



HAL
open science

Résistance aux virus du court-noué par ARN interférence

Samia Djennane, Sophie Gersch, Valérie Goldschmidt, Corinne Keichinger,
Jean J. Masson, Mireille M. Perrin, Laura Hartmann, Veronique Komar,
Claude Gertz, Emmanuelle Vigne, et al.

► **To cite this version:**

Samia Djennane, Sophie Gersch, Valérie Goldschmidt, Corinne Keichinger, Jean J. Masson, et al..
Résistance aux virus du court-noué par ARN interférence. 1ère Rencontre du Nouveau Réseau Vigne
et Vins Septentrional, Jul 2013, Colmar, France. 2013. hal-02808949

HAL Id: hal-02808949

<https://hal.inrae.fr/hal-02808949v1>

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Samia DJENNANE^{1,*}, Sophie GERSCH¹, Valérie GOLDSCHMIDT¹, Corinne KEICHINGER², Jean MASSON¹, Mireille PERRIN¹, Laura HARTMANN¹, Véronique KOMAR¹, Claude GERTZ¹, Emmanuelle VIGNE¹, Aurélie MARMONIER¹, Gérard DEMANGEAT¹ ET Olivier LEMAIRE¹

¹ INRA-Université de Strasbourg, UMR 1131, Santé de la Vigne et Qualité du Vin, 68021 Colmar cedex, France

² IBMP-CNRS-Université de Strasbourg, F-67084 Strasbourg Cedex

* samia.djennane@colmar.inra.fr



Symptômes du court-noué sur *Vitis vinifera* cv. Sylvaner

Virus du court-noué

Le *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) et l'*Arabis mosaic virus* (ArMV) sont deux *Nepovirus* transmis par des nématodes ectoparasites du genre *Xiphinema* (Fig. 1). Ces deux virus sont les principaux agents responsables de la maladie du court-noué, virose majeure de la vigne présente dans la quasi-totalité des vignobles du monde avec des prévalences variables.

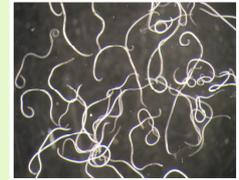
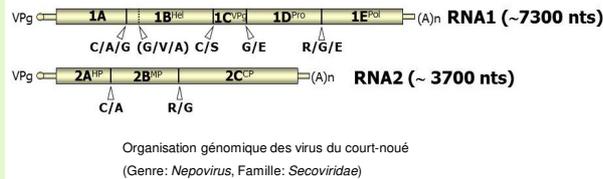


Fig. 1. *Xiphinema index*, vecteur naturel du GFLV

Développement d'une stratégie de contrôle du court-noué sur une herbacée modèle

Aucune résistance naturelle chez la vigne vis-à-vis des virus du court-noué n'a été identifiée jusqu'à présent [1]. De ce fait, la voie biotechnologique exploitant l'ARN interférence (ARNi) dans la lutte antivirale est une alternative intéressante [2] que nous avons développée dans le cadre de ce projet.

Une construction tige-boucle ciblant les 2 virus, GFLV et ArMV a été produite (Fig. 2). Cette construction moléculaire a été introduite dans *Nicotiana benthamiana* via *Agrobacterium tumefaciens*. 12 lignées transgéniques indépendantes (T0) ont été obtenues.



Fig. 2. Construction tige-boucle ciblant le GFLV et l'ArMV

Les 12 lignées ont été montées à graines et la génération T1 analysée vis-à-vis de la résistance aux virus du court-noué. 5 lignées transgéniques sur 12 montrent des niveaux de résistance significatifs (Fig. 3).

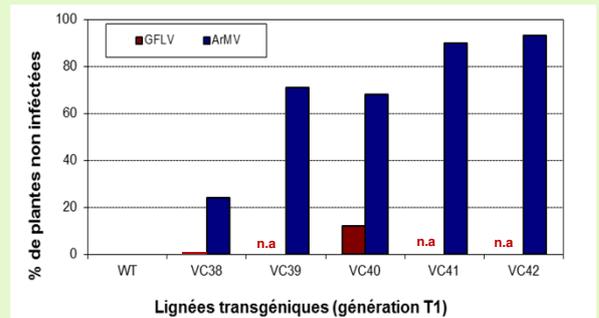


Fig. 3. Pourcentage de plantes non-infectées par les virus 14 jours après inoculation (chaque valeur représente la moyenne de 30 à 50 plantes; WT: témoin non transgénique; n.a.: non analysé)

L'expression des siRNA a été révélée par Northern blot sur les plantes transgéniques (Fig. 4).

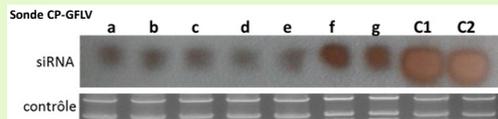


Fig. 4. Détection des siRNA par Northern blot sur plantes de *N. benthamiana* (a-g: plantes transgéniques, C1 et C2: plantes non transgéniques agro-infiltrées)

Transformation stable de porte-greffes de vigne

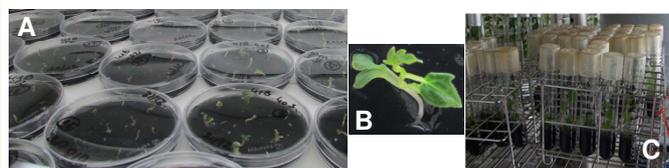


Fig. 5. Régénération *in vitro* de porte-greffes transgéniques de vigne (A: embryons en cours de régénération; B: plantule régénérée; C: plantes en micropropagation; D: RT-PCR sur gène *nptII*; M: ladder, 9 transformants indépendants de vigne; -: contrôle négatif, +: contrôle positif).

Compte tenu des résultats prometteurs obtenus avec la plante modèle *N. benthamiana*, la transformation stable de porte-greffes de vigne a été entreprise. Deux génotypes ont été utilisés: le génotype 41B et un génotype expérimental apparenté au génotype *Nemadex-AB* résistant au nématode vecteur du virus.

Plusieurs vignes transgéniques ont été régénérées (Fig. 5 A et B) et multipliées *in vitro* (Fig. 5 C). Le statut transgénique de ces vignes a été confirmé par l'expression du gène *nptII* révélée par RT-PCR (Fig. 5 D).

Conclusion et Perspectives

Dans la plante modèle *Nicotiana benthamiana* la construction tige-boucle ciblant les virus du court-noué permet de contrôler la multiplication des virus de manière intéressante. Une caractérisation génétique plus fine de ces plantes transgéniques est actuellement en cours. De même, l'analyse de la résistance à différentes souches virales est également envisagée sur ce matériel.

La caractérisation moléculaire et le phénotypage pour la résistance au court-noué des porte-greffes transgéniques de vigne débutera en confinement dans les prochains mois. La robustesse, la durabilité ainsi que les impacts environnementaux des éventuelles résistances antivirales, seront étudiés à terme.

Références

- [1] Lahogue F., Boulard G., 1996. *Vitis*, 35 : 43-48.
- [2] Laimer M., Lemaire O., Herrbach E., Goldschmidt V., Minafra A., Bianco P., Wetzel T., 2009. *Journal of Plant Pathology*, 91 : 7-23.