



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

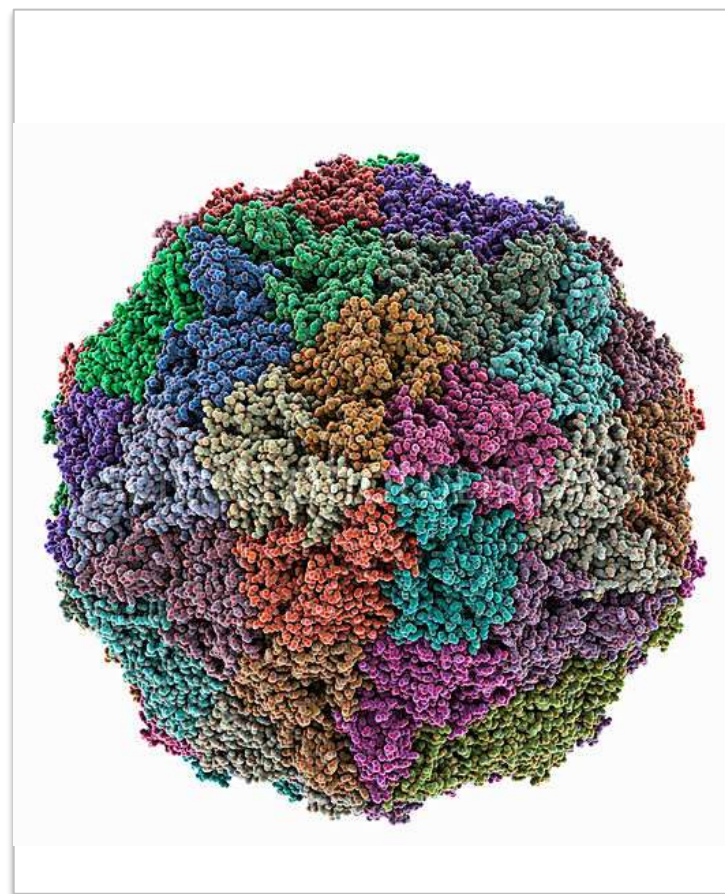
Christophe Debonneville: méthodes sérologiques de détection des
virus et avantages des Nanobodies
Exemples sur l'ArMV, RpRSV, GPGV, Enroulement

