter l'occurrence et la sévérité des épidémies. Elle pourrait se rapprocher de la température optimale du PVY et ainsi améliorer sa fitness, augmenter la longueur des périodes de reproduction et de dissémination ainsi qu'accélérer sa vitesse de multiplication. Par ailleurs, les altérations physiologiques des plantes causées par une hausse des températures peuvent modifier la colonisation des tissus par les pathogènes biotrophes (Desaint *et al.*, 2021). Cependant, ces observations concernent les plantes en général et sont très variables en fonction du pathosystème. Aucune étude n'a été trouvée sur la réponse spécifique de PVY à la chaleur. Ainsi, ne sachant pas si la chaleur aura un impact positif ou négatif sur le PVY, notre variété devra être adaptée au cas le plus défavorable où le virus serait favorisé par l'augmentation des températures.

La chaleur peut également diminuer l'efficacité des gènes de résistance. En effet, une grande proportion de résistances à des pathogènes sont altérées par une augmentation de la température (Desaint *et al.*, 2021). Une perte d'efficacité de la réponse hypersensible face au PVY en cas de stress haute température a été mise en évidence chez la pomme de terre (Valkonen, 1997). Il a également été montré que les variétés de pomme de terre sensible aux hautes températures présentaient une réduction de l'expression des pathogenesis-related genes contrairement aux variétés tolérantes (Makarova *et al.*, 2018). Bien que les mécanismes précis ne soient pas identifiés, certaines raisons expliquant l'altération de la réponse immunitaire semblent être : une dérégulation de la transcription de gènes de défenses et de gènes liés à la HR, un cross talk hormonale contradictoire, la dénaturation de protéines de défense ainsi que la délocalisation de composantes essentielles à la réponse immunitaire (Desaint *et al.*, 2021). Plusieurs études émettent également l'hypothèse d'une forte implication de l'acide salicylique (Makarova *et al.*, 2018; Desaint *et al.*, 2021).

Bien que de manière générale, la hausse des températures semble être défavorable à l'immunité des plantes, à ce jour, peu d'informations sont disponibles spécifiquement sur la durabilité des gènes de résistance au PVY chez *C.annuum* en condition d'augmentation des températures. Une thèse est actuellement en cours sur ce sujet à l'INRAE d'Avignon, il y sera étudié des gènes majeurs et des QTL de robustesse de l'immunité contre PVY chez *C.annuum* sous différents régimes thermiques (Thèse de W. Billaud: Robustesse de l'immunité des plantes face à des perturbations biotiques et abiotiques (2019-2022). Seul Pvr4 a montré une thermostabilité faible (Arnedo-Andrés *et al.*, 2006). Aucune information n'est connue quant à la réponse de pvr2[2] mais compte tenu de son mode d'action identique à Pvr4, on peut supposer le maintien de son efficacité. La thermostabilité des résistances introgressées devra impérativement être vérifiée au cours du schéma de sélection.

5. Phénotypage

Le programme de sélection présenté ci-après aboutit à la création de deux lignées parentales engendrant une variété hybride F1 de *C. annuum* résistante au PVY et tolérante aux températures élevées. En effet, *C. annuum* présente une forte vigueur hybride pour des traits d'intérêt agronomique importants comme le nombre de fruits par plant, le rendement, le diamètre et le poids des fruits (Shrestha *et al.*, 2011; Khalil & Hatem, 2014). Pour ce faire, des évaluations de combinabilité seront mises en place le long du schéma de sélection.

L'idéotype recherché est une variété adaptée à la croissance sous tunnel, ayant un rendement d'environ 100 tonnes par hectare et des fruits de qualité répondant aux besoins organoleptiques du marché du sud de l'Europe. Ainsi, une variété de poivron rouge doux de type « blocky » d'environ 13 centimètres de diamètre, 260 grammes de poids et 50 centimètres de hauteur du plant sont recherchés. A ces traits classiques s'ajoutent la résistance à PVY, pathotypes PVY-0 et PVY-1,2 et la tolérance aux stress thermiques hautes températures. La résistance à PVY sera fournie par un pyramidage des résistances aux gènes majeurs pvr2[2] et Pvr4 et celle aux températures élevées sera confirmée par la capacité de la variété à maintenir un fort taux de photosynthèse et une concentration en caroténoïdes élevée sous conditions de stress thermique. Ces caractéristiques seront phénotypées tout le long du schéma de sélection et les résultats serviront aux calcul d'AGC et d'ASC (aptitude générale et spécifique à la combinaison).

Les temps de phénotypage et le nombre de techniciens nécessaires à leur mise en place sont présentés en ANNEXE A.

5.1 Phénotypage de la résistance au PVY

Une évaluation de la résistance des accessions aux pathotypes PVY-0 et PVY-1,2 sera réalisée au stade cotylédon et au stade apparition de la première inflorescence (Stade 61 601 sur l'échelle BBCH). Lors de la première évaluation trois traits seront phénotypés : l'accumulation virale via test ELISA, la détection de gènes majeurs via PCR et les foyers d'infection primaires via phénotypage visuel. Lors de la deuxième évaluation, le phénotypage aura lieu via une analyse visuelle de la sévérité des symptômes sur les feuilles et les fruits.

Matériel viral et méthode d'inoculation

L'isolat de PVY utilisé pour inoculer nos accessions sera prélevé des cultures de poivrons infectés et préservé sur un hôte de propagation du virus : *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi. Une identification et validation du pathotype PVY-0 et PVY-1,2 sera réalisée via la méthode d'amplification par RT-PCR. Les amorces utilisées seront designées à partir de régions conservées de l'enveloppe protéique (CP) et d'une protéase d'inclusion nucléaire de protéines de PVY.

Afin de tester le cas le plus défavorable, l'inoculation se fera simultanément aux conditions de stress thermique puisqu'une acclimatation au stress avant inoculation réduirait la baisse de la résistance (Desaint *et al.*, 2021). La méthode utilisée est celle décrite par (Ibaba & Gubba, 2011), les feuilles de *N. tabacum* cv. Xanthi infectées sont récoltées et broyées dans un tampon de phosphate (0,1 M, pH 7,4, 0.4% de sulfite de sodium). Cet inoculum sera mécaniquement appliqué sur les cotylédons des plants pour la première évaluation et sur les feuilles des plants adultes pour la deuxième évaluation. L'inoculum sera remplacé toutes les dix minutes pour s'assurer que le virus reste viable tout au long de la procédure. La procédure d'inoculation sera répétée après sept jours.

Accumulation virale dans les tissus hôtes

Des tests ACP-(antigen coated plate) et DAS-(double antibody sandwich) ELISA seront réalisés sur les organes inoculés 28 jours après l'inoculation. Cette méthode permet de quantifier l'accumulation de virions PVY dans le tissu hôte. Trois échantillons par accession seront évalués (Tamisier *et al.*, 2020).

Détection de gènes majeurs de résistance

La détection des gènes majeurs de résistance sera évaluée via l'utilisation de marqueurs moléculaires. En ce qui concerne le gène majeur Pvr2, l'allèle récessif pvr2² peut être distingué au locus pvr2-eIF4E en utilisant la procédure tétra-amorce ARMS-PCR développée par (Rubio *et al.*, 2008). Afin de détecter le gène majeur Pvr4, des amorces PCR ont été élaborées par Devran *et al.*, 2015. Ces deux procédures se réalisent sur les deux cotylédons des échantillons et trois échantillons par accession seront évalués.

