



Fonds européen de développement
régional (FEDER)
Europäischer Fonds für regionale
Entwicklung (EFRE)



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

VITIFUTUR - Transnationale Plattform für angewandte Forschung und
Weiterbildung im Weinbau

Importance et incidence des maladies virales de la vigne

CHRISTOPHE RITZENTALER (CNRS Strasbourg)
CHRISTOPHE DEBONNEVILLE (Bioreba AG Reinach)
PATRICIA BOHNERT (WBI Freiburg)
GÉRARD DEMANGEAT (INRA Colmar)

Christophe Ritzenthaler: Introduction générale du programme de travail #3:
Maladies virales de la vigne

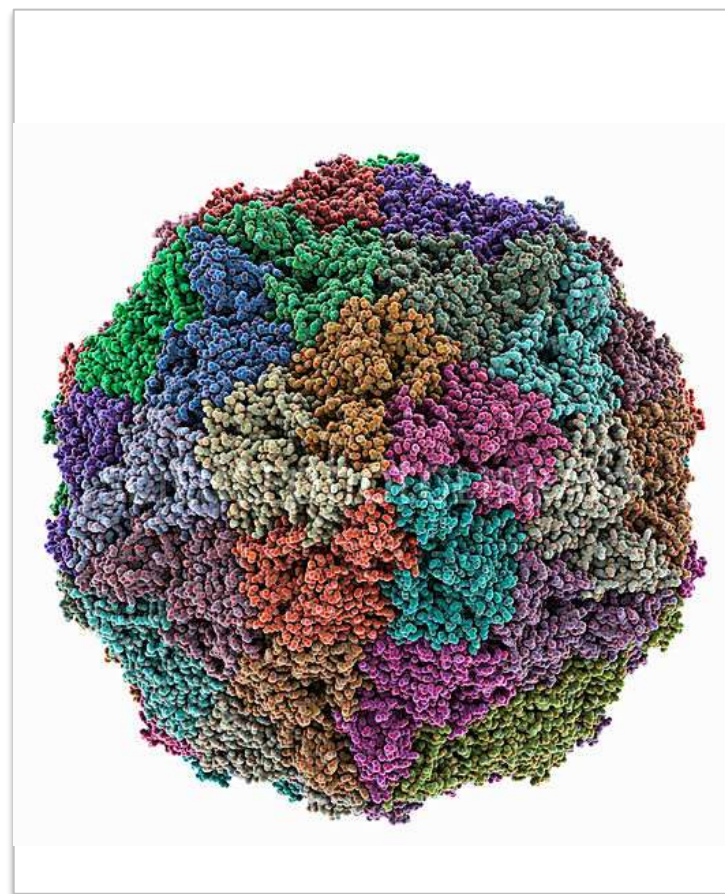
Christophe Debonneville: méthodes sérologiques de détection des
virus et avantages des Nanobodies
Exemples sur l'ArMV, RpRSV, GPGV, Enroulement

Patricia Bohnert: état sanitaire du vignoble du Rhin supérieur
GFLV, ArMV, GPGV, GLRaV1

Gérard Demangeat: méthodes d'évaluation de la résistance et perspectives



La vigne: Vitis vinifera



Virus du court-noué de la vigne
(GFLV)

De la vigne sauvage...
Vitis vinifera subsp. *Sylvestris*



-500 000 -120 000
Paléolithique inférieur

..à la vigne cultivée
V. vinifera subsp. *Sativa*



-8 000
Neolithic Age

..naissance du vin



-5 400

..aujourd'hui



2019



De la vigne sauvage...
Vitis vinifera subsp. *Sylvestris*



-500 000 -120 000
Paléolithique inférieur

..à la vigne cultivée
V. vinifera subsp. *Sativa*



-8 000
Neolithic Age

..naissance du vin



-5 400

..aujourd'hui



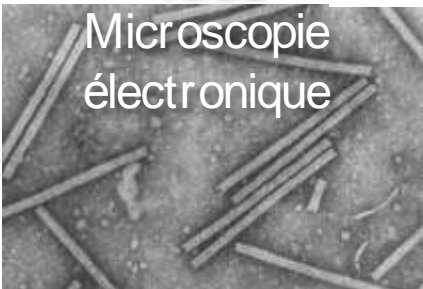
2019

La virologie, une discipline récente

1898



1939

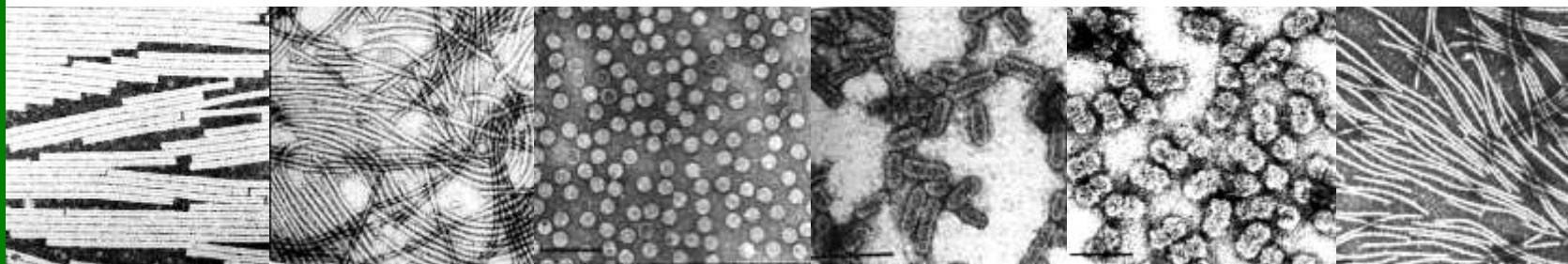


NATURE

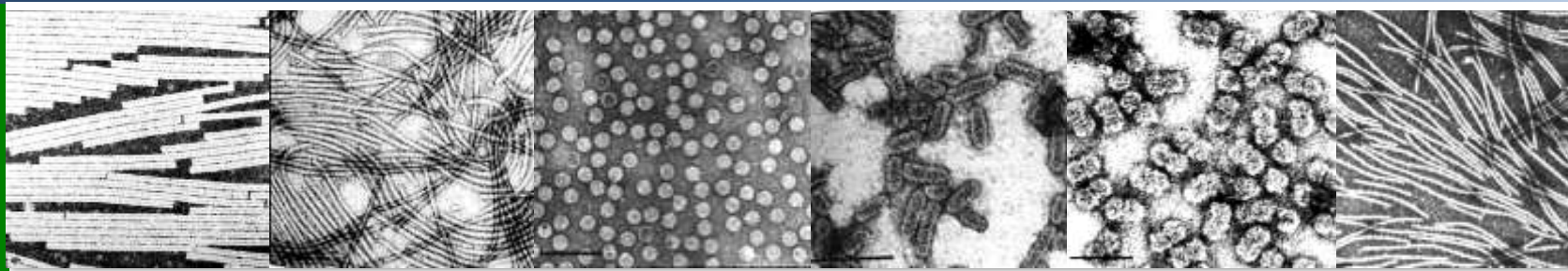
August 13, 1960

Vol. 187





- ❖ **2019:** Vigne est un **réservoir à virus**
 - ❖ **> 80 virus identifiés** appartenant à 30 genres différents et 15 familles
 - = plante cultivée qui possède la plus grande diversité virale
 - ❖ **Pas de résistance** aux virus connue, mais...Riesling?
 - ❖ **Infections multiples fréquentes**
 - ❖ **40^{aine}** d'importance économique: **Différentes maladies**



Court-noué Reisigkrankheit

Enroulement Blattrollkrankheit

Pinot-gris virus Grauburgunder Virus

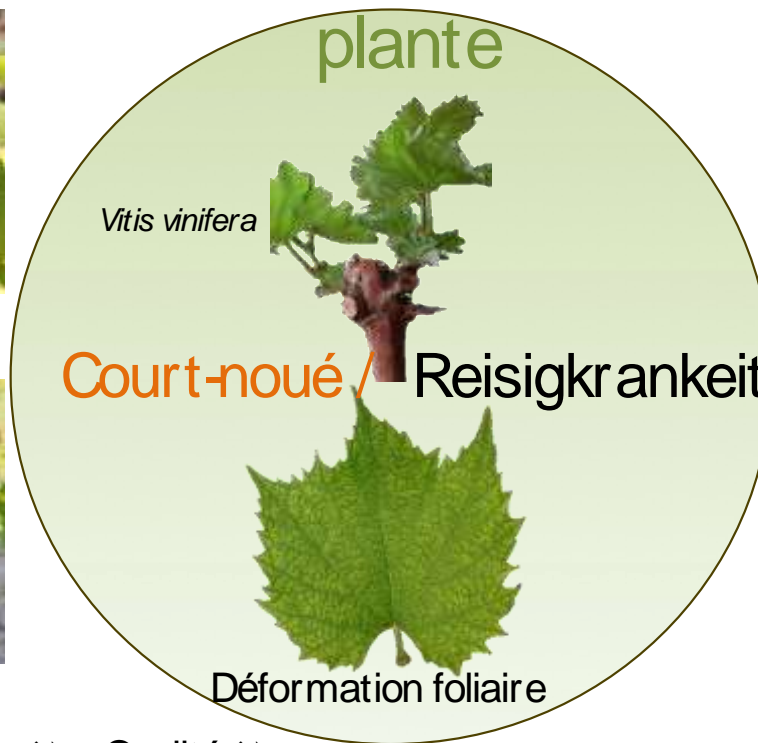




jaunissement



marbrure



Nanisme/ dépérissement

Entre-nœuds courts

Rendements ↘ Qualité ↘



sain



infecté



sain

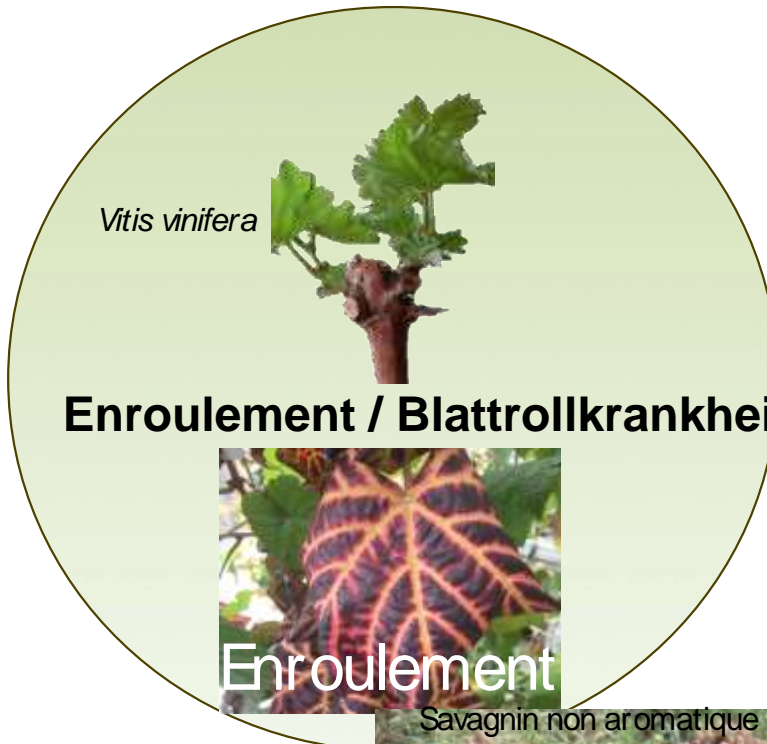


infecté





Enroulement foliaire



Enroulement / Blattrollkrankheit

Enroulement



infecté



sain



infecté



Savagnin non aromatique

sain

sain

GLRaV-1

Retard à la maturation

Sucres ↘

Pigmentation des baies ↘

Rendement ↘ (60 %)



Rendements ↘

Qualité des raisins ↘

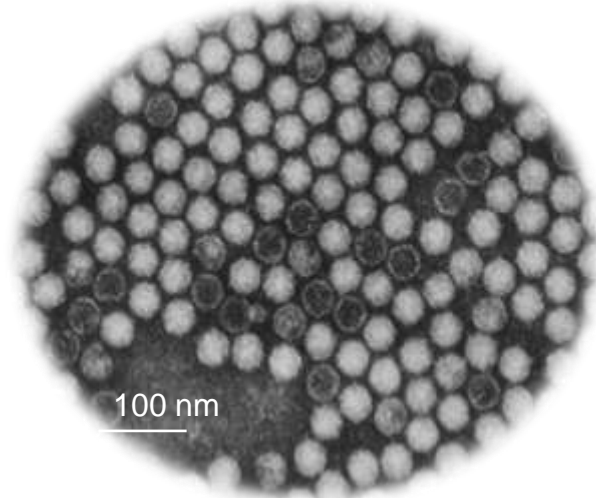
Court-noué Reisigkrankheit



Nepovirus

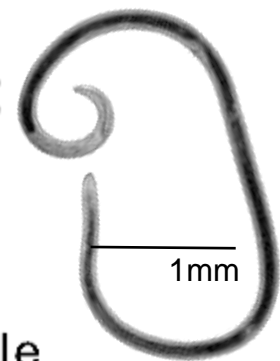
- Grapevine fanleaf virus (GFLV)**
- Arabis mosaic virus (ArMV)**
- Tomato blackring virus (TBRV)
- Grapevine chrome mosaic virus (GCMV)
- Strawberry latent ringspot virus (SLRV)
- Raspberry ringspot virus (RpRSV)
- Tomato ringspot virus (ToRSV)
- Tobacco ringspot virus (TRSV)
- Blueberry leaf mottle virus (BBLMV)
- Grapevine Bulgarian latent virus (GBLV)
- Artichoke Italian latent virus (AILV)
- Grapevine tunisian ringspot virus (GTRV)
- Peach rosette mosaic virus (PRMV)
- Cherry leaf roll virus (CLRV)
- Grapevine tunisian ringspot virus (GTRV)
- Grapevine anatolian ringspot virus (GARSV)

Particules sphériques



Transmission: Nématodes

Xiphinema spp
3-4 mm
Répartition mondiale



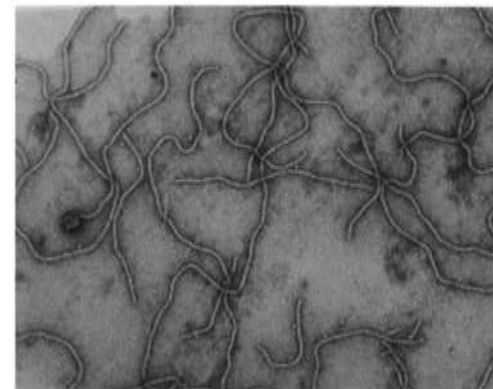
Enroulement Blattrollkrankheit



Ampelovirus

- Grapevine leafroll associated virus 1 (GLRaV-1)
- Grapevine leafroll associated virus 3 (GLRaV-3)
- Grapevine leafroll associated virus 4 (GLRaV-4)
 - GLRaV-4 strain 5
 - GLRaV-4 strain 6
 - GLRaV-4 strain 9
 - GLRaV-4 strain Car