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



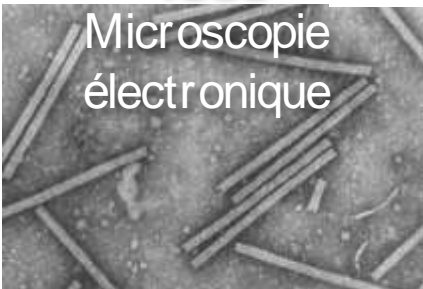
2019

La virologie, une discipline récente

1898



1939

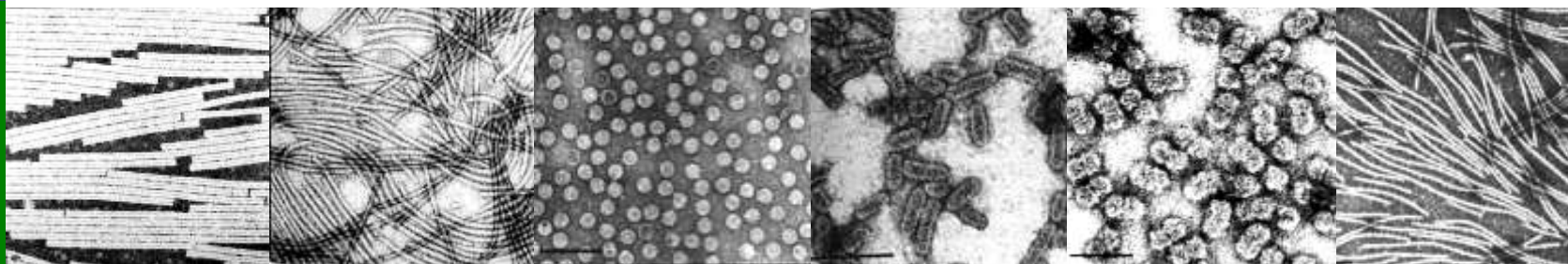


NATURE

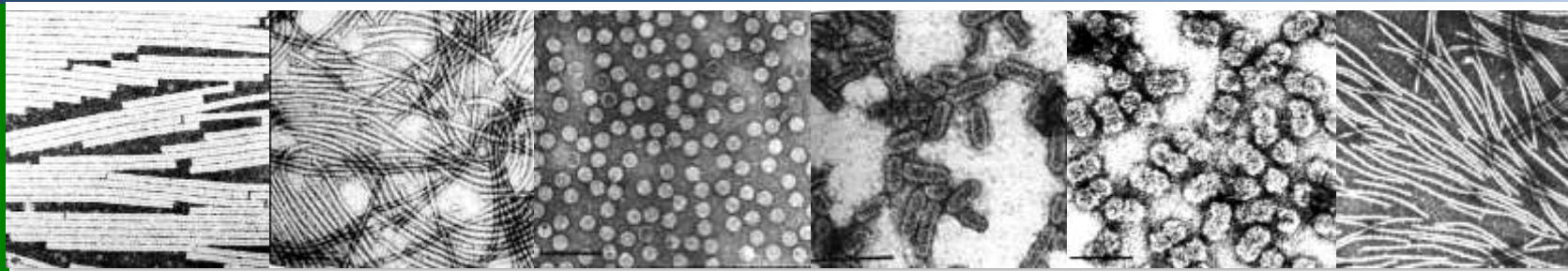
August 13, 1960

Vol. 187





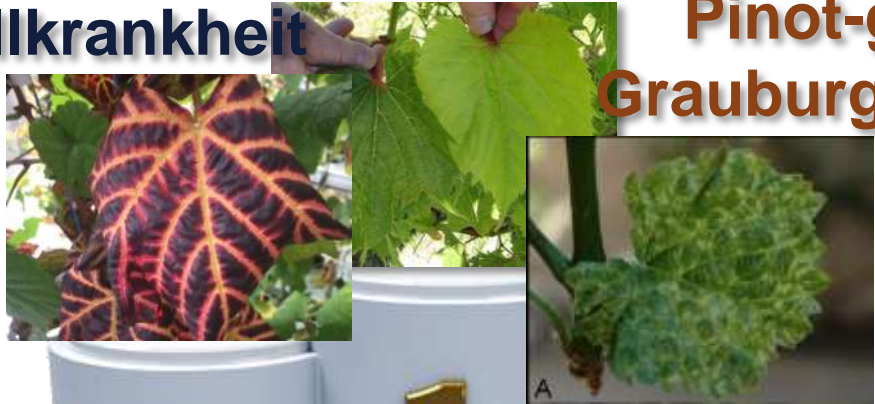
- ❖ **2019:** Vigne est un **réservoir à virus**
 - ❖ **> 80 virus identifiés** appartenant à 30 genres différents et 15 familles
 - = plante cultivée qui possède la plus grande diversité virale
 - ❖ **Pas de résistance** aux virus connue, mais...Riesling?
 - ❖ **Infections multiples fréquentes**
 -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