Évaluation visuelle des foyers d'infection primaires

Une évaluation visuelle phénotypique sera alors menée au stade cotylédon 28 jours après l'inoculation, de façon à valider les détections de gènes majeurs par marqueurs moléculaires. Les phénotypes de résistance attendus sont les suivants : aucune lésion nécrotique n'apparaît ni sur les cotylédons inoculés ni sur les feuilles émergentes ou alors des lésions nécrotiques apparaissent uniquement sur les cotylédons inoculés mais pas sur les feuilles émergentes. Dans le but de garantir la qualité des notations, l'échelle de sévérité de la maladie proposée par Canady *et al.*, 2001 et mise en place par Moodley *et al.*, 2015 sera utilisée. Les notes sur cette échelle sont : 1 = aucun symptôme visible, 2 = nécrose légère et distorsion foliaire limitée, 3 = nécrose modérée, distorsion foliaire avec un léger retard de croissance de la plante, 4 = nécrose sévère, déformation foliaire et un retard de croissance, 5 = nécrose sévère, distorsion foliaire et un retard de croissance prononcé. Afin d'automatiser cette étape, un phénotypage par imagerie pourra être mis en place. Cette évaluation sera menée sur trois échantillons par accession sur les accessions déjà sélectionnées par SAM.

Évaluation de la sévérité de l'infection au stade adulte

Une évaluation visuelle phénotypique sera menée sur les plantes au stade apparition de la première inflorescence (Stade 61 601 sur l'échelle BBCH) dans certaines étapes du schéma de sélection. Pour ce faire, l'indice de maladie (disease index) proposé par Pierre *et al.*, 1982 pour le phénotypage de la maladie du PHOMA dans le colza, une pathologie qui provoque elle aussi des nécroses, sera utilisée. Cet indice sera en effet adapté à l'évaluation de l'avancée nécrotique provoquée par le virus PVY sur la plante adulte. L'indice de la maladie (DI) proposé consiste à classer les échantillons évalués dans 6 classes de sévérité de la maladie en fonction de la proportion de la surface nécrosée observée. La classification dans des classes de sévérité est réalisée visuellement au niveau des tiges, des fruits et des feuilles de la plante en réalisant les observations suivantes :

1 : plantes saines, pas de lésion visible ; 2 : <25% de la section nécrosée ; 3 :> 25% mais <50% de la section nécrosée ; 4 : > 50% de la section nécrosée mais <75% de la section nécrosée ; 5 : > 75% de la section nécrosée ; 6 : section sans aucun tissu vivant, plante logée ou cassée lors de l'échantillonnage.

Une fois les échantillons classés, l'indice de sévérité de la maladie est calculé avec la formule suivante; d'après (Pierre *et al.*, 1982):

$$DI = \frac{\sum_{i=2}^{6}[2(i-2)+1]n_i}{\sum_{i=1}^{6} n_i}$$

Avec n le nombre de plantes dans la classe i. Cette évaluation sera menée sur deux fruits et deux feuilles par échantillon, l'un et l'une de la première et la dernière ramification de la plante du bas vers le haut de la tige. Ceci sera réalisé sur trois échantillons par accession.

5.2. Phénotypage - Résistance aux températures élevées

L'évaluation de la résistance des plantes aux températures élevées devra se faire au stade ou les risque de stress haute températures sont les plus important c'est à dire au stade de développement adulte (au premier stade de maturité, avec 10% des fruits ayant atteint la maturité – Stade 81 801 sur l'échelle BBCH). Afin de déterminer la résistance aux températures élevées, un stress de 35°C le jour et 27°C la nuit sera appliqué le long du stade cotylédon en conditions contrôlées (chambre de culture). Une fois le repiquage sous serre réalisé, un stress de 40°C le jour et 34°C la nuit sera appliqué jusqu'à la récolte. Les témoins seront maintenus à température optimale de 25°C le jour et 16°la nuit sur l'ensemble du cycle. Plusieurs traits seront évalués : le taux d'activité photosynthétique, la teneur en caroténoïdes, le rendement et les caractères organoleptiques des fruits. Puis, plus loin dans le schéma de sélection, ces mêmes traits seront évalués en conditions sous-tunnel.

Evaluation du taux de photosynthèse

Figure 4: appareil de mesure LI-6400 XT

La mesure de l'activité photosynthétique afin d'évaluer le stress thermique souffert par la plante se réalisera à l'aide du système LI-6400 XT (https://www.licor.com/env/products/photosynthesis/LI-6400XT) (Cf. Figure 4). Elle sera évaluée au niveau du couvert bas puisque ce niveau contribue davantage à la production de fruits que les autres niveaux (Lu, 2012). Ainsi, deux feuilles de la première ramification partant du bas vers le haut de la tige seront évaluées par échantillon. Et deux échantillons par accession seront évalués. Les feuilles seront marquées et le suivi se fera une fois toutes les deux semaines à partir de la floraison jusqu'à la récolte toujours à la même heure. De cette façon, la cinétique du taux photosynthétique de chaque accession sera obtenue. Il s'agit d'une information de grand intérêt pour notre sélection puisqu'elle permet de discriminer nos génotypes en fonction de leur maintien du taux photosynthétique sous des conditions de températures élevées en fonction de leur stade phénologique. De plus, le taux photosynthétique (net $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$), la conductance stomatique (en $molH_2O.m^{-2}.s^{-1}$) , le taux de transpiration (en $mmolH_2O.m^{-2}.s^{-1}$) et la concentration de CO_2 intercellulaire (en $\mu molCO_2.mol^{-1}$) seront mesurés. Lorsque l'analyse se fera en conditions contrôlées (premières étapes de notre schéma de

sélection), l'uniformisation du rayonnement pourra se faire à l'aide de LED dans la serre afin d'assurer des résultats non dépendants du rayonnement naturel qui peut être fluctuant en fonction de la météo. La serre sera équipée de climatiseurs pour assurer le maintien de la température. L'humidité relative moyenne journalière sera maintenue à environ 60% et la concentration en CO_2 à 800 µmol.mol^{-1} (Bassman et Zwier, 1991) (Jiang *et al.*, 2017).

Évaluation de la teneur en caroténoïdes

La mesure de la teneur en caroténoïdes se réalisera à l'aide d'un capteur FELIX-750, un outil utilisé dans les cultures de tomate et de poivron. Il s'agit d'un spectrophotomètre transportable qui évalue la qualité des fruits via VIS/NIRS. Le capteur Felix-750 utilise le phénomène de transmittance pour capturer des données en réflectance et absorbance brute. Sa gamme spectrale de longueur d'onde est de 285 à 1 200 nm (± 10 nm) avec une résolution λ (ou taille de l'échantillon spectral) de 3 nm et une résolution spectrale (ou pouvoir de résolution) de 8 à 13 nm. Plus de détails sur le capteur Felix-750 et son utilisation sont fournis dans le manuel d'instructions du F-750. Cette évaluation sera menée telle qu'elle est décrite dans Kaur *et al.*, 2020 sur deux fruits par échantillon et trois échantillons par accession.

5.3 Phénotypage traits agronomiques d'intérêts

La hauteur des plants et le nombres de fruits par plant seront mesurés de manière automatique soit à l'aide d'un appareil équipé de plusieurs caméras qui captera des images sur une hauteur de 3 m comme proposé par la plateforme SPICY Phenotyping (Heijden *et al.*, 2012) ou par un drone. Cette méthode haut débit permet de raccourcir le temps consacré au phénotypage. Afin de pallier au possible coût que pourrait représenter un tel outil, il peut être envisagée d'embaucher un prestataire tel que l'entreprise Phytodrone.

De 55 jours à 85 jours après le repiquage des observations journalières seront menées dans les champs afin de phénotyper la date de maturité en rouge de chaque génotype en prenant en compte les génotypes précoces et tardifs. En ce qui concerne le rendement, les fruits seront récoltés à la date de maturité en rouge de chaque génotype. Les fruits seront pesés lorsqu'un poids constant aura été atteint lors du séchage en étuve à air chaud à 60 ° C. Ceci sera réalisé pour trois plantes par accession dans chaque répétition. Un rendement en quintaux par hectare seront alors calculés (Dalal *et al.*, 2019). La couleur, la forme (allongée, conique, rond, cloche ou bloc, citrouille), le diamètre et la taille du fruit seront phénotypés de manière automatique par imagerie. Le fruit sera en effet photographié du haut, puis une vue latérale, suivie d'une capture après une coupe transversale et une coupe longitudinale (Cf. Figure 5). Les valeurs RGB des fruits permettent de phénotyper la couleur, et la mesure des distances permettront de phénotyper le reste des traits mentionnés. Ceci sera réalisé via le package R-vision de R. Cette méthode de phénotypage est proposée par (Nankar *et al.*, 2020).

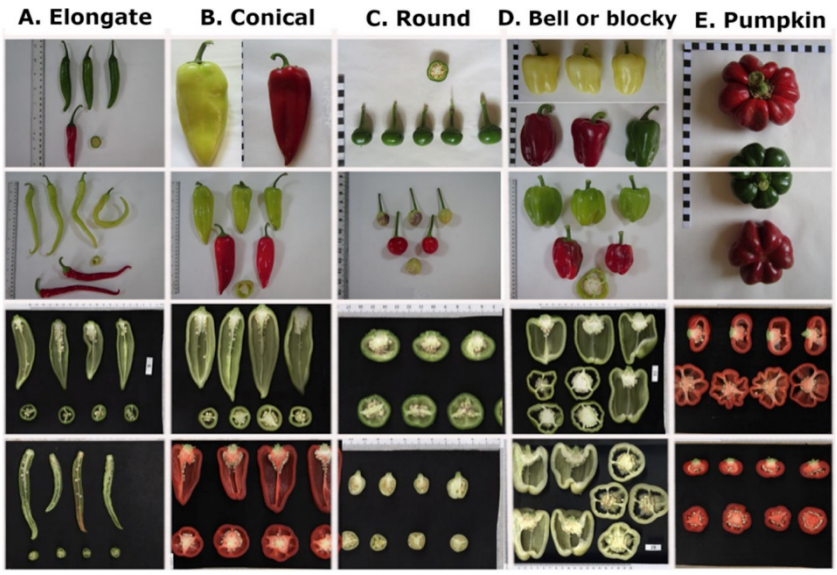

Figure 5 : Phénotypage de Capsicum annuum par imagerie RGB (Nankar *et al.*, 2020)

L'analyse sensorielle sera réalisée dans le but de décrire et de quantifier les caractéristiques du poivron qui ne peuvent pas être mesurées par un instrument, comme le caractère crissant, la perte d'eau en bouche ou les différents goûts et saveurs. Pour ce faire, un fruit par échantillon et un échantillon par accession sera évalué. Le fruit sera découpé en cubes de 3cm x 3cm x 3cm et la dégustation aura lieu. Chaque dégustateur devra remplir la grille présentée dans le tableau 2 qui a été élaborée en listant les termes les plus cités dans la littérature.

Tableau 2 : Grille d'évaluation de l'analyse sensorielle pour C. annuum.

Texture	Adhésion	Ne colle pas aux dents	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Colle beaucoup aux dents
	Dureté	Souple		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Dur
	Chewiness	Peu de mastication		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Beaucoup de mastication
	Crissant	Un peu	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Beaucoup
Goût	Salé	Pas salé	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Très salé
	Acidité	Pas acide	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Très acide
	Sucré	Pas sucré	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Très sucré
	Mauvais goût	Absent	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Très présent

6. Schéma de sélection

6.1 Choix des parents

La création de l'hybride *Hotwarrior* commence par la sélection des deux parents. Le premier parent est choisi parmi une gamme d'hybrides commerciaux sélectionnés pour leurs performances agronomiques ainsi que pour leur résistance à PVY. En effet, de tels hybrides existent déjà comme les variétés Solario ou W4 (GEVES 2020). Partir directement de ces F1 permet une économie de temps et d'argent.

Étant donné le caractère moins courant du caractère de tolérance à la chaleur, le choix du second parent se fait en deux temps. Bien qu'il existe des génotypes identifiés comme prometteurs pour ce type de création variétale (Pepsi-17-2, DCL- 524, VR-16, MS-12 et S-217621 selon (India *et al.*, 2016), la probabilité de trouver directement le parent souhaité est faible. Tout d'abord, un premier semis d'accessions tropicales issues de Seed banks est réalisé. Les accessions sont divisées en deux groupes : un groupe sud-américain et un groupe sud-asiatique. Le centre de diversification de *C. annuum* étant situé au niveau de l'actuel Mexique, la recherche de rusticité dans les caractères du piment favorise cette zone. Cependant, l'Asie du Sud-Est produit à ce jour beaucoup de piments et représente également une zone tropicale. Des traits de tolérance aux hautes températures peuvent potentiellement y être dénichés. A la fin de leur cycle de développement, chaque accession se voit attribuer une valeur propre, après élimination des accessions trop éloignées de l'idéotype final (du fait de leur rusticité). Les valeurs propres permettent d'effectuer des prédictions génomiques d'aptitudes générales à la combinaison (AGC) au sein de chaque groupe géographique. Cela permet un deuxième écrémage des accessions avec les scores d'AGC les plus mauvais. Dans un second temps, les accessions conservées sont croisées entre elles dans une contre-saison. Le but de cette étape est d'obtenir des hybrides F1 qui maximisent la tolérance du poivron à la chaleur tout en étant suffisamment intéressant agronomiquement. Cette première sélection s'effectue sous serre en conditions contrôlées.

C. annuum cv. Yolo Wonder (YW) est l'accession qui sera utilisée comme contrôle sensible dans toutes les étapes du schéma de sélection puisqu'elle ne présente aucune résistance aux trois pathotypes (PVY-0, PVY-1 et PVY-1,2). Le deuxième témoin utilisé est *C. annuum* cv. VR-16, reconnu comme tolérant aux fortes températures. Enfin, *C. annuum* var. California Miracle servira de témoin de performance agronomique. En effet, il s'agit d'une variété à fort rendement avec de gros fruits rouges. Tout comme les autres témoins, la comparaison des accessions en test avec ce contrôle facilitera le processus de sélection à chaque étape du schéma.

Les variétés ayant des traits agronomiques d'intérêt performants, les variétés porteuses des gènes majeurs pvr2[2] et Pvr4 et les variétés présentant une bonne résistance aux températures élevées seront utilisées pour la création des lignées parentales recherchées. De telles variétés peuvent provenir des catalogues officiels utilisés dans les différents pays de production. Étant donné que les résistances précises ne sont jamais divulguées dans les catalogues, la sélection de ces variétés se fera à partir des informations relatives aux pathotypes pour lesquelles elles résistent. Elles seront sélectionnées parmi les centres de ressources suivants : INRA Avignon qui est composé de 1352 accessions non redondantes, dont 11 espèces cultivées et sauvages, originaires de 89 pays et des cinq continents (Sage *et al.*, 2008), Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC) comprenant environ 11% de toutes les accessions Capsicumm spp. détenues dans le monde (Lin *et al.*) dont 5389 accessions de *C.annuum* et enfin Plant Genetic Resources Conservation Unit USDA ARS.