Virus flexueux



Transmission: Cochenilles

(7500 espèces)

Taille < 5 mm

Répartition mondiale



Pinot-gris virus Grauburgunder Virus



Trichovirus Grapevine Pinot gris virus (GPGV)

Virus flexueux

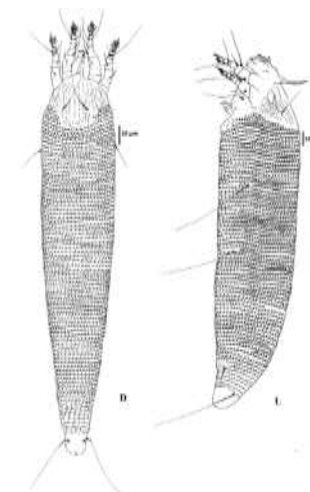


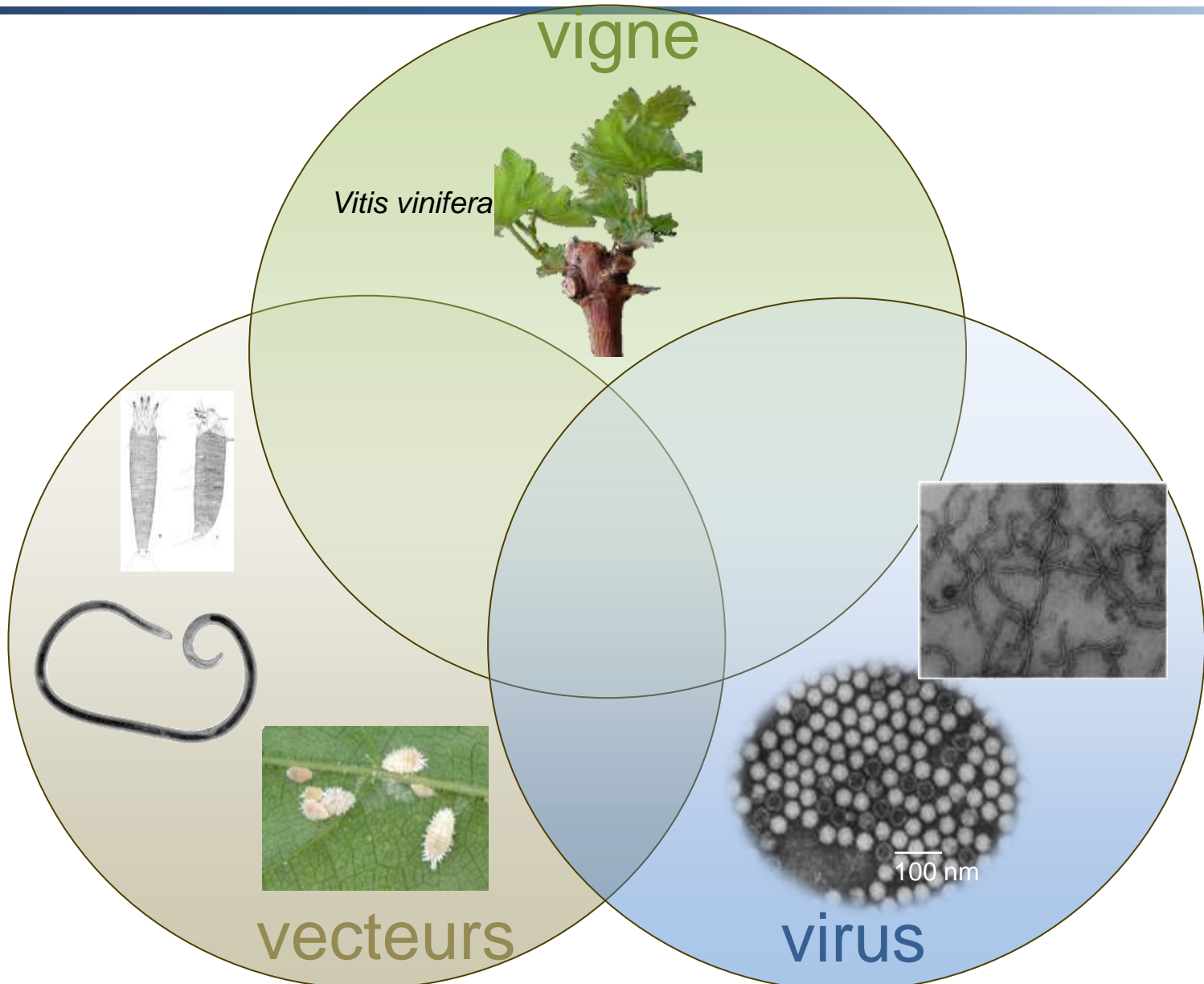
Transmission: Acarions

Colomerus vitis

Taille 0,1 mm

Répartition mondiale





Court-noué/ Reisingkrankheit

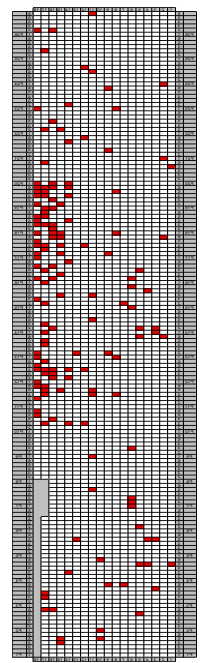


Cramant, Champagne, France

C. Ritzenthaler ©

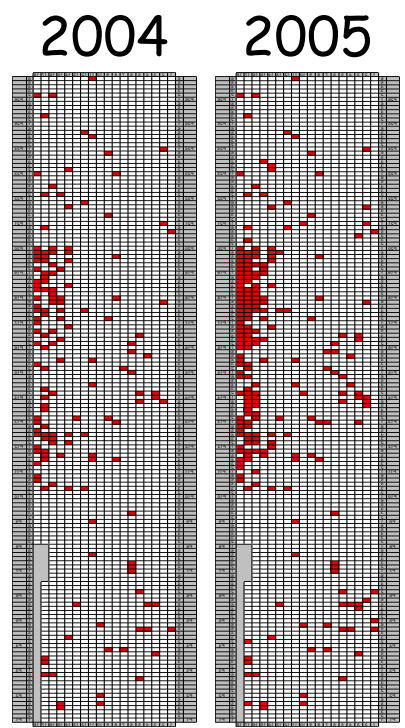
Enroulement / Blattrollkrankheit

2004



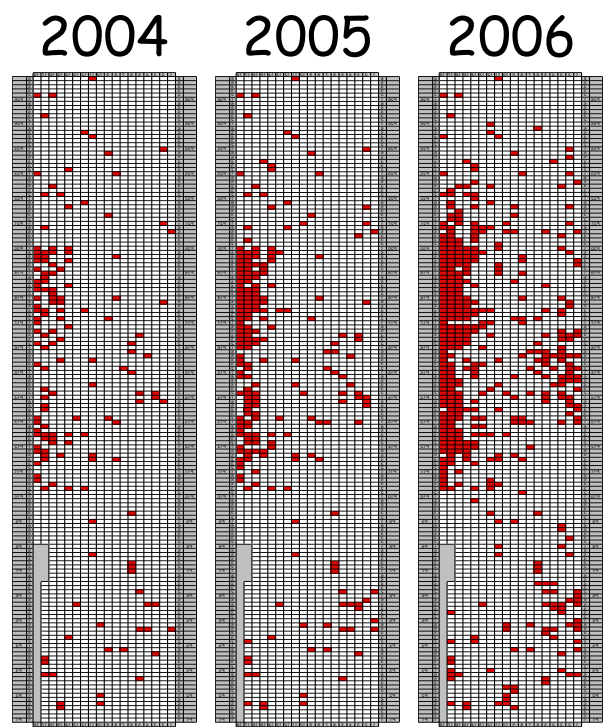
Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit



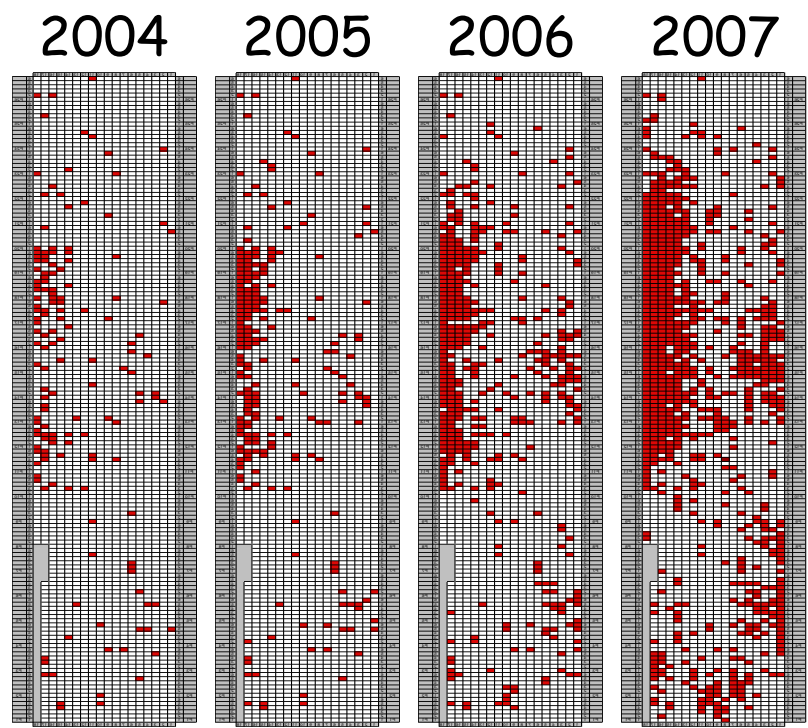
Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit



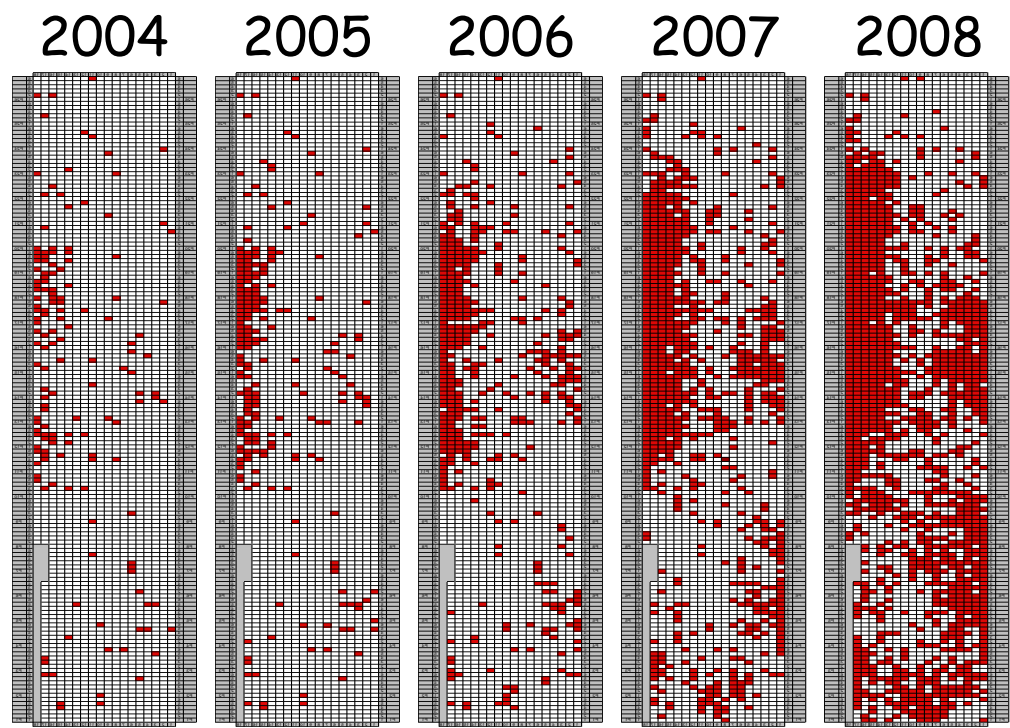
Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit



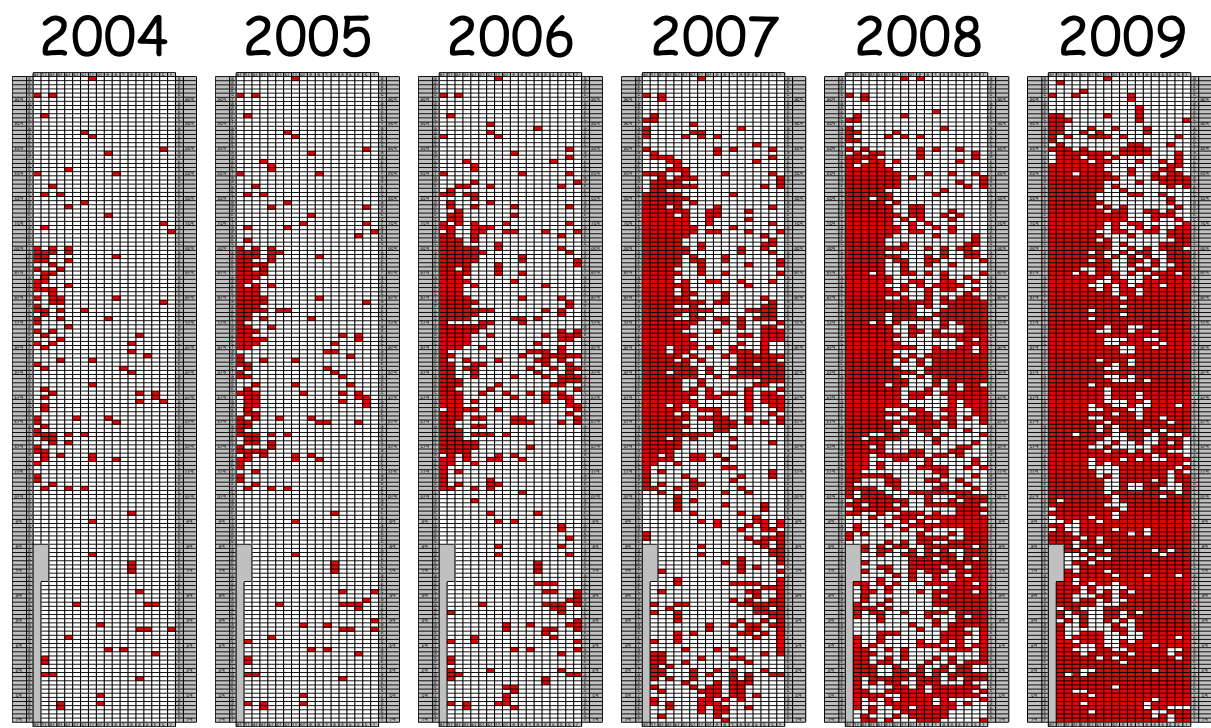
Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit



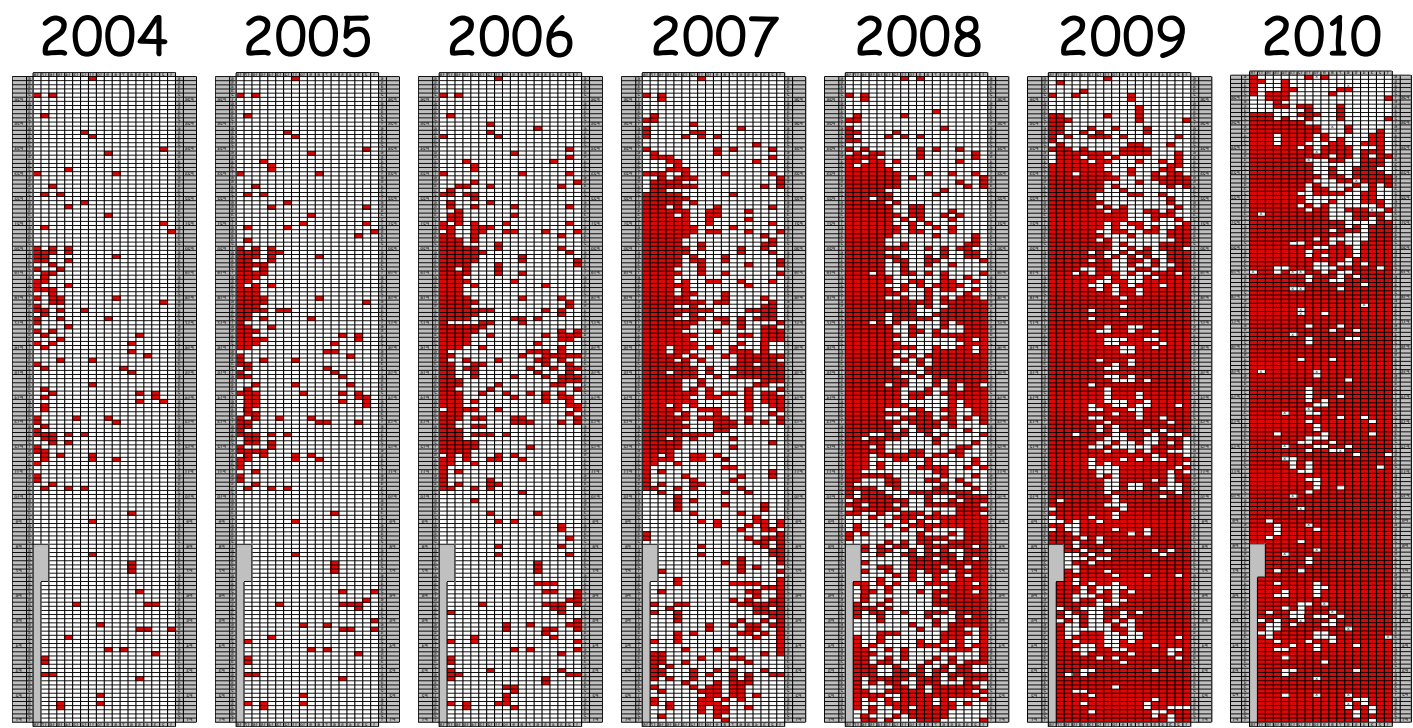
Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit



Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit

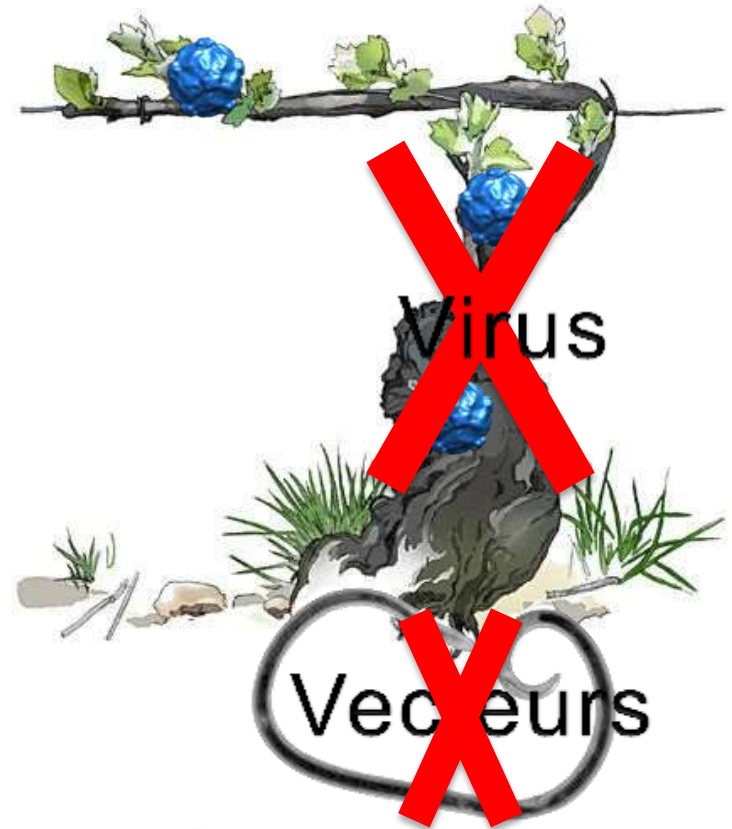


Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

agir en préventif !



➔ Matériel sain (certifié)



➔ Détection des virus = **diagnostic**

- STÄATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
- UNI FREIBURG
- KIT
Karlsruher Institut für Technologie
- Rheinland-Pfalz
DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
- Agro science
- JKI
Julius Kühn-Institut
Federal Research Center for Cultivated Plants
- UNIVERSITÄT KOBLENZ · LANDAU
- CNRS
- UNIVERSITÉ HAUTE-ALSACE
- INRA
SCIENCE & IMPACT
- SNI
SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE

Symptômes



Indexage



Sérologique



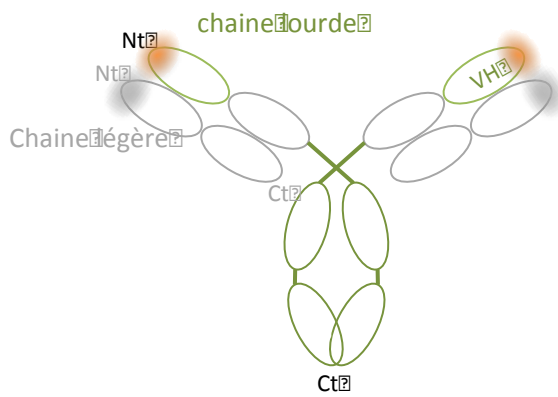
Moléculaire



- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
-
- Karlsruher Institut für Technologie
- DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
-
- Julius Kühn-Institut Federal Research Centre for Cultivated Plants
-
-
-
- SCIENCE & IMPACT
- SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



Sérologique



anticorps conventionnels



ELISA

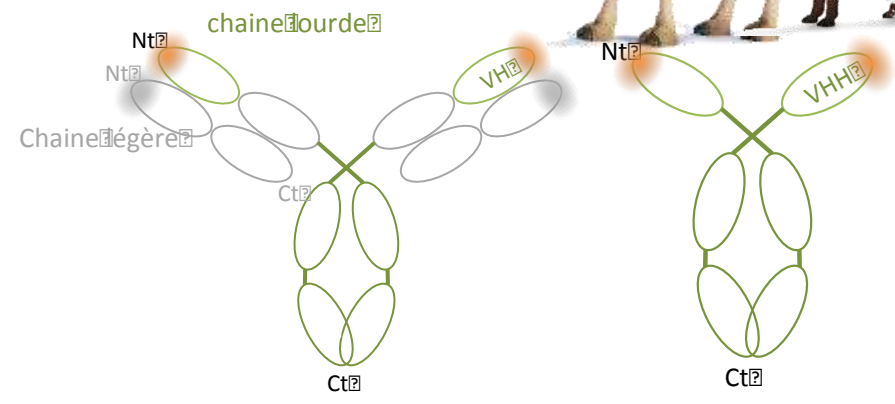
- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
-
- Karlsruher Institut für Technologie
- DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
-
- Julius Kühn-Institut Federal Research Institute for Cultivated Plants
-
-
-
- SCIENCE & IMPACT
- SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



Sérologique



ELISA



anticorps conventionnels

anticorps de camélidés

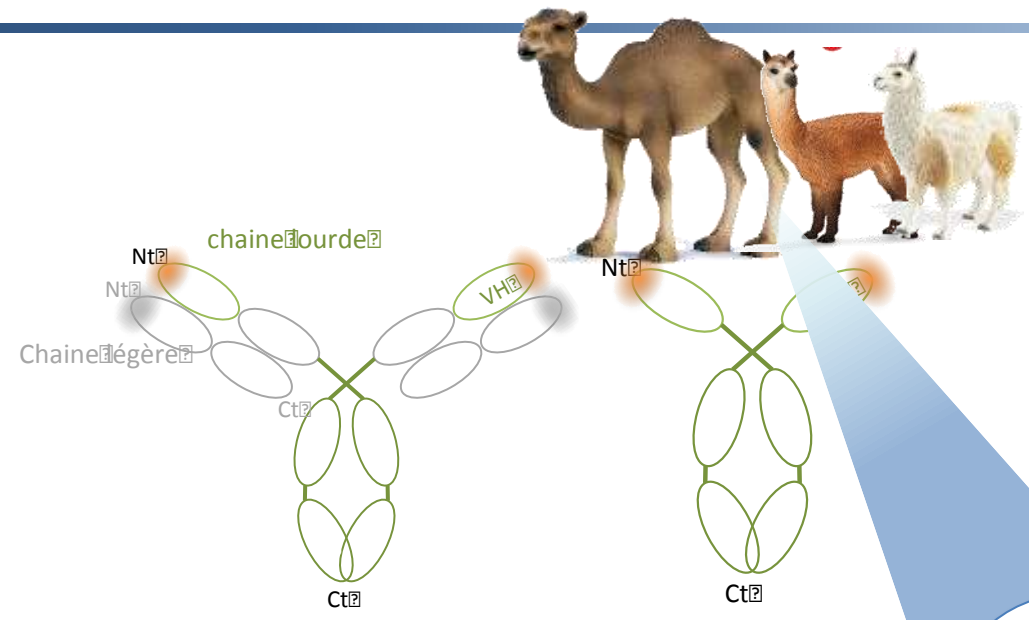
- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
-
- Karlsruher Institut für Technologie
- DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
-
- Julius Kühn-Institut Federal Research Centre for Cultivated Plants
-
-
-
- SCIENCE & IMPACT
- SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



Sérologique



ELISA



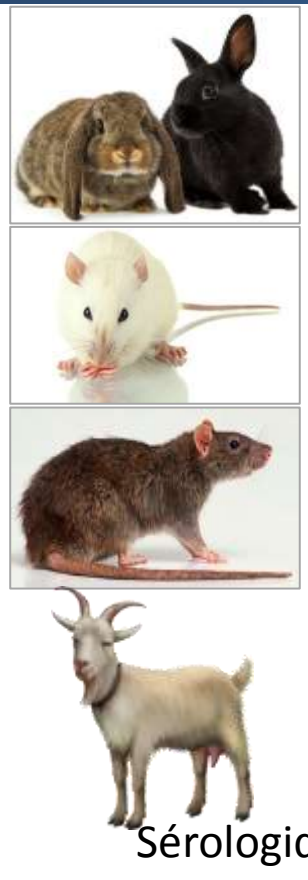
anticorps conventionnels

anticorps de camélidés



Nanobody®

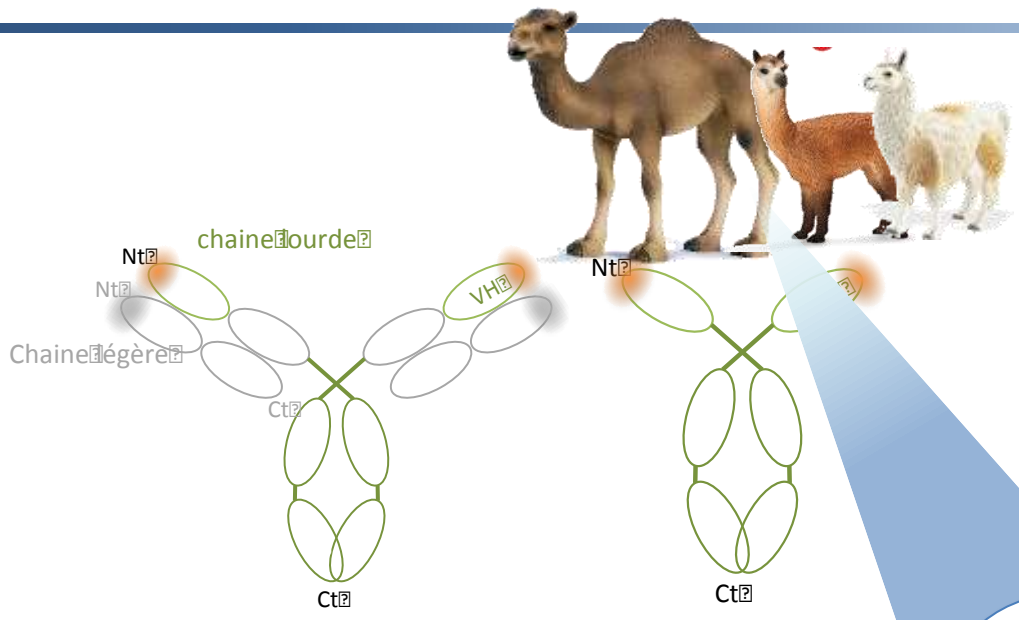
- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
-
- Karlsruher Institut für Technologie
- DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
-
- Johann Keulemans Institut
-
-
-
- SCIENCE & IMPACT
- SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