**Court-noué
Reisigkrankheit**

**Enroulement
Blattrollkrankheit**

**Pinot-gris virus
Grauburgunder Virus**

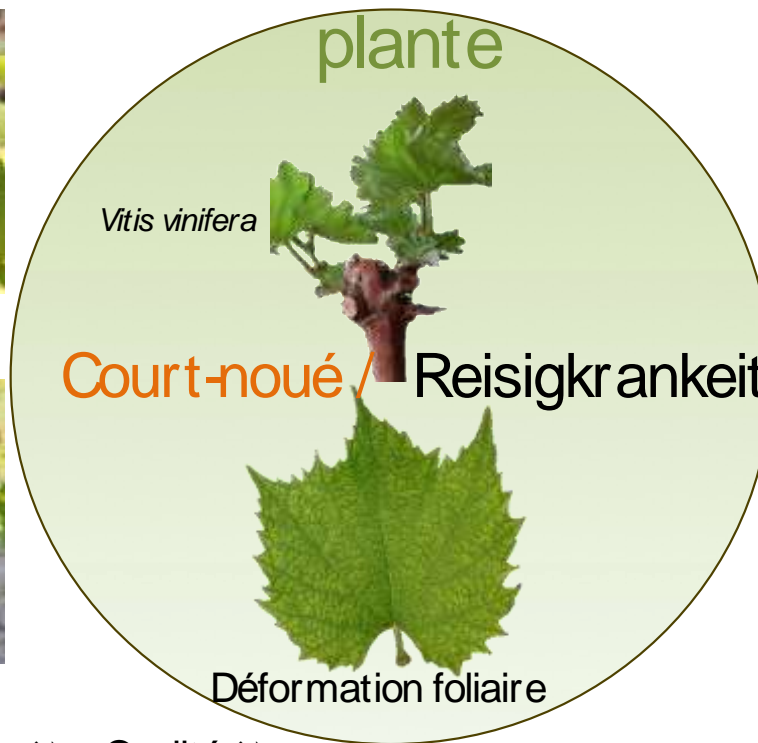




jaunissement



marbrure



Nanisme/ dépérissement

Entre-nœuds courts

Rendements ↘ Qualité ↘



sain



infecté

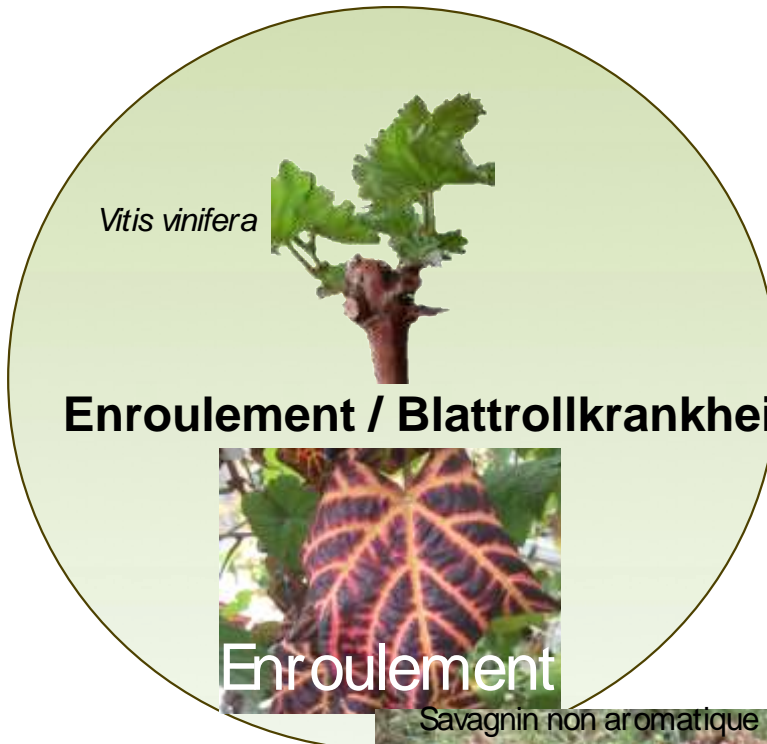


sain



infecté





Retard à la maturation

Sucres ↘

Pigmentation des baies ↘

Rendement ↘ (60 %)





Rendements ↘

Qualité des raisins ↘

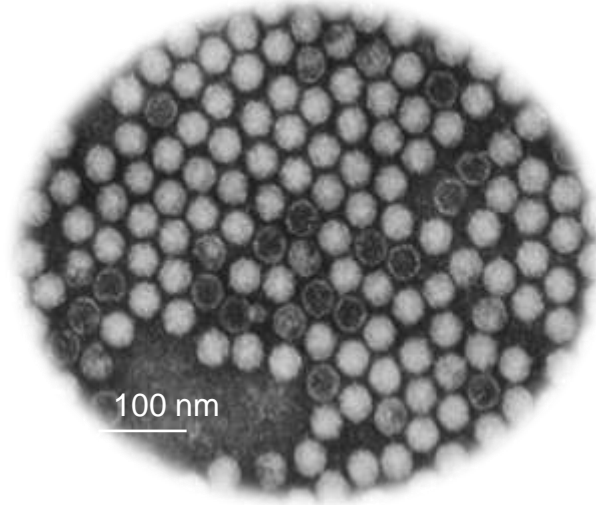
Court-noué Reisigkrankheit



Nepovirus

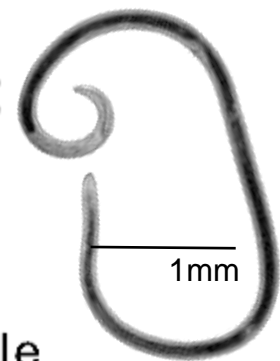
- Grapevine fanleaf virus (GFLV)**
- Arabis mosaic virus (ArMV)**
- Tomato blackring virus (TBRV)
- Grapevine chrome mosaic virus (GCMV)
- Strawberry latent ringspot virus (SLRV)
- Raspberry ringspot virus (RpRSV)
- Tomato ringspot virus (ToRSV)
- Tobacco ringspot virus (TRSV)
- Blueberry leaf mottle 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



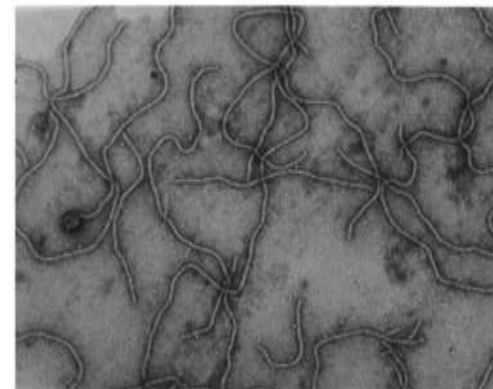
Enroulement Blattrollkrankheit



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

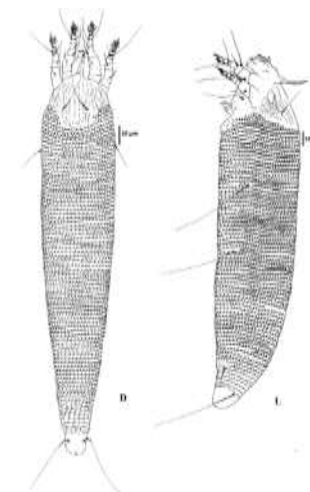