6.2 Schéma

Le schéma de sélection est synthétisé figure 6. Le tableau des effectifs et des pressions de sélection appliquées à chaque étape se trouve en annexe B. *C. annuum* étant une plante autogame hermaphrodite, il sera nécessaire de contrôler l'hybridation tout au long des étapes de sélection. Dans les essais avec de petits effectifs, une castration manuelle peut être envisagée. Par la suite une castration chimique semble plus rentable (matière active sintofen). Les essais durant la première phase du schéma auront lieu en condition contrôlées au Centro de investigación agricultura intensiva de Almería (Espagne), avant de passer en tunnel et aux essais multi sites.

Durant l'année 0 les hybrides F1 des deux groupes parentaux sont semés. Une première sélection sur valeurs propres a lieu pour éliminer les individus trop inadéquats. Afin d'accélérer la fixation des lignées, une haplo diploïdisation (HD) est réalisée. Les individus en résultant sont régénérés durant l'année 1. Une première génération d'HD étant peu vigoureuse, seule la sélection assistée par marqueur (SAM) est réalisée sur ces individus. Pour le parent 1 seuls les individus présentant les deux résistances pvr2² et Pvr4 sont conservés. Pour le parent 2, la présence de Pvr4 est souhaitable mais non obligatoire puisqu'il s'agit d'un allèle dominant. Les individus présentant une CMS ou un manque de viabilité sont également éliminés.

Les individus restants sont multipliés par autofécondation et semés en année 2. Sur cette génération plus vigoureuse, des mesures de valeurs propres et de prédiction d'AGC sont réalisées. La prédiction permet de choisir les testeurs les plus adaptés. En effet, au cours de l'année 2, les individus d'un groupe parental sont croisés avec un individu testeur de l'autre groupe parental. La descendance est étudiée en année 3 (phénotypage et mesure d'AGC). Un seul testeur est utilisé dans notre schéma mais il pourrait être envisagé d'en utiliser deux ou trois afin d'augmenter la robustesse des résultats. Une SAM pour les gènes de résistance est de nouveau réalisée afin de s'assurer qu'aucune pollution génétique ou croisement non désiré n'a eu lieu.

Les parents présentant les meilleures AGC sont semés en année 4 et un croisement factoriel est réalisé entre les deux groupes parentaux. Les individus F1 issus de ces croisements sont étudiés durant la cinquième année. Les parents des hybrides présentant les meilleurs ASC sont conservés, et au cours des années 6, 7 et 8 les hybrides sont testés dans différents sites d'essais afin de vérifier la stabilité de leur performance dans différents types d'environnements. Chaque année il y aura une diminution du nombre de F1 testés et une augmentation du nombre de répétitions. A la fin de l'année 8, l'hybride F1 le plus performant est choisi.

Plusieurs sites potentiels ont été identifiés pour nos essais : Le Centre d'Etude Régionale pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse (Ceraas), L'Institut National de la Recherche Agronomique du Niger (Inran), Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (Isra), L'Institut agronomique et vétérinaire Hassan- II (Maroc), L'Institut National Agronomique de Tunisie (INAT). Ils se situent dans des régions chaudes afin de tester les hybrides en conditions réelles de forte chaleur, en prévision de l'augmentation de température attendue dans notre région d'intérêt. Pour des questions de coût, seulement trois environnements différents parmi ceux disponibles sont testés dans notre schéma. Cependant, selon les moyens, des essais dans un plus grand nombre de sites seraient préférables. Afin de prendre en considération l'interaction GxE, un travail de caractérisation des environnements du réseau d'essais sera réalisé et comparé à notre environnement témoin contrôlé. Cela permettra d'affiner les prédictions de performances des variétés dans différents environnements et donc être pertinent dans les zones géographiques visées.

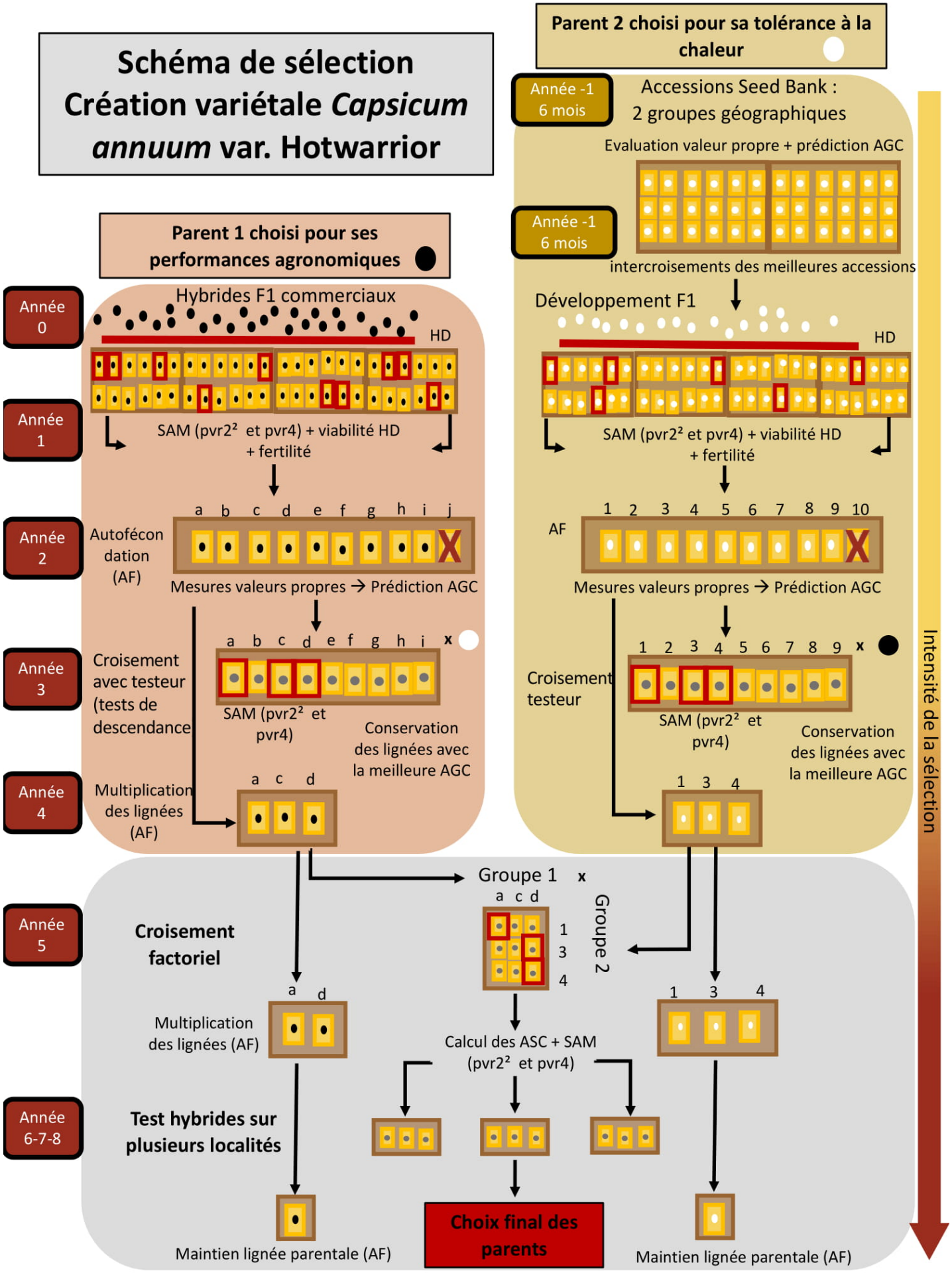

Figure 6 : Schéma de synthèse du schéma de sélection de la variété *Capsicum annuum* « Hotwarrior »

7. Stratégies de durabilité

Pour augmenter la durabilité des résistances, c'est-à-dire diminuer la fréquence et la vitesse d'apparition des virus aptes à contourner ces résistances, il existe différents leviers d'action détaillés en 3.1. Dans ce schéma, la durabilité est assurée par le pyramidage de gènes qui font preuve d'une grande durabilité à l'usage.