Sérologique

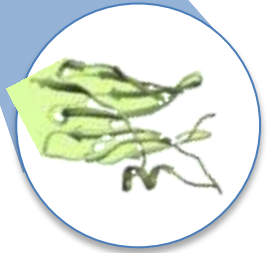


ELISA



anticorps conventionnels

anticorps de camélidés



Nanobody®



Dr. Christophe Debonneville

Développement d'un DAS ELISA pour la détection du Grapevine Pinot gris virus (GPGV)

Dr. Christophe Debonneville



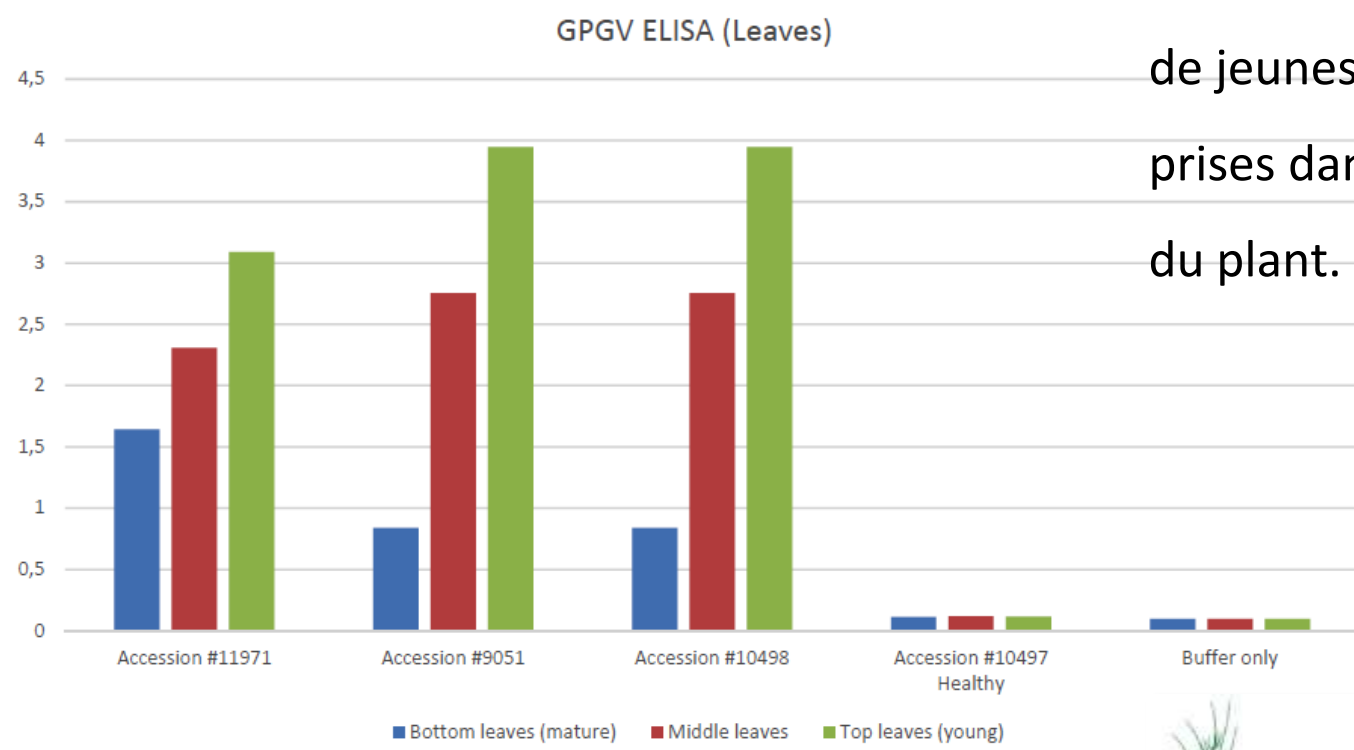
- GPGV est un Trichovirus family Betaflexiviridae) découvert en 2012 (Giampetruzzi et al, 2012).
- Effets sur la vigne encore peu clairs; le lien entre l'infection virale et l'apparition des symptômes est encore mal caractérisé.
- Infection confirmée sur au moins 28 variétés de vigne.
- Présent dans de nombreux pays en Europe et en Asie ainsi qu'en Australie, au Canada et aux USA.

Production d'anticorps: GPGV

- Une protéine de capside recombinante a été produite dans des bactéries E. coli puis purifiée.
- Cette protéine a été utilisée pour produire des anticorps polyclonaux.
- Un test DAS-ELISA a été développé avec ces anticorps.

Détection de GPGV dans les feuilles

Meilleur signal avec de jeunes feuilles prises dans le haut du plant.

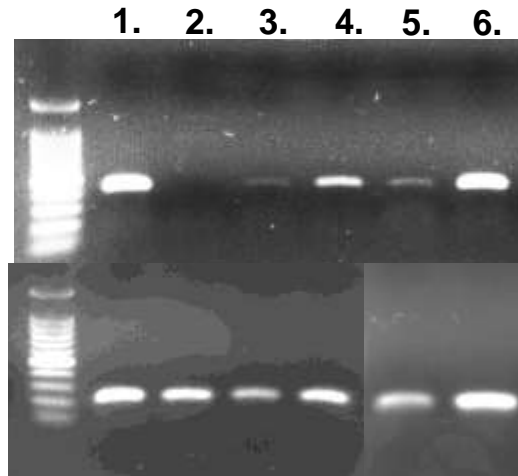


Jean-Sébastien Reynard, Agroscope, Suisse



Détection de GPGV: “Test Performance Study” sur du bois

RT-PCR:



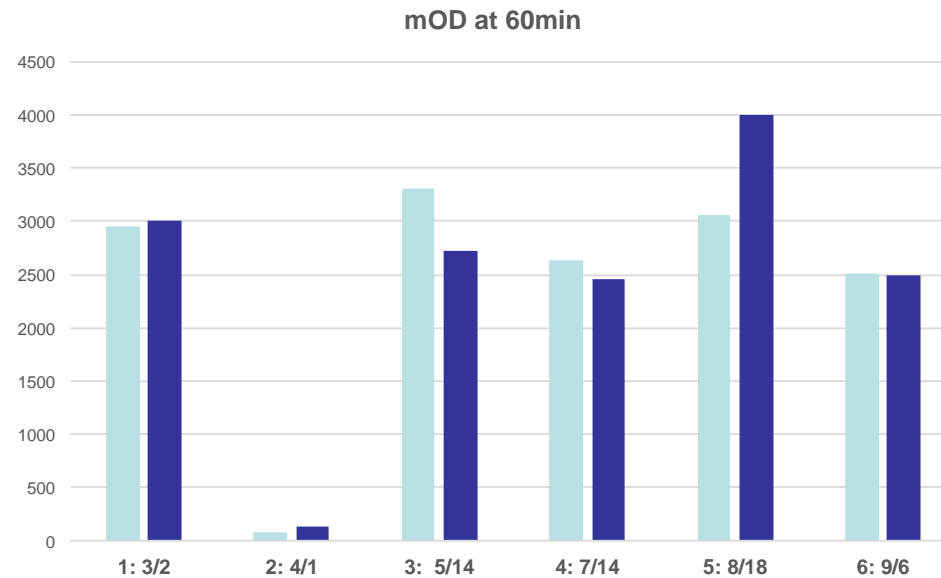
Primers:
CP-F2/CP-R2
Amplicon: 430bp

Primers:
PAL (host gene)
Amplicon: 197bp

DAS-ELISA:

Samples	OD at 60min
1. 3/2	3'000
2. 4/1	130
3. 5/14	2'720
4. 7/14	2'450
5. 8/18	4'000
6. 9/6	2'500
7. Healthy	100
8. Positive control	2'000

Détection de GPGV: “Test Performance Study” sur du bois



■ Résultats DLR Rheinlandpfalz
■ Résultats BIOREBA

Résumé

DAS-ELISA GPGV:

- Permet la detection du virus à partir de bois ou de feuilles infectés.
- Tous les isolats testés à ce jour (en Suisse, en France et en Allemagne) sont détectés.

Pour une detection fiable, l'échantillonnage est très important:

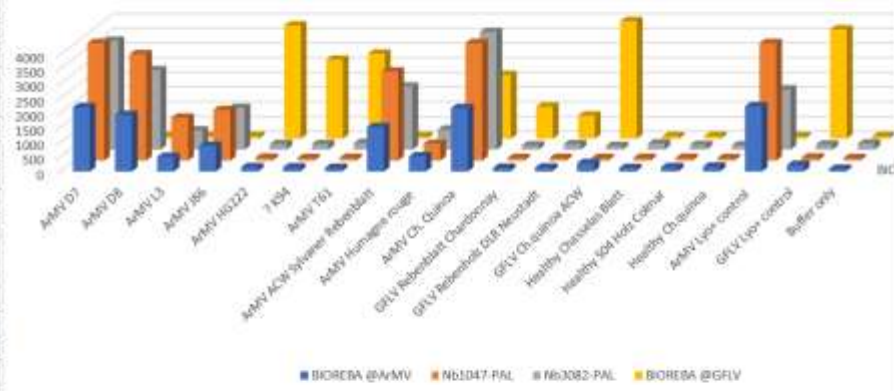
- Bois dormant en hiver.
- Jeunes feuilles au printemps.



Incorporation de «Nanobodies» dans des kits de diagnostic

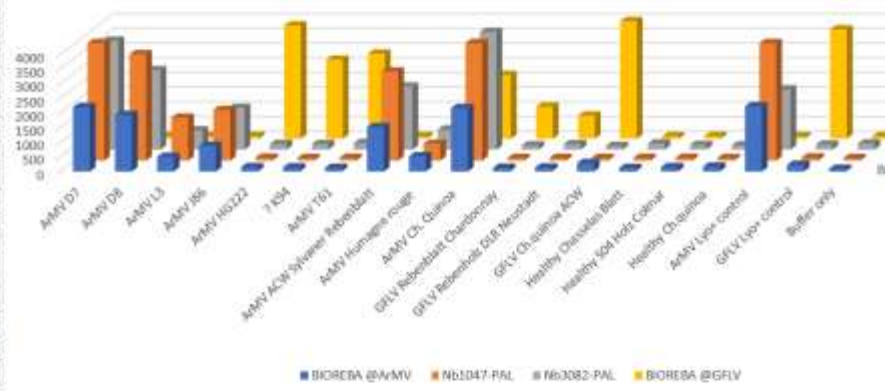
ArMV: Utilisation d'un «Nanobody» comme réactif conjugué.

E 083-19	Ref.	Coating: BIOREBA ArMV		Ref.
		Nb1047-PAL	Nb3082-PAL	
mOD @60min	BIOREBA @ArMV			BIOREBA @GFLV
1 ArMV D7	2194	4000	3708	85
2 ArMV D8	1927	3619	2704	86
3 ArMV L3	500	1463	658	85
4 ArMV J86	885	1723	1421	89
5 ArMV HG222	150	97	194	3855
6 ? K94	143	87	191	2690
7 ArMV T61	128	96	229	2896
8 ArMV ACW Sylvaner Rebenblatt	1512	3030	2145	85
9 ArMV Humagne rouge	520	574	688	84
10 ArMV Ch. Quinoa	2159	4000	4000	2172
11 GFLV Rebenblatt Chardonnay	129	90	148	1089
12 GFLV Rebenholz DLR Neustadt	137	91	187	789
13 GFLV Ch.quinoa ACW	288	90	128	4000
14 Healthy Chasselas Blatt	121	97	212	84
15 Healthy S04 Holz Colmar	150	93	158	88
16 Healthy Ch.quinoa	168	88	149	87
17 ArMV Lyo+ control	2220	4000	2054	83
18 GFLV Lyo+ control	227	105	171	3722
19 Buffer only	91	87	210	86



ArMV: Utilisation d'un «Nanobody» comme réactif conjugué.

E 083-19	Ref.	Coating: BIOREBA ArMV		Ref.
mOD @60min	BIOREBA @ArMV	Nb1047-PAL	Nb3082-PAL	BIOREBA @GFLV
1 ArMV D7	2194	4000	3708	85
2 ArMV D8	1927	3619	2704	86
3 ArMV L3	500	1463	658	85
4 ArMV J86	885	1723	1421	89
5 ArMV HG222	150	97	194	3855
6 ? K94	143	87	191	2690
7 ArMV T61	128	96	229	2896
8 ArMV ACW Sylvaner Rebenblatt	1512	3030	2145	85
9 ArMV Humagne rouge	520	574	688	84
10 ArMV Ch. Quinoa	2159	4000	4000	2172
11 GFLV Rebenblatt Chardonnay	129	90	148	1089
12 GFLV Rebenholz DLR Neustadt	137	91	187	789
13 GFLV Ch.quinoa ACW	288	90	128	4000
14 Healthy Chasselas Blatt	121	97	212	84
15 Healthy S04 Holz Colmar	150	93	158	88
16 Healthy Ch.quinoa	168	88	149	87
17 ArMV Lyo+ control	2220	4000	2054	83
18 GFLV Lyo+ control	227	105	171	3722
19 Buffer only	91	8	210	86



ArMV: Utilisation d'un «Nanobody» comme réactif conjugué.

OD @ 60min	Coating: BIOREBA Conjugate: BIOREBA	Coating: BIOREBA Conjugate: Nb1047-PAL 1:2000
ArMV B813	1029	2070
ArMV C1200	1599	3038
ArMV D7	1991	4000
ArMV D8	1846	3652
ArMV H133	1074	1965
ArMV H138	536	898
ArMV HG222	128	89
ArMV J86	555	989
? K94	134	88
ArMV L3	499	1618
ArMV L5	1626	3921
ArMV N37	1859	3844
ArMV N152	838	2643
ArMV P116	2510	4000
ArMV P118	2384	4000
ArMV P119	2642	4000
ArMV P120	2345	4000
ArMV T61	120	92

Critères importants:

-Spécificité

-Sensibilité

-Bruit de fond

-Stabilité du conjugué



ArMV: Utilisation d'un «Nanobody» comme réactif conjugué.

- Spécificité ✓
- Sensibilité ✓
- Bruit de fond ✓
- Stabilité du conjugué: au moins 2 ans à 4°C ✓

Avantages:

- Facilité de production (à partir de bactéries)
- Plus besoin de couplage (le «Nanobody» est directement couplé à la Phosphatase alcaline)
- Qualité constante

RpRSV-g: améliorer le spectre de détection grâce à un «Nanobody».

Results ELISA E 054-19 (RpRSV Nanobodies)

	RpRSV-g: E 054-19 OD at 60min	Coat: BIOREBA Conj: BIOREBA	Coat: BIOREBA Conj: Nb3.23-PAL (batch 001; 0.51mg/ml) 1:1000	Coat: BIOREBA Conj: Nb3.31-PAL (batch 001; 0.62mg/ml) 1:1000	Coat: BIOREBA Conj: Nb3.35-PAL (batch 001; 0.44mg/ml) 1:1000	Coat: BIOREBA Conj: Nb4.17-PAL (batch 001; 0.51mg/ml) 1:1000	Coat: BIOREBA Conj: Nb4.22-PAL (batch 001; 0.55mg/ml) 1:1000
1	RpRSV-g #815 Quinoa 18.05.2004 (2-B24)	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
2	RpRSV-g Rebe ACW 27.08.2013 (2-B24)	1558	2474	2045	2627	2514	2328
3	RpRSV-g Rebe ACW 16.06.2015 (2-B24)	1773	2949	2379	3078	3169	2553
4	RpRSV-g T82 Rebenblatt Colmar 15.06.2017 (TKS8/FCS)	113	382	351	80	92	78
5	RpRSV-g T82 Rebenholz Colmar fresh	124	906	1043	79	85	79
6	RpRSV-ch cherry leaf ACW 30.05.2018 (3-B23)	105	143	91	79	85	79
7	RpRSV-ch Himbeere 05.06.2013 (3-B31)	94	107	87	82	88	81
8	RpRSV-ch Sylvaner 4/3/1 Neustadt 21.08.2013 (3-B31)	92	88	81	78	82	78
9	RpRSV-ch #1367 Quinoa 12.05.2015 (3-B23)	103	97	81	81	85	79
10	RpRSV-ch #1300 Quinoa 21.07.2015 (3-B23)	92	94	81	80	83	79
11	Healthy Pinot noir wood 17.10.2018	97	93	84	81	88	81
12	Healthy Quinoa 30.08.2001	93	83	79	80	84	77
13	Lyo+ RpRSV-ch #224026	93	92	78	79	83	80
14	Lyo+ RpRSV-g #253947	3318	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
15	Buffer only	96	91	84	80	83	82
16	Buffer only	92	86	81	78	79	78

RpRSV-g: améliorer le spectre de détection grâce à un «Nanobody».

L'isolat RpRSV-g (T82) de Colmar n'est pas détecté par notre produit actuel.

Le remplacement du conjugué par un "Nanobody"-AP permet la détection de l'isolat T82.

Conclusion:

la combinaison de polyclonaux, monoclonaux et de Nanobody mène au succès.

Les avantages des différents anticorps peuvent être utilisés pour l'optimisation/le développement de tests diagnostics.