Pour évaluer la durabilité, même si l'essai au champ est indispensable, une mesure de la fitness des virus qui contournent la résistance et de leur sélection peut permettre une prédiction de cette durabilité. (dN/dS, Ω). Mais dans le cadre du schéma de sélection cela ne sera pas testé.

Il est possible d'augmenter encore la durabilité de la résistance en cultivant les piments en mosaïques, avec des mélanges de variétés résistantes et sensibles, et avec différents gènes de résistances (Fabre *et al.*, 2012b). La transmission se faisant par des aphids ou par des résidus de culture, la lutte contre les aphids et l'utilisation d'itinéraires techniques limitant la présence de résidus de culture sur les parcelles permettra une limitation du risque de transmission et d'infection et donc de contournement de résistance.

8. Bibliographie

Arnedo-Andrés MS, Luis-Arteaga M, Gil Ortega R. **2006**. New inheritance studies related to Potato Virus Y (PVY) resistance in Capsicum annuum L. 'Serrano Criollo de Morelos-334'. *Euphytica* **151**: 95–101.

Asin L, Pons X. **2001**. Effect of High Temperature on the Growth and Reproduction of Corn Aphids (Homoptera: Aphididae) and Implications for Their Population Dynamics on the Northeastern Iberian Peninsula. *Environmental Entomology* **30**: 1127–1134.

Ayme V, Souche S, Caranta C, Jacquemond M, Chadœuf J, Palloix A, Moury B. **2006**. Different Mutations in the Genome-Linked Protein VPg of *Potato virus Y* Confer Virulence on the *pvr2* [3] Resistance in Pepper. *Molecular Plant-Microbe Interactions®* **19**: 557–563.

Barro PJD. **1992**. The impact of spiders and high temperatures on cereal aphid (Rhopalosiphum padi) numbers in an irrigated perennial grass pasture in South Australia. *Annals of Applied Biology* **121**: 19–26.

Bita CE, Gerats T. **2013**. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Frontiers in Plant Science* **4**.

Boiteux LS, Cupertino FP, Silva C, Dusi AN, Monte-Neshich DC, van der Vlugt RAA, Fonseca MEN. **1996**. Resistance to potato virus Y (pathotype 1–2) in Capsicum annuum and Capsicum chinense is controlled by two independent major genes. *Euphytica* **87**: 53–58.

Canady MA, Stevens MR, Barineau MS, Scott JW. **2001**. Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) resistance in tomato derived from Lycopersicon chilense Dun. LA 1938. *Euphytica* **117**: 19–25.

Cantliffe DJ, Vansickle JJ. **1969**. Competitiveness of the Spanish and Dutch Greenhouse Industries With the Florida Fresh Vegetable Industry. *EDIS* **2003**.

Carrizo Garcia C, Sterpetti M, Volpi P, Ummarino M, Saccardo F. **2013**. Wild Capsicums: identification and in situ analysis of Brazilian species. *Breakthroughs in the genetics and breeding of capsicum and eggplant; Proceedings of the XV EUCARPIA meeting*.

Chhapekar SS, Jaiswal V, Ahmad I, Gaur R, Ramchiary N. **2018**. Progress and Prospects in Capsicum Breeding for Biotic and Abiotic Stresses. In: Vats S, ed. Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants. Singapore: Springer Singapore, 279–322.

Cochran HL. **1936**. Some factors influencing growth and fruit-setting in the pepper (Capsicum frutescens L.). *CORNELL AGRICULTURAL EXPERIMENT STATION, MEMOIRS*.

Conforti F, Statti GA, Menichini F. **2007**. Chemical and biological variability of hot pepper fruits (Capsicum annuum var. acuminatum L.) in relation to maturity stage. *Food Chemistry* **102**: 1096–1104.

Crafts-Brandner SJ, Salvucci ME. **2004**. Analyzing the impact of high temperature and CO2 on net photosynthesis: biochemical mechanisms, models and genomics. *Field Crops Research* **90**: 75–85.

Csilléry G. **2006**. Pepper taxonomy and the botanical description of the species. *Acta Agronomica Hungarica* **54**: 151–166.

Dahal K, Sharma M, Dhakal D, Shakya S. **2006**. Evaluation of Heat Tolerant Chilli (*Capsicum annuum* L.) Genotypes in Western Terai of Nepal. *Journal of the Institute of Agriculture and Animal Science* **27**: 59–64.

Dalal A, Bourstein R, Haish N, Shenhar I, Wallach R, Moshelion M. **2019**. Dynamic Physiological Phenotyping of Drought-Stressed Pepper Plants Treated With "Productivity-Enhancing" and "Survivability-Enhancing" Biostimulants. *Frontiers in Plant Science* **10**.

Dept. of Botany, Punjab Agricultural University, Ludhiana, Punjab (141 004), India, Kaur N, Dhaliwal MS, Dept. of Vegetable Science, Punjab Agricultural University, Ludhiana, Punjab (141 004), India, Jindal S, Dept. of Vegetable Science, Punjab Agricultural University, Ludhiana, Punjab (141 004), India, Singh P, Dept. of Vegetable Science, Punjab Agricultural University, Ludhiana, Punjab (141 004), India. **2016**. Evaluation of Hot Pepper (Capsicum annuum L.) Genotypes for Heat Tolerance during Reproductive Phase. *International Journal of Bio-resource and Stress Management* **7**: 126–129.

Desaint H, Aoun N, Deslandes L, Vailleau F, Roux F, Berthomé R. **2021**. Fight hard or die trying: when plants face pathogens under heat stress. *New Phytologist* **229**: 712–734.

Devran Z, Kahveci E, Özkaynak E, Studholme DJ, Tör M. **2015**. Development of molecular markers tightly linked to Pvr4 gene in pepper using next-generation sequencing. *Molecular Breeding* **35**: 101.

Dubey M, Jaiswal V, Rawoof A, Kumar A, Nitin M, Chhapekar SS, Kumar N, Ahmad I, Islam K, Brahma V, *et al.* 2019. Identification of genes involved in fruit development/ripening in Capsicum and development of functional markers. *Genomics* **111**: 1913–1922.

Duprat A, Caranta C, Revers F, Menand B, Browning KS, Robaglia C. **2002**. The Arabidopsis eukaryotic initiation factor (iso)4E is dispensable for plant growth but required for susceptibility to potyviruses. *The Plant Journal* **32**: 927–934.

Erickson AN, Markhart AH. **2001**. Flower Production, Fruit Set, and Physiology of Bell Pepper during Elevated Temperature and Vapor Pressure Deficit. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **126**: 697–702.

Erickson AN, Markhart AH. **2002**. Flower developmental stage and organ sensitivity of bell pepper (Capsicum annuum L.) to elevated temperature. *Plant, Cell & Environment* **25**: 123–130.

Fabre F, Montarry J, Coville J, Senoussi R, Simon V, Moury B. **2012a**. Modelling the Evolutionary Dynamics of Viruses within Their Hosts: A Case Study Using High-Throughput Sequencing (PD Nagy, Ed.). *PLoS Pathogens* **8**: e1002654.

Fabre F, Rousseau E, Mailleret L, Moury B. **2012b**. Durable strategies to deploy plant resistance in agricultural landscapes. *New Phytologist* **193**: 1064–1075.

Feng X-H, Zhang H-X, Ali M, Gai W-X, Cheng G-X, Yu Q-H, Yang S-B, Li X-X, Gong Z-H. **2019**. A small heat shock protein CaHsp25.9 positively regulates heat, salt, and drought stress tolerance in pepper (Capsicum annuum L.). *Plant Physiology and Biochemistry* **142**: 151–162.

Frank HA, Cogdell RJ. **1993**. The photochemistry and function of carotenoids in photosynthesis. In: Young AJ, Britton G, eds. Carotenoids in Photosynthesis. Dordrecht: Springer Netherlands, 252–326.

Fraser PD, Kiano JW, Truesdale MR, Schuch W, Bramley PM. **1999**. Phytoene synthase-2 enzyme activity in tomato does not contribute to carotenoid synthesis in ripening fruit. *Plant Molecular Biology* **40**: 687–698.

Fray RG, Wallace A, Fraser PD, Valero D, Hedden P, Bramley PM, Grierson D. **1995**. Constitutive expression of a fruit phytoene synthase gene in transgenic tomatoes causes dwarfism by redirecting metabolites from the gibberellin pathway. *The Plant Journal* **8**: 693–701.

Gebre Selassie K, Marchoux G, Delecolle B, Pochard E. **1985**. Variabilité naturelle des souches du virus Y de la pomme de terre dans les cultures de piment du sud-est de la France. Caractérisation et classification en pathotypes. *Agronomie* **5**: 621–630.

Ghai N, Kaur J, Jindal SK, Dhaliwal MS, Pahwa K. **2016**. Physiological and biochemical response to higher temperature stress in hot pepper (Capsicum annuum L.). *Journal of Applied and Natural Science* **8**: 1133–1137.

Gray SB, Brady SM. **2016**. Plant developmental responses to climate change. *Developmental Biology* **419**: 64–77.

Guo J-E, Hu Z, Li F, Zhang L, Yu X, Tang B, Chen G. **2017**. Silencing of histone deacetylase SlHDT3 delays fruit ripening and suppresses carotenoid accumulation in tomato. *Plant Science* **265**: 29–38.

Guo M, Liu J-H, Ma X, Zhai Y-F, Gong Z-H, Lu M-H. **2016**. Genome-wide analysis of the Hsp70 family genes in pepper (Capsicum annuum L.) and functional identification of CaHsp70-2 involvement in heat stress. *Plant Science* **252**: 246–256.

Guo M, Lu J-P, Zhai Y-F, Chai W-G, Gong Z-H, Lu M-H. **2015**. Genome-wide analysis, expression profile of heat shock factor gene family (CaHsfs) and characterisation of CaHsfA2 in pepper (Capsicum annuum L.). *BMC Plant Biology* **15**: 151.

Guo M, Zhai Y-F, Lu J-P, Chai L, Chai W-G, Gong Z-H, Lu M-H. **2014**. Characterization of CaHsp70-1, a Pepper Heat-Shock Protein Gene in Response to Heat Stress and Some Regulation Exogenous Substances in Capsicum annuum L. *International Journal of Molecular Sciences* **15**: 19741–19759.

Halikowski Smith S. **2015**. In the shadow of a pepper-centric historiography: Understanding the global diffusion of capsicums in the sixteenth and seventeenth centuries. *Journal of Ethnopharmacology* **167**: 64–77.

Halilu AD, Ado SG, Aba DA, Usman IS. **2016**. Genetics of carotenoids for provitamin A biofortification in tropical-adapted maize. *The Crop Journal* **4**: 313–322.

Haq S ul, Khan A, Ali M, Gai W-X, Zhang H-X, Yu Q-H, Yang S-B, Wei A-M, Gong Z-H. **2019**. Knockdown of CaHSP60-6 confers enhanced sensitivity to heat stress in pepper (Capsicum annuum L.). *Planta* **250**: 2127–2145.

Heijden G van der, Song Y, Horgan G, Polder G, Dieleman A, Bink M, Palloix A, Eeuwijk F van, Glasbey C. **2012**. SPICY: towards automated phenotyping of large pepper plants in the greenhouse. *Functional Plant Biology* **39**: 870–877.

Heiser CB, Pickersgill B. **1969**. Names for the Cultivated Capsicum Species (solanaceae). *TAXON* **18**: 277–283.

Heuvelink E, Marcelis LFM, Körner O. **2004**. HOW TO REDUCE YIELD FLUCTUATIONS IN SWEET PEPPER? *Acta Horticulturae*: 349–355.

Hill TA, Ashrafi H, Reyes-Chin-Wo S, Yao J, Stoffel K, Truco M-J, Kozik A, Michelmore RW, Deynze AV. **2013**. Characterization of Capsicum annuum Genetic Diversity and Population Structure Based on Parallel Polymorphism Discovery with a 30K Unigene Pepper GeneChip. *PLOS ONE* **8**: e56200.

Hornero-Méndez D, Gómez-Ladrón de Guevara R, Mínguez-Mosquera MI. **2000**. Carotenoid Biosynthesis Changes in Five Red Pepper (*Capsicum annuum* L.) Cultivars during Ripening. Cultivar Selection for Breeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**: 3857–3864.

Ibaba JD, Gubba A. **2011**. Diversity of potato virus Y isolates infecting solanaceous vegetables in the province of KwaZulu-Natal in the Republic of South Africa. *Crop Protection* **30**: 1404–1408.

ITK-LR-PoivronSA-2013.pdf.

Jiang C, Johkan M, Hohjo M, Tsukagoshi S, Ebihara M, Nakaminami A, Maruo T. **2017**. Photosynthesis, plant growth, and fruit production of single-truss tomato improves with supplemental lighting provided from underneath or within the inner canopy. *Scientia Horticulturae* **222**: 221–229.

Johnson I, Williamson G. **2003**. *Phytochemical Functional Foods*. CRC Press.

Jovicich E, Cantliffe DJ, Stoffella PJ. **2004**. Fruit Yield and Quality of Greenhouse-grown Bell Pepper as Influenced by Density, Container, and Trellis System. *HortTechnology* **14**: 507–513.

Kang B-C, Yeam I, Jahn MM. **2005**. Genetics of Plant Virus Resistance. *Annual Review of Phytopathology* **43**: 581–621.

Kaur A, Donis-Gonzalez IR, Clair DAS. **2020**. Evaluation of a hand-held spectrophotometer as an in-field phenotyping tool for tomato and pepper fruit quality. *The Plant Phenome Journal* **3**: e20008.

Khalil R, Hatem M. **2014**. Study on Combining Ability and Heterosis of Yield and Its Components in Pepper (Capsicum annum, L.). *undefined*.

Kim S, Park M, Yeom S-I, Kim Y-M, Lee JM, Lee H-A, Seo E, Choi J, Cheong K, Kim K-T, *et al.* 2014. Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in Capsicum species. *Nature Genetics* **46**: 270–278.

Li T, Xu X, Li Y, Wang H, Li Z, Li Z. **2015**. Comparative transcriptome analysis reveals differential transcription in heat-susceptible and heat-tolerant pepper (Capsicum annum L.) cultivars under heat stress. *Journal of Plant Biology* **58**: 411–424.

Lin S, Chou Y, Shieh H, Ebert AW, Kumar S, Mavlyanova R, Rouamba A, Tenkouano A, Afari-Sefa V, Gniffke PA. Pepper (Capsicum spp.) Germplasm Dissemination by AVRDC – The World Vegetable Center: an Overview and Introspection. : 7.