Distribution de GFLV, ArMV, GPGV et GLRaV1 dans les vignobles du Rhin supérieur

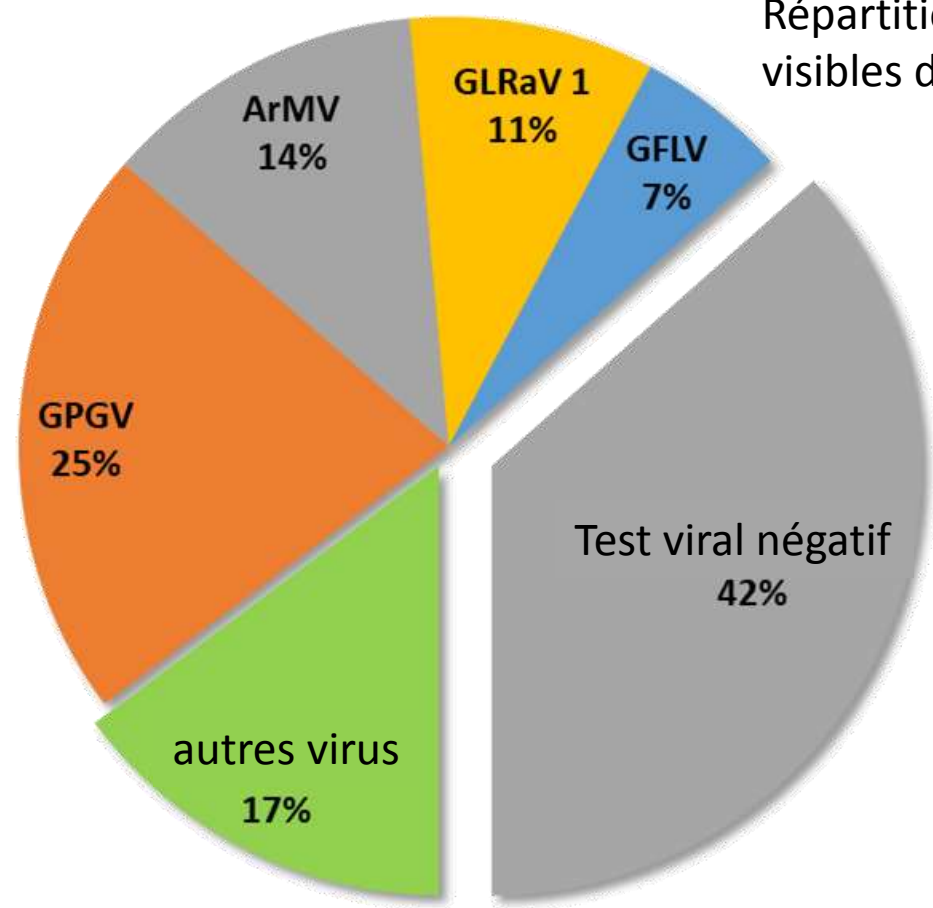
Patricia Bohnert



Noemi Meßmer



Distribution Bade-Wurtemberg

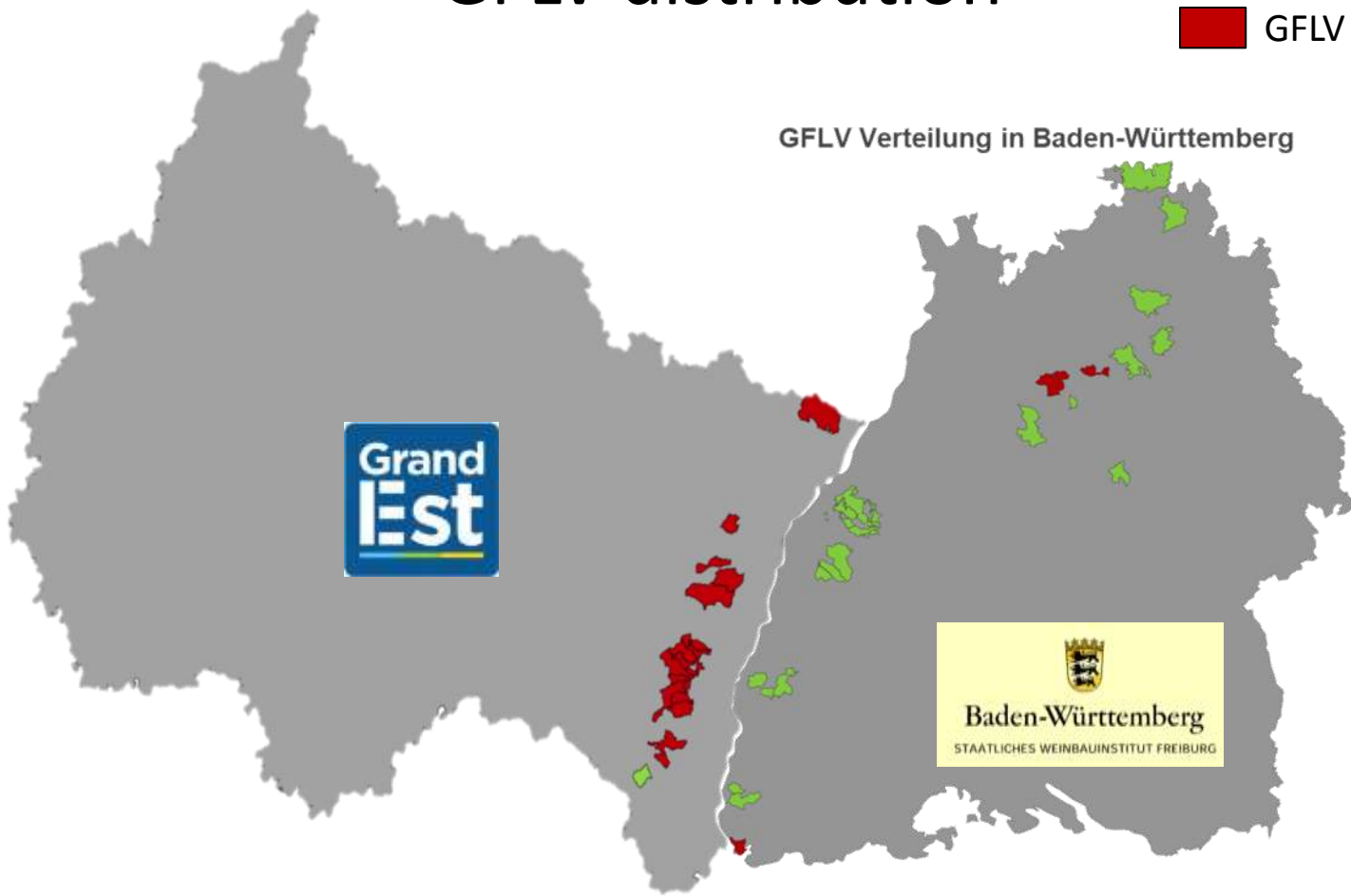


Répartition du virus dans des zones bien visibles du Bade-Wurtemberg

27 places
80 zones
654 vignes

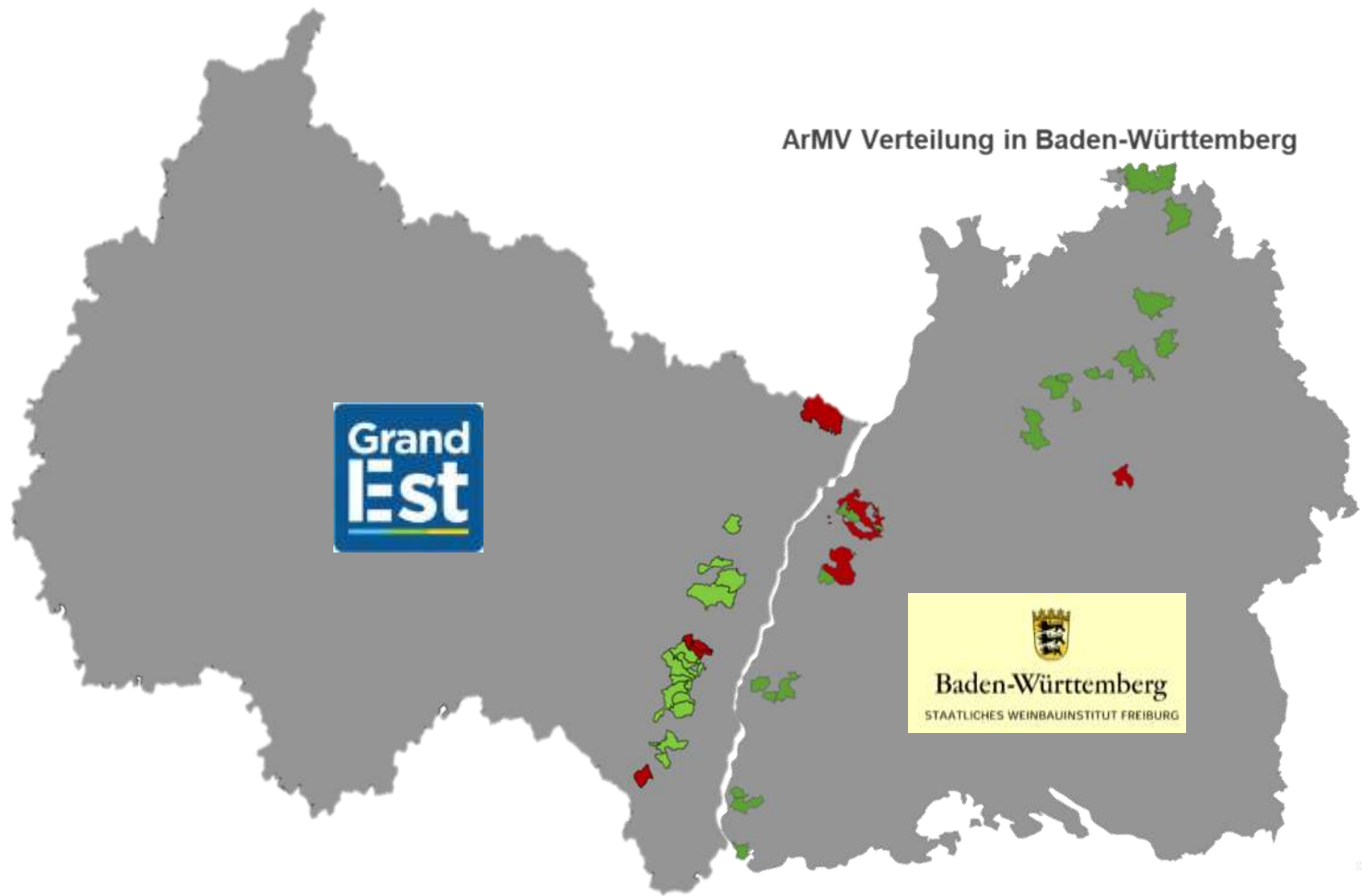
GFLV distribution

- GFLV negativ
- GFLV positiv



ArMV distribution

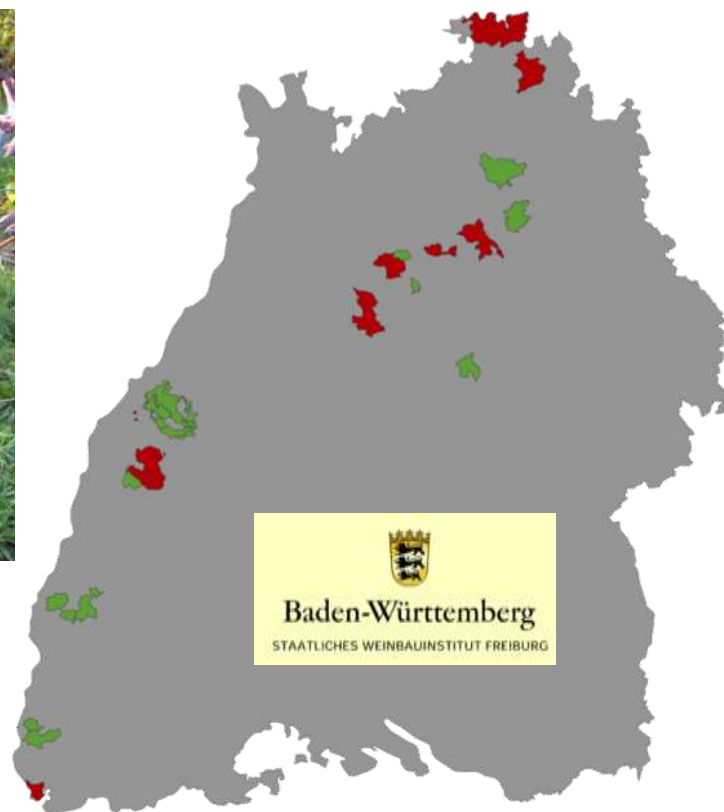
- ArMV negativ
- ArMV positiv



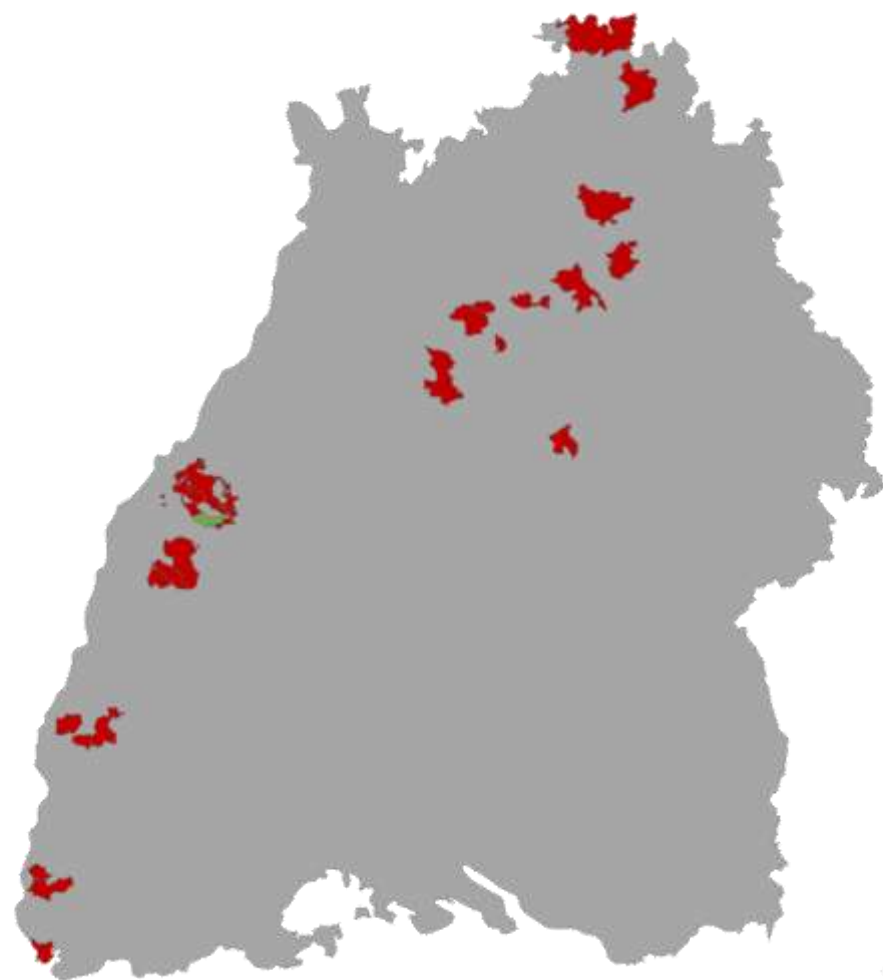
GLRaV-1 distribution

GLRaV 1 negativ
 GLRaV 1 positiv

Cartographie des zones visibles en 2018



GPGV distribution



GPGV negativ
 GPGV positiv



Installation expérimentale

Standort: Weinstadt

alle Riesling Pflanzen sind bis 2019 gesund

		Durchgang															Durchgang				
		oben																			
Stock 6		positiv	1 negativ	positiv	1 negativ	positiv	positiv	positiv	1 tot	positiv	1 tot	1 tot	positiv	positiv	positiv	positiv	1 tot	1 tot	positiv	Wasserstaffel rechts	
Stock 5																					
Stock 4																					
Stock 3																					
Stock 2																					
Stock 1																					
Reihe		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			

Toutes les usines de Riesling sont saines jusqu'en 2019

GFLV tentative de transfert à Weinstadt

St.	2014 Pflanzjahr																	2015 1. Standjahr																	2016																	
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
	102 Stöcke gesund																	102 Stöcke gesund																	49 Stöcke Fanleaf krank, 48% krank																	

St.	2017																	2018																	2019																	
1	+	+	-	+	-	+	+	+	T	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	T	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	T	+	+	+	+	+		
2	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4	-	+	+	+	+	T	+	T	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	T	+	T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	T	+	+	+	+	+	
5	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	-	+	+	+	+	T	-	+	+	+	+	T	+	+	+	+	-	+	+	+	+	T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
	78 Stöcke Fanleaf krank, 76% krank																	80 Stöcke Fanleaf krank, 78% krank																	99 Stöcke Fanleaf krank, 97% krank																	
	6 Stöcke abgestorben																	6 Stöcke abgestorben																	6 Stöcke abgestorben																	
	18 Stöcke gesund																	16 Stöcke gesund																	2 Stöcke gesund																	

Coopération avec LVWO Weinsberg et raffinement de la vigne Wahler, Weinstadt

Weinstadt 2019



Logos of partner institutions listed vertically on the left side of the slide:

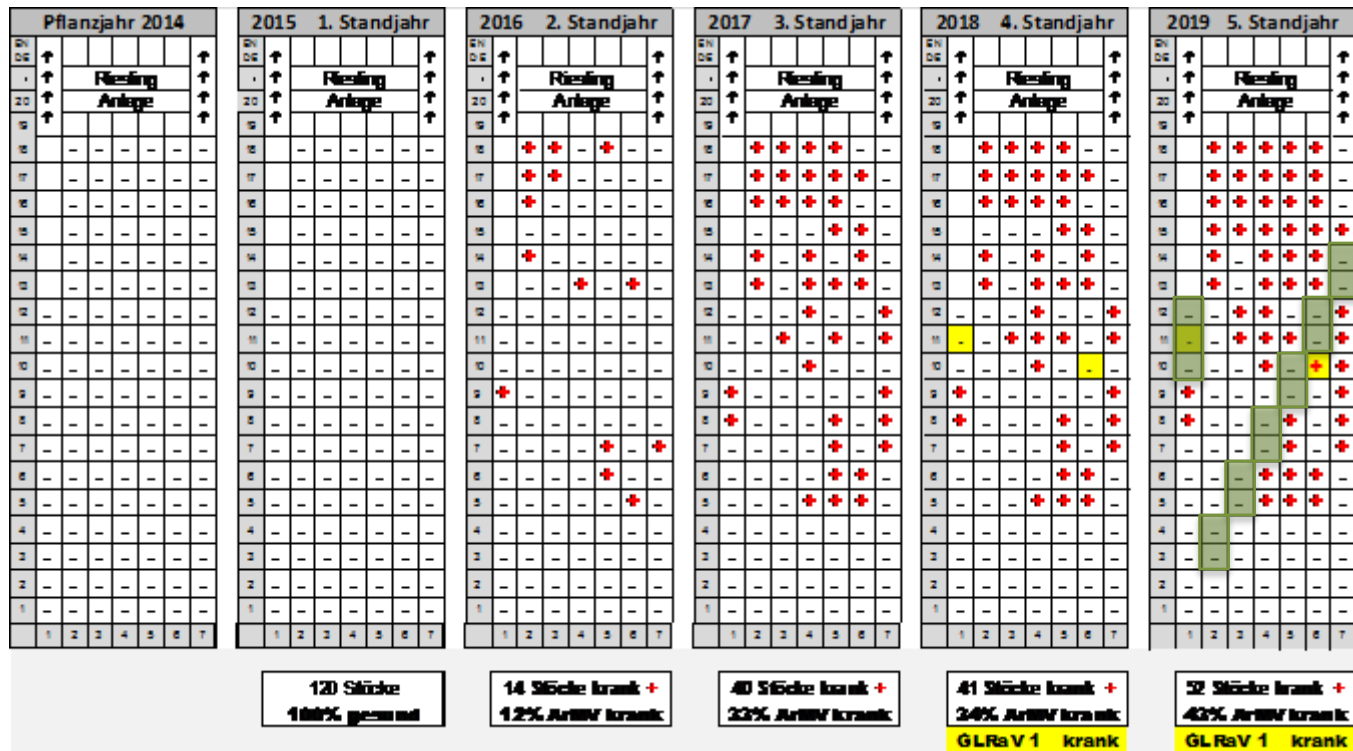
- WBI STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
- UNI FREIBURG
- KIT Karlsruher Institut für Technologie
- Rheinland-Pfalz DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
- Agro science
- JKI Julius Kühn-Institut Federal Research Centre for Cultivated Plants
- UNIVERSITÄT KOBLENZ · LANDAU
- CNRS
- UNIVERSITÉ HAUTE-ALSACE
- INRA SCIENCE & IMPACT
- SNI SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



Weinstadt 2018

ArMV tentative de transfert à Ortenau

Riesling



Coopération avec M. Männle, Oberkircher Winzer eG, Oberkirch

Ortenau 2019



STÄATLICHER WEINBAUINSTITUT FREIBURG

UNI FREIBURG

KIT
Karlsruher Institut für Technologie

Rheinland-Pfalz
DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ

Agro science

JKI
Julius Kühn-Institut
Federal Research Center for Cultivated Plants

UNIVERSITÄT KOBLENZ · LANDAU

CNRS

UNIVERSITÉ HAUTE-ALSACE

INRA
SCIENCE & IMPACT

SNI
SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE

Conclusion : cas particulier du Riesling ?

- Weinstadt et Ortenau : pas de vigne infectée
- Test à l'Edelreis ! Infection probable du porte-greffe
- Si le porte-greffe est infecté : pourquoi ne pas passer au riz noble ?



Gérard Demangeat: méthodes d'évaluation de la résistance et perspectives



Le virus est transmis lors de l'alimentation des nématodes au niveau des racines

Alimentation des nématodes = Formation de galles

Survie du nématode } >4 ans
conservation du virus }

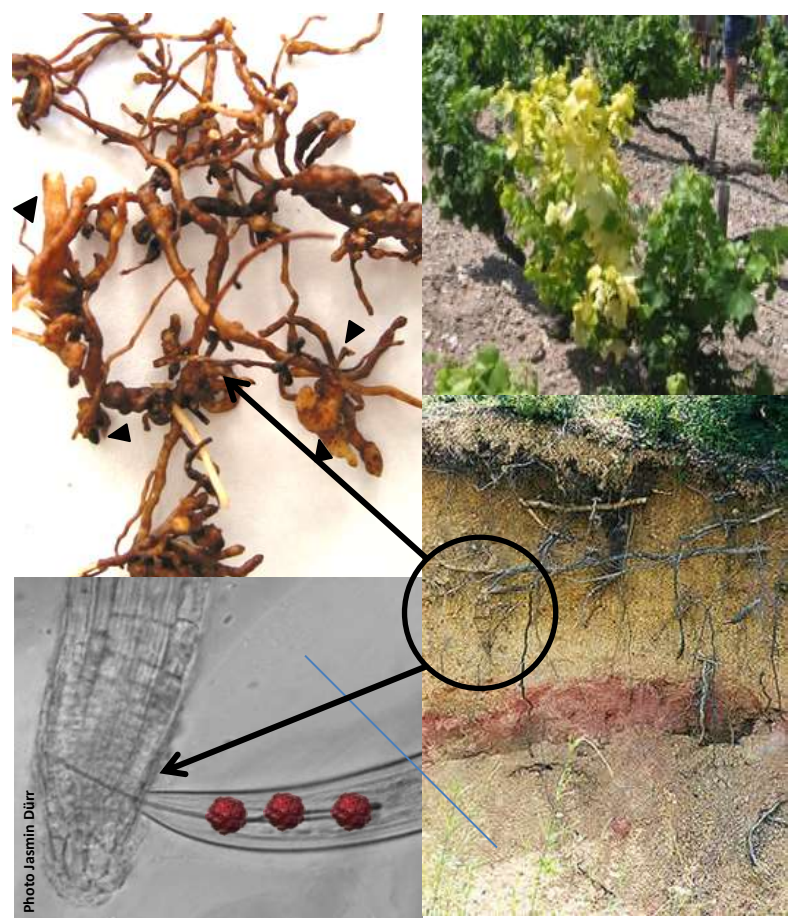


Photo Jasmin Dürr



Traitement glyphosate



Sélection sanitaire



Arrachage suivi par jachère
>7 ans



Raccourcie par l'utilisation de couvert végétal avec des plantes à effet antagonistes

Pas de solution durable !

Résistance aux nématodes !



Totalement résistante à la transmission du virus



Porte-greffe Nemadex AB

Tolérance au court-noué
Performances agronomiques faibles

Résistance aux virus !

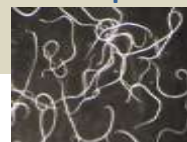
Greffage

Plus de 700 accessions testées !



Aucune résistance
Mise en évidence !

⇒ Transmission du virus par nématodes pour recherche des résistances à la maladie du court-noué !