Loebenstein G, Lecoq H (Eds.). **2012**. *Viruses and virus diseases of vegetables in the mediterranean basin*. Amsterdam: Elsevier, Acad. Press.

López Castilla L del C, Garruña Hernández R, Castillo Aguilar C de la C, Martínez-Hernández A, Ortiz-García MM, Andueza-Noh RH. **2019**. Structure and Genetic Diversity of Nine Important Landraces of Capsicum Species Cultivated in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Agronomy* **9**: 376.

Luis-Arteaga M, Ponz F. **2003**. Potato Virus Y.

Ma C-S, Hau B, Poehling H-M. **2004**. Effects of pattern and timing of high temperature exposure on reproduction of the rose grain aphid, Metopolophium dirhodum. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **110**: 65–71.

Makarova S, Makhotenko A, Spechenkova N, Love AJ, Kalinina NO, Taliansky M. **2018**. Interactive Responses of Potato (Solanum tuberosum L.) Plants to Heat Stress and Infection With Potato Virus Y. *Frontiers in Microbiology* **9**: 2582.

Moodley V, Naidoo R, Gubba A. **2015**. Screening of pepper (Capsicum annuum L.) lines for resistance to an isolate of Potato virus Y (PVY) occurring in KwaZulu-Natal (KZN), Republic of South Africa. *Crop Protection* **68**: 36–40.

Nankar AN, Tringovska I, Grozeva S, Todorova V, Kostova D. **2020**. Application of high-throughput phenotyping tool Tomato Analyzer to characterize Balkan Capsicum fruit diversity. *Scientia Horticulturae* **260**: 108862.

Nievola CC, Carvalho CP, Carvalho V, Rodrigues E. **2017**. Rapid responses of plants to temperature changes. *Temperature* **4**: 371–405.

Pagamas P, Nawata E. **2008**. Sensitive stages of fruit and seed development of chili pepper (Capsicum annuum L. var. Shishito) exposed to high-temperature stress. *Scientia Horticulturae* **117**: 21–25.

Peppers: History and Exploitation of a Serendipitous New Crop Discovery.

Perry L, Dickau R, Zarrillo S, Holst I, Pearsall DM, Piperno DR, Berman MJ, Cooke RG, Rademaker K, Ranere AJ, *et al.* 2007. Starch Fossils and the Domestication and Dispersal of Chili Peppers (Capsicum spp. L.) in the Americas. *Science* **315**: 986–988.

Pickersgill B. **1971**. Relationships Between Weedy and Cultivated Forms in Some Species of Chili Peppers (Genus capsicum). *Evolution* **25**: 683–691.

PIERRE J, JG P, Y R. **1982**. CONTRIBUTION A LA MISE AU POINT D'UNE METHODE DE PLEIN CHAMP DESTINEE A MESURER LA SENSIBILITE DES VARIETES DE COLZA AU PHOMA. *CONTRIBUTION A LA MISE AU POINT D'UNE METHODE DE PLEIN CHAMP DESTINEE A MESURER LA SENSIBILITE DES VARIETES DE COLZA AU PHOMA*.

Pirone TP, Blanc S. **1996**. HELPER-DEPENDENT VECTOR TRANSMISSION OF PLANT VIRUSES. : 21.

Pruss G, Ge X, Shi XM, Carrington JC, Bowman Vance V. **1997**. Plant viral synergism: the potyviral genome encodes a broad-range pathogenicity enhancer that transactivates replication of heterologous viruses. *The Plant Cell* **9**: 859–868.

Quenouille J, Montarry J, Palloix A, Moury B. **2013a**. Farther, slower, stronger: how the plant genetic background protects a major resistance gene from breakdown: Mechanisms of polygenic resistance durability. *Molecular Plant Pathology* **14**: 109–118.

Quenouille J, Vassilakos N, Moury B. **2013b**. *Potato virus Y* : a major crop pathogen that has provided major insights into the evolution of viral pathogenicity: *Potato virus Y*. *Molecular Plant Pathology* **14**: 439–452.

Reynolds MP, Ewing EE, Owens TG. **1990**. Photosynthesis at High Temperature in Tuber-Bearing *Solanum* Species: A Comparison between Accessions of Contrasting Heat Tolerance. *Plant Physiology* **93**: 791–797.

Rousseau E, Bonneault M, Fabre F, Moury B, Mailleret L, Grognard F. **2019**. Virus epidemics, plant-controlled population bottlenecks and the durability of plant resistance. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **374**: 20180263.

Rubio M, Caranta C, Palloix A. **2008**. Functional markers for selection of potyvirus resistance alleles at the pvr2-eIF4E locus in pepper using tetra-primer ARMS-PCR. *Genome* **51**: 767–771.

Ruffel S, Dussault M-H, Palloix A, Moury B, Bendahmane A, Robaglia C, Caranta C. **2002**. A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E): *A natural recessive resistance gene corresponding to the eukaryotic initiation factor 4E*. *The Plant Journal* **32**: 1067–1075.

Ruffel S, Gallois J-L, Moury B, Robaglia C, Palloix A, Caranta C. **2006**. Simultaneous mutations in translation initiation factors eIF4E and eIF(iso)4E are required to prevent pepper veinal mottle virus infection of pepper. *Journal of General Virology* **87**: 2089–2098.

Sage RF, Way DA, Kubien DS. **2008**. Rubisco, Rubisco activase, and global climate change. *Journal of Experimental Botany* **59**: 1581–1595.

Saha S, Hossain M, Rahman M, Kuo C, Abdullah S. **1970**. Effect of high temperature stress on the performance of twelve sweet pepper genotypes. *Bangladesh Journal of Agricultural Research* **35**: 525–534.

Sánchez del Castillo F, Moreno-Pérez EC, Reséndiz-Melgar RC, Colinas-León MT, Rodríguez Pérez JE, Sánchez del Castillo F, Moreno-Pérez EC, Reséndiz-Melgar RC, Colinas-León MT, Rodríguez Pérez JE. **2017**. Producción de pimiento morrón (Capsicum annuum L.) en ciclos cortos. *Agrociencia* **51**: 437–446.

Selleck GW, Opena RT. **1985**. National programmes: the need for increased emphasis on the development of vegetables and legumes. *National agricultural programs and future needs.*: 54–66.

Shrestha SL, Luitel BP, Kang WH. **2011**. Heterosis and heterobeltiosis studies in sweet pepper (Capsicum annuum L.). *Horticulture, Environment, and Biotechnology* **52**: 278–283.

Singh RP, Valkonen JPT, Gray SM, Boonham N, Jones RAC, Kerlan C, Schubert J. Discussion paper: The naming of Potato virus Y strains infecting potato. : 13.

Summary for Policymakers — Global Warming of 1.5 °C.

Tamisier L, Szadkowski M, Nemouchi G, Lefebvre V, Szadkowski E, Duboscq R, Santoni S, Sarah G, Sauvage C, Palloix A, *et al.* 2020. Genome-wide association mapping of QTLs implied in potato virus Y population sizes in pepper: evidence for widespread resistance QTL pyramiding. *Molecular Plant Pathology* **21**: 3–16.

Tavert-Roudet G, Abdul-Razzak A, Doublet B, Walter J, Delaunay T, German-Retana S, Michon T, Le Gall O, Candresse T. **2012**. The C terminus of lettuce mosaic potyvirus cylindrical inclusion helicase interacts with the viral VPg and with lettuce translation eukaryotic initiation factor 4E. *Journal of General Virology* **93**: 184–193.