Production inoculum *X. index* virulifère en serre

80M² de serre en conditions contrôlées



Multiplication des nématodes sur figuiers



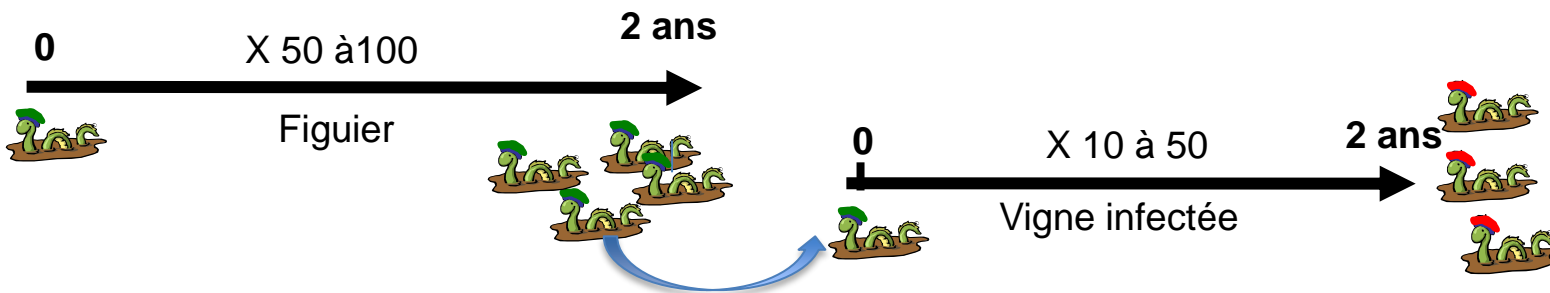
Multiplication de nématodes porteurs de virus



sans virus



avec virus

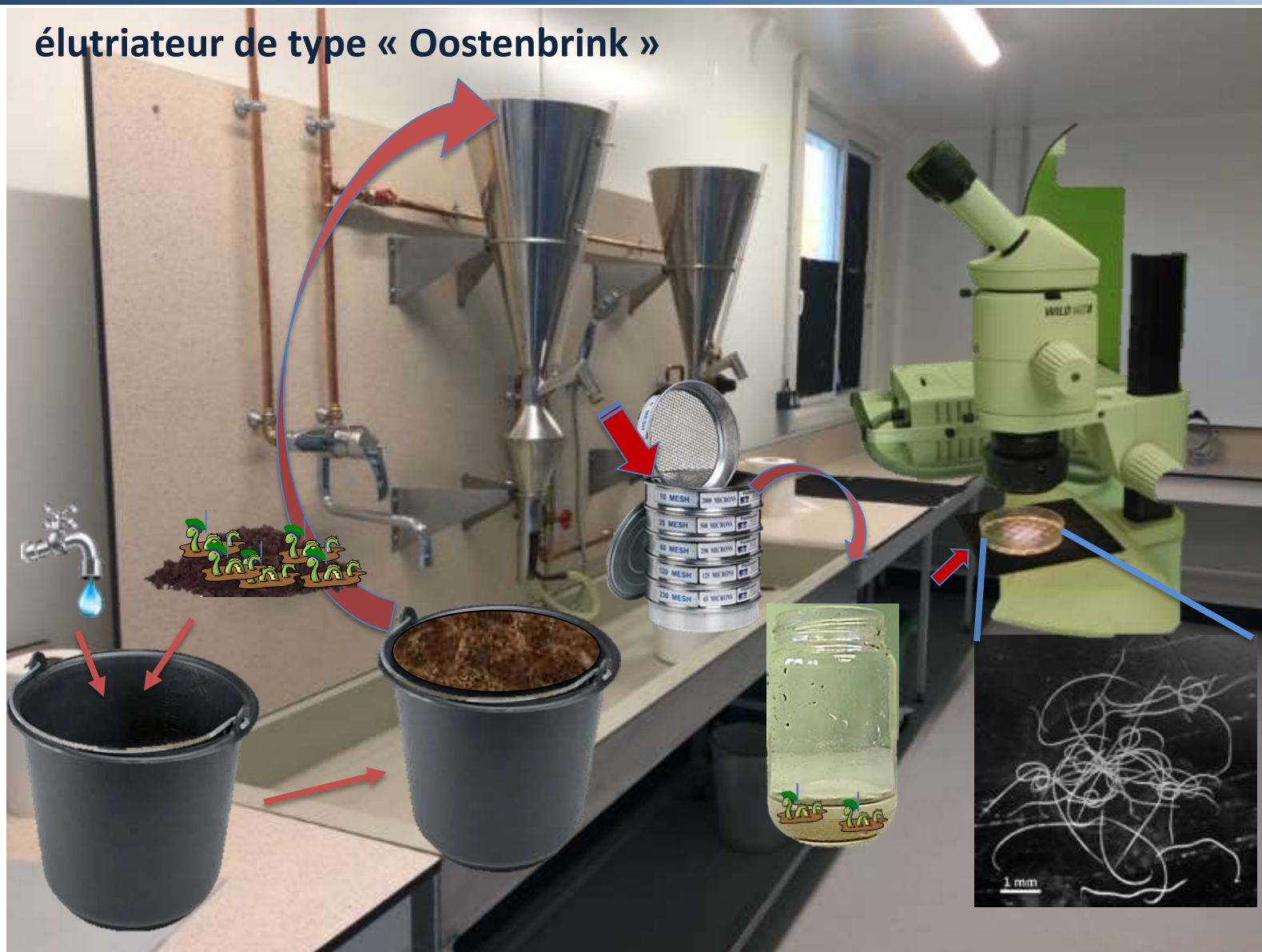




éluviateur de type « Oostenbrink »



éluviateur de type « Oostenbrink »



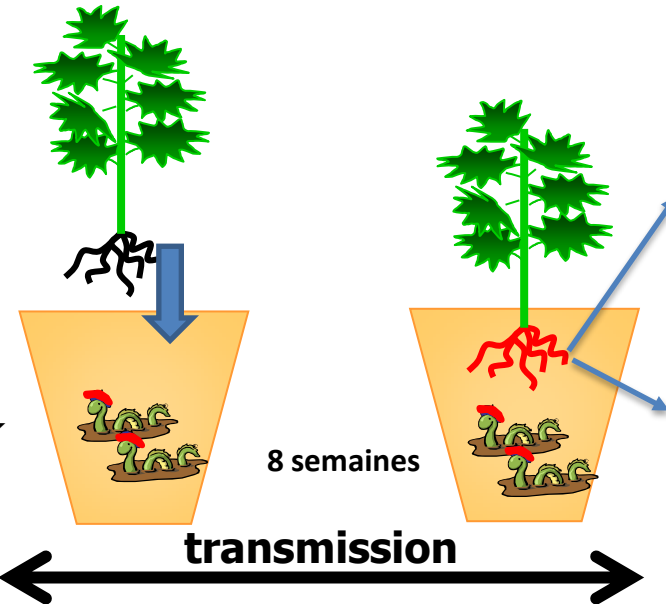


Vigne à tester

Nématodes avec virus



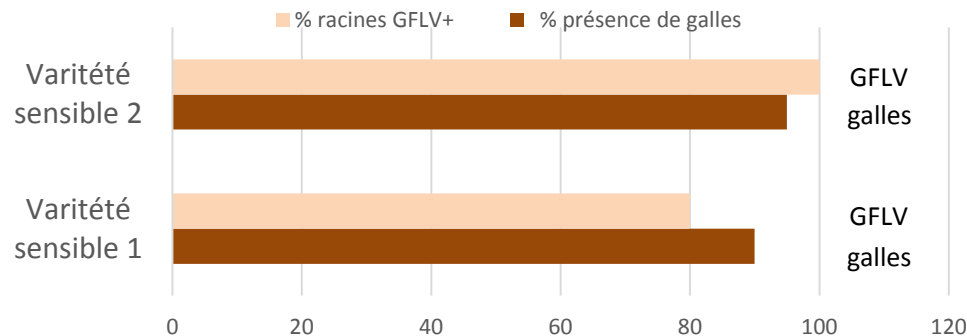
200-250
X. index



ELISA
GFLV



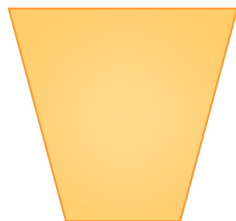
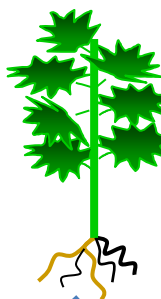
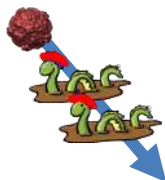
galles



Taux de transmission du virus de 80 à 100%.

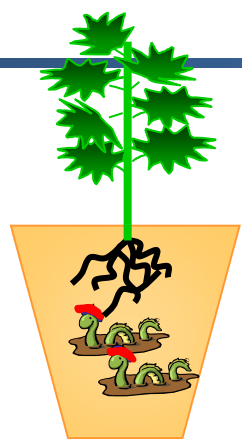


200-250
X. index

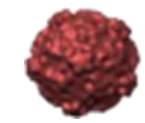


Premiers résultats...

Nemadex AB

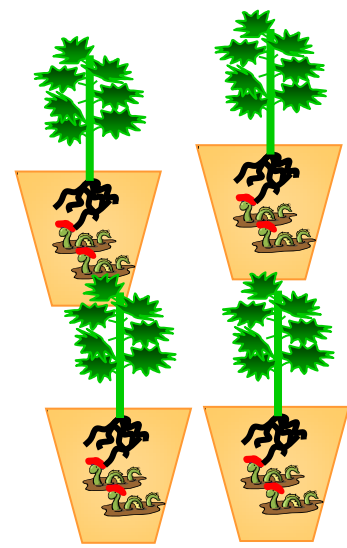


10 %

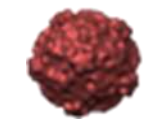


10 à 30% GFLV

10 variétés peu sensible à *Xiphinema index*



10 %



0%

Collaboration : INRA Bordeaux et Sophia Antipolis

1. Amélioration des qualités agronomiques du porte-greffe Nemadex AB

⇒ collaboration Inra Bordeaux et Sophia Antipolis

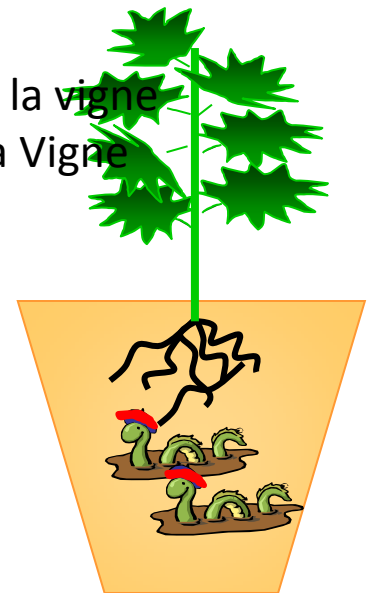
2. Recherche de résistance dans les variétés cultivées....

- du Rhin Supérieur (....., Riesling, Pinot Noir, ...)
- autres *Vitis Vinifera*...

⇒ Collaboration Equipes Génétique et Amélioration de la vigne
Métabolisme Secondaire de la Vigne

3. Explorer la résistance chez les *Vitis Sylvetris*
inconnue à ce jour!

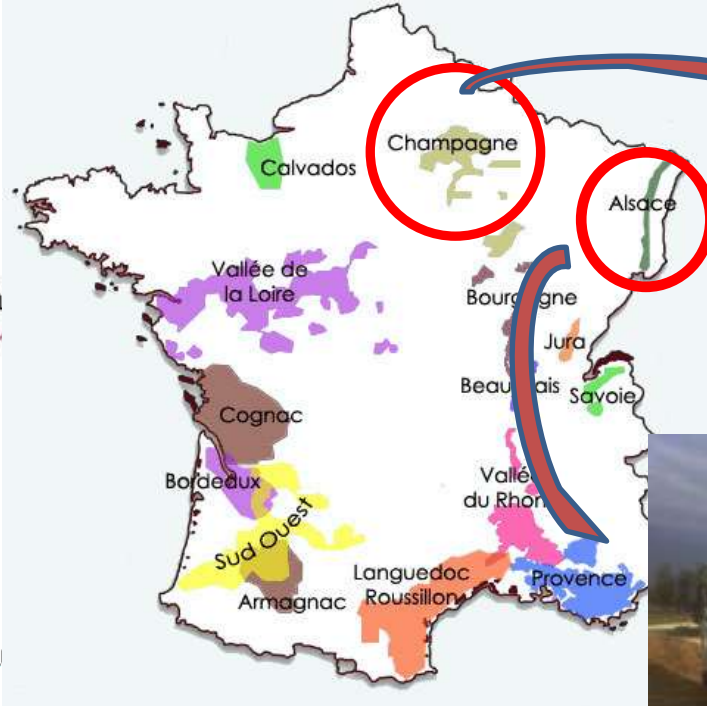
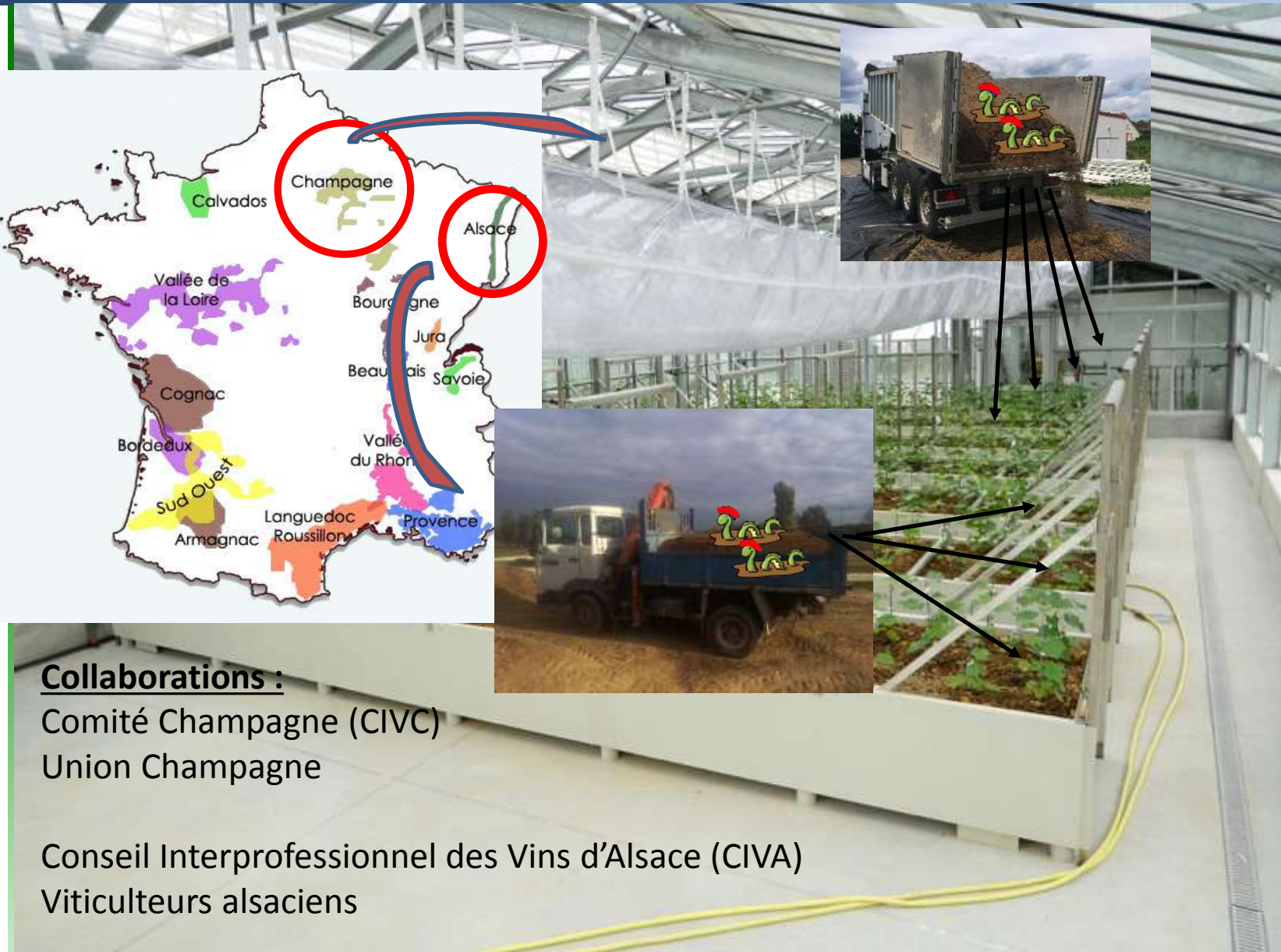
⇒ Collaboration Université de Haute Alsace (LVBE)
Karlsruhe Institut für Technologie (KIT)





Mise en place en Juillet 2018

7 conteneurs de 10 m²



Collaborations :

Comité Champagne (CIVC)

Union Champagne

Conseil Interprofessionnel des Vins d'Alsace (CIVA)

Viticulteurs alsaciens



Capacité accueil de 1200 - 1300 plantes

2 pathosystèmes

Elisa en juillet 2018

Region	Unité	Phénotypage																
		1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
Terre d'Alsace	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49	
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	49	
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	48	
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49	
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	49	
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	48	
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	27a	30	33	36	39	42	45	48	48
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	28	31	34	37	40	43	46	49	49
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	29	32	35	38	41	44	47	47	47
Terre de Champagne	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49	
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50	
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	48	
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49	
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50	
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	48	
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	27	30	33	36	39	42	45	48	48
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	28	31	34	37	40	43	46	49	49
	3	6	9	12	15	18	21	24	26a	29	32	35	38	41	44	47	47	47
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50	50
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	51	51

Elisa en septembre 2019

Terre d'Alsace

G	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	
F	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	
E	1	4	7	10	13	16	19	22	25	27a	30	33	36	39	42	45	48
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	28	31	34	37	40	43	46	49
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	29	32	35	38	41	44	47	

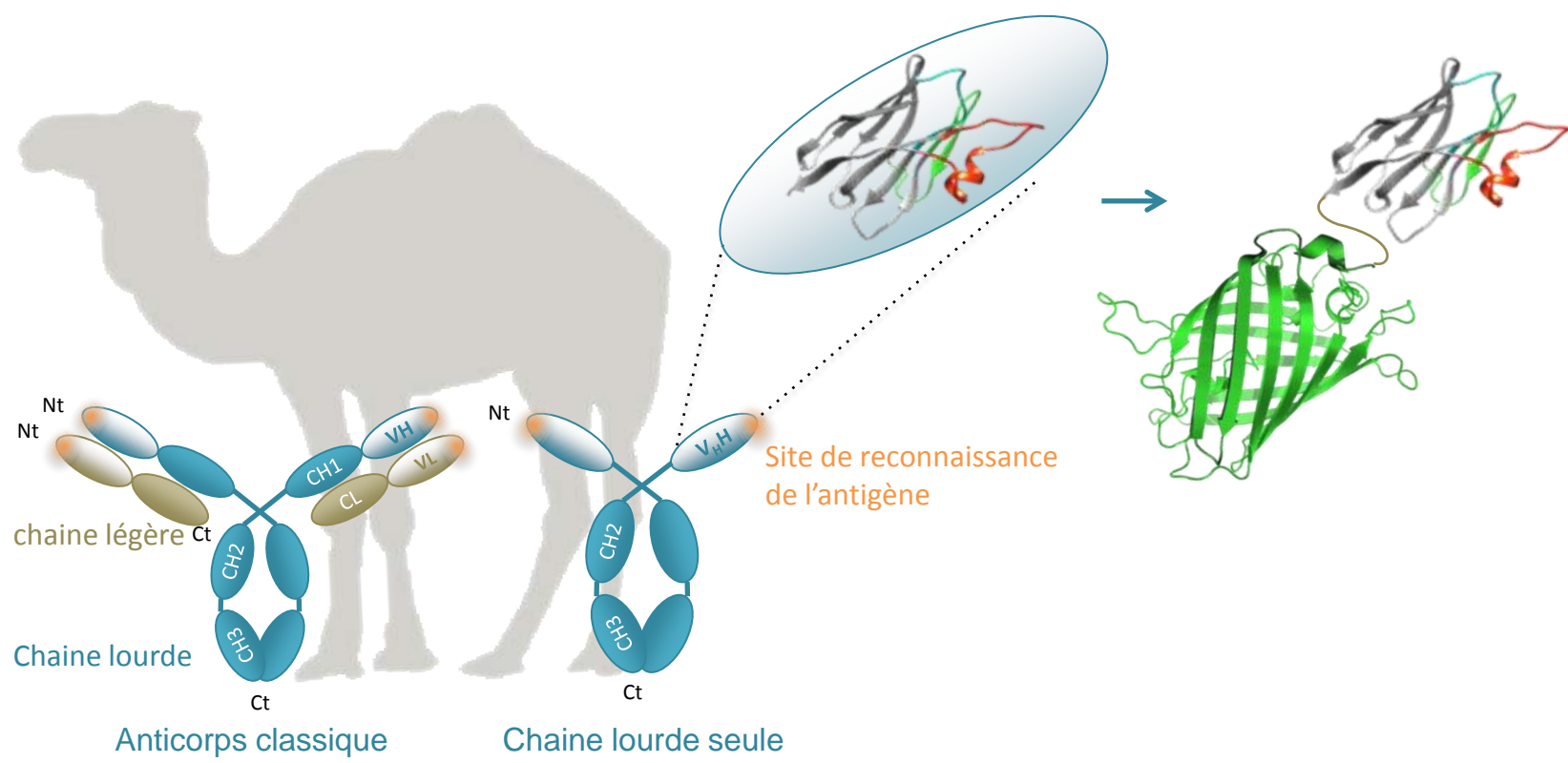
Terre de Champagne

D	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	
C	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	
B	1	4	7	10	13	16	19	22	25	27	30	33	36	39	42	45	48
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	28	31	34	37	40	43	46	49
	3	6	9	12	15	18	21	24	26a	29	32	35	38	41	44	47	
A	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	34	37	40	43	46	49
	2	5	8	11	14	17	20	23	26	29	32	35	38	41	44	47	50
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	51

Anticorps *Camelidae*

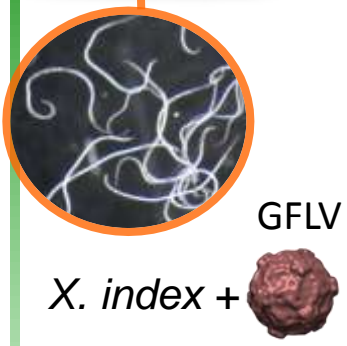
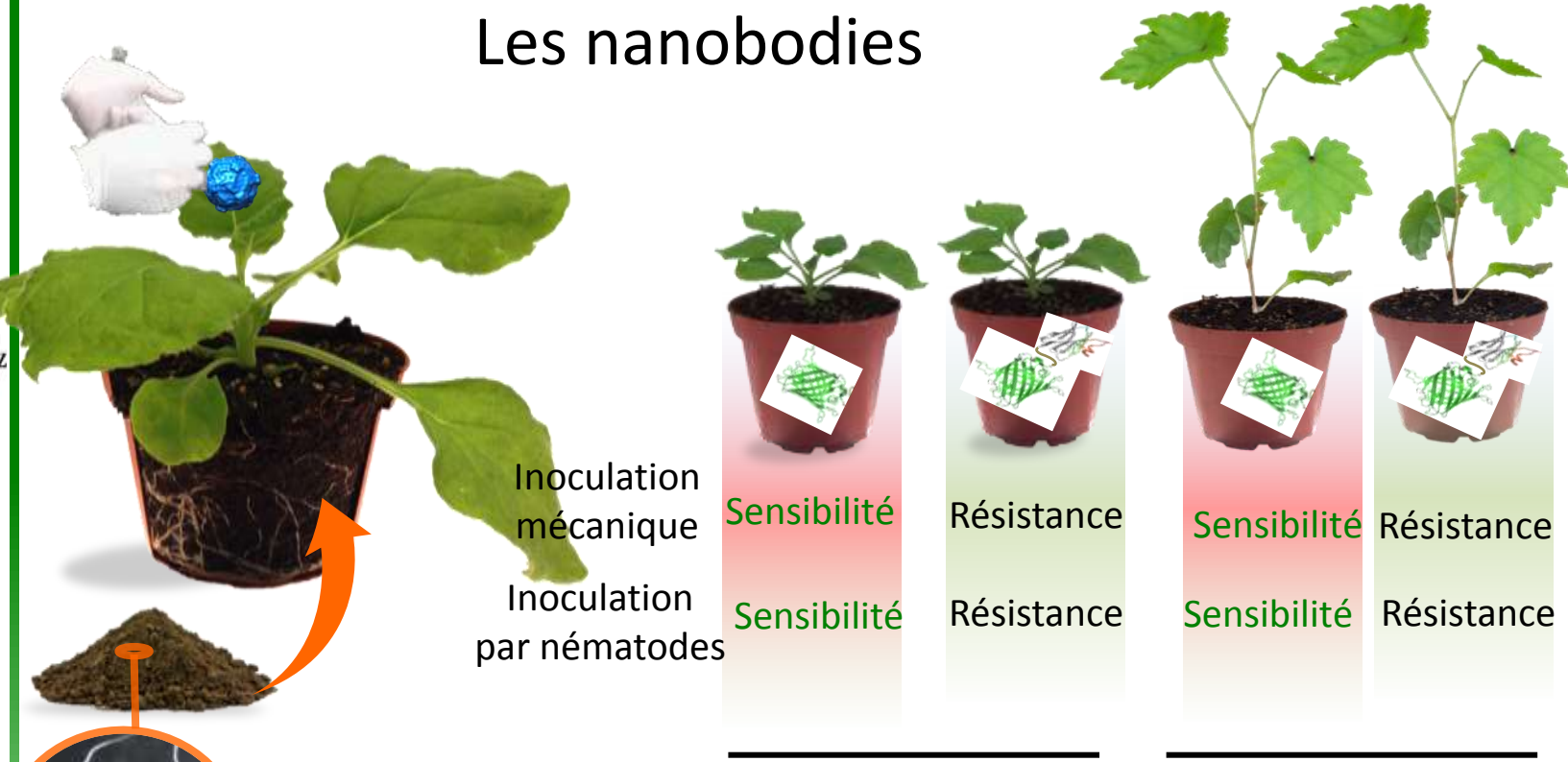
Nanobody

Chromobody





Les nanobodies



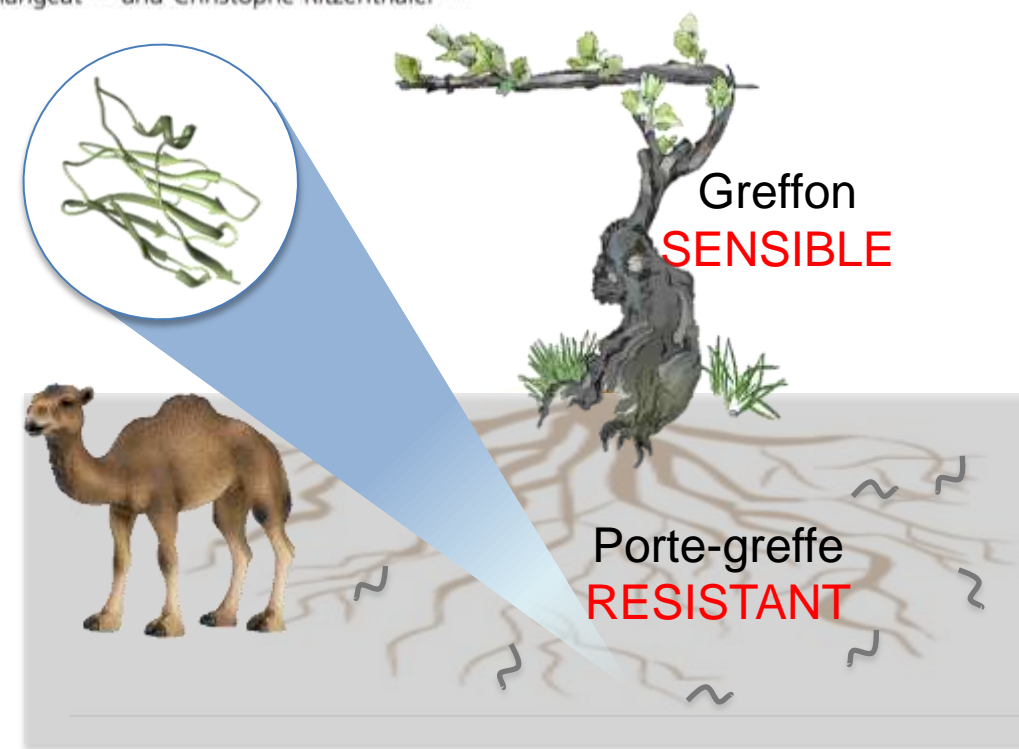
⇒ Activité antivirale vis-à-vis du GFLV

Plant Biotechnology Journal (2018) 16, pp. 660–671

doi: 10.1111/pbi.12819

Nanobody-mediated resistance to Grapevine fanleaf virus in plants

Caroline Hemmer^{1,2}, Samia Djennane², Léa Ackerer^{1,2,3}, Kamal Hleibieh¹, Aurélie Marmonier², Sophie Gersch², Shahinez Garcia², Emmanuelle Vigne², Véronique Komar², Mireille Perrin², Claude Gertz², Lorène Belval², François Berthold¹, Baptiste Monsion¹, Corinne Schmitt-Keichinger¹, Olivier Lemaire², Bernard Lorber⁴, Carlos Gutiérrez⁵, Serge Muyldermans⁶, Gérard Demangeat^{2,*} and Christophe Ritzenthaler^{1,*}



Merci pour votre attention!

Plus d'informations:

www.vitifutur.net | <http://forum.vitifutur.net/>

*Der Oberrhein wächst zusammen, mit jedem Projekt.
Dépasser les frontières, projet après projet.*

Europäischer Fonds für regionale Entwicklung (EFRE)
Fonds européen de développement régional (FEDER)