Usman MG, Rafii MY, Ismail MR, Malek MA, Abdul Latif M. **2014**. Heritability and Genetic Advance among Chili Pepper Genotypes for Heat Tolerance and Morphophysiological Characteristics. *The Scientific World Journal* **2014**: 1–14.

Valkonen JPT. **1997**. Novel resistances to four potyviruses in tuber-bearing potato species, and temperature-sensitive expression of hypersensitive resistance to potato virus Y. *Annals of Applied Biology* **130**: 91–104.

Wang Z, Xu W, Kang J, Li M, Huang J, Ke Q, Kim HS, Xu B, Kwak S-S. **2018**. Overexpression of alfalfa Orange gene in tobacco enhances carotenoid accumulation and tolerance to multiple abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* **130**: 613–622.

9. Annexes

Temps en heure	Nombre d'accessions	Evaluation visuelle des symptomes d'infection sur plantes adultes	Hauteur et nombre de fruits par plante	Date maturité	Rendement	Couleur, forme, diametre, nombre de lobes	Analyse sensorielle	Taux de Photosynthese	Teneur en caroténoides	SAM	Test Elisa	Evaluation visuelle sur cotylédons
Année -1 cycle 1	253	50,6	8 minutes	30 minutes/jour du jours 65 au 85 apres repiquage	15,2	25,3	21,1	168,7	38,0	x	x	x
Année -1 cycle 2	225	15	8 minutes	30 minutes/jour du jours 65 au 85 apres repiquage	13,5	22,5	18,8	150,0	33,8	x	x	x
Année 0					0,0	0,0	0,0	0,0	0,0			
Année 1	317	21,13	8 minutes	30 minutes/jour du jours 65 au 85 apres repiquage	19,0	31,7	26,4	211,3	47,6	7,43	9,51	3h
Année 2	107,02	7,13	8 minutes	30 minutes/jour du jours 65 au 85 apres repiquage	6,4	10,7	8,9	71,3	16,1	x	x	x
Année 3	107	7,13	8 minutes	30 minutes/jour du jours 65 au 85 apres repiquage	6,4	10,7	8,9	71,3	16,1	2,51	3,21	3h
Année 4	36,25	2,42	8 minutes	30 minutes/jour du jours 65 au 85 apres repiquage	2,2	3,6	3,0	24,2	5,4	x	x	x
Année 5	232,7	15,51	8 minutes	30 minutes/jour du jours 65 au 85 apres repiquage	14,0	23,3	19,4	155,1	34,9	x	x	x
Année 6	117,9	7,86	8 minutes	30 minutes/jour du jours 65 au 85 apres repiquage	7,1	11,8	9,8	78,6	17,7	x	x	x
Année 7	26	1,73	8 minutes	30 minutes/jour du jours 65 au 85 apres repiquage	1,6	2,6	2,2	17,3	3,9	x	x	x
Année 8	7,6	0,51	8 minutes	30 minutes/jour du jours 65 au 85 apres repiquage	0,5	0,8	0,6	5,1	1,1	x	x	x

1 technicien.nne | 2 techniciens.nnes | 3 techniciens.nnes | 5 techniciens.nnes | 5 dégustateurs.trices

		Nombre d'échantillon par génotype et par répétition	Temps
Résistance PVY	Test Elisa	3	300 echantillons en 3h
	Détection gènes majeurs PCR	3	384 echantillons en 3h
	Evaluation visuelle des foyers d'infection primaires sur cotylédons	3	3h pour la prise de photos en robot de tous les echantillons
	Evaluation visuelle des symptomes d'infection primaires sur plantes adultes	2 feuilles et 2 fruits par echantillon, 3 echantillons	4 minutes par echantillon
Haute températures	Taux de Photosynthese	2 feuilles par echantillon, 2 echantillons	20 minutes par echantillon
	Teneur en caroténoides	2 feuilles et 2 fruits par echantillon, 3 echantillons	3 minutes par echantillon
Caracteres agronomiques	Hauteur		8 minutes vol du dron
	Nombre de fruits par plant		8 minutes vol du dron
	Date maturité	3	1h00 journaliere pour tous les echantillons
	Rendement	3	50 echantillons en 1h
	Couleur, forme, diametre, nombre de lobes	3	2 minutes pour preparation et prise de photos par echantillon
	Analyse sensorielle	1	5 minutes par echantillon

Annexe 1: Tableaux des temps de phénotypage estimé (en heures sauf mention contraire)

		P1		P2		Témoins	Plantes Totales	Surfaces (m²)
Année	Effectif semé	Lignées	Plantes/lignées	Lignées	Plantes/lignées			
-1 cycle 1	Effectifs initiaux P2: Mesure valeur propre + prédiction AGC			250	10			
				2500		30	2530	1265
-1 cycle 2	Effectifs des plantes P2 utilisés en croisement pour obtenir les F1 "initiaux"			225	5			
				1125			1125	562,5
0	Effectifs initiaux F1 mesure valeur propre	125	10	186,75	10			
		1250		1867,5		60	3177,5	1588,8
	Effectifs conservés après 1ère sélection sur valeur propre	112,5	10	168,075	10			
		1125		1680,75			2992,5	1496,3
1	Nombre de HD réalisées	337,5		504,225			841,7	420,9
	Nombre de lignées HD conservées (peu vigoureuses)	50,6		50,4225			101,0	50,5
2	Effectifs après AF de la 1ère génération de lignées HD : réalisation d'un croisement avec testeur sur ces individus	50,6	20	50,4225	20			
		1012,5		1008,45		120	2141,0	1070,5
3	Effectifs des individus F1 issus du croisement lignés x Testeurs	50,625	30	50,4225	30			
		1518,75		1512,675		120	3151,4	1575,7
4	Effectifs des lignés conservées après 1ère sélection sur testeur : croisement factoriel sur ces lignées	15,1875	30	15,12675	30			
		455,625		453,8025			909,4	454,7
		HYBRIDE F1				Témoins	Plantes Totales	Surfaces (m²)
	Effectif semé	nb type d'hybride F1		Répétition				
5	Effectifs F1 issus du croisements factoriel	229,7		30				
		6892,1				90	6982,1	3446,1
	Effectifs après sélection sur F1 du croisement factoriel	114,9		30				
		3446,1					3446,1	1723,0
6	Effectifs totaux pour les tests aux 3 lieux (année 1) *	114,9		90				
		10338,2				270	10608,2	5304,1
7	Effectifs totaux pour les tests aux 3 lieux (année 2) *	23,0		90				
		2067,6				270	2337,6	1168,8
8	Effectifs totaux pour les tests aux 3 lieux (année 3) *	4,6		90				
		413,5				270	683,5	341,8

Paramètres	
Surface : plantes/m²:	0,5
1ère sélection avec prédiction AGC : pression de sélection (%rejeté)	0,1
Redondance des parents utilisés	0,17
Sélection sur valeurs propre : pression de sélection (%rejeté)	0,1
Nombre d'HD par lignée	3
HD P1 : taux de succès (réussite + pas de CMS + pvr2² et pvr4)	0,15
HD P2: taux de succès (réussite + pvr2² (et si possible pvr4)	0,1
Test de descendance : pression de sélection (%rejeté)	0,7
Pression de sélection sur croisement factoriel (%rejeté)	0,5
Pression de sélection après test multi-lieux année 1 (%rejeté)	0,8
Pression de sélection après test multi-lieux année 2 (%rejeté)	0,8
* : Divisé en 3 lieux: 30 répétitions par lieux	
Effectifs conservés parmi les individus semés cette année là	

Annexe 2: Tableau des effectifs du schéma de sélection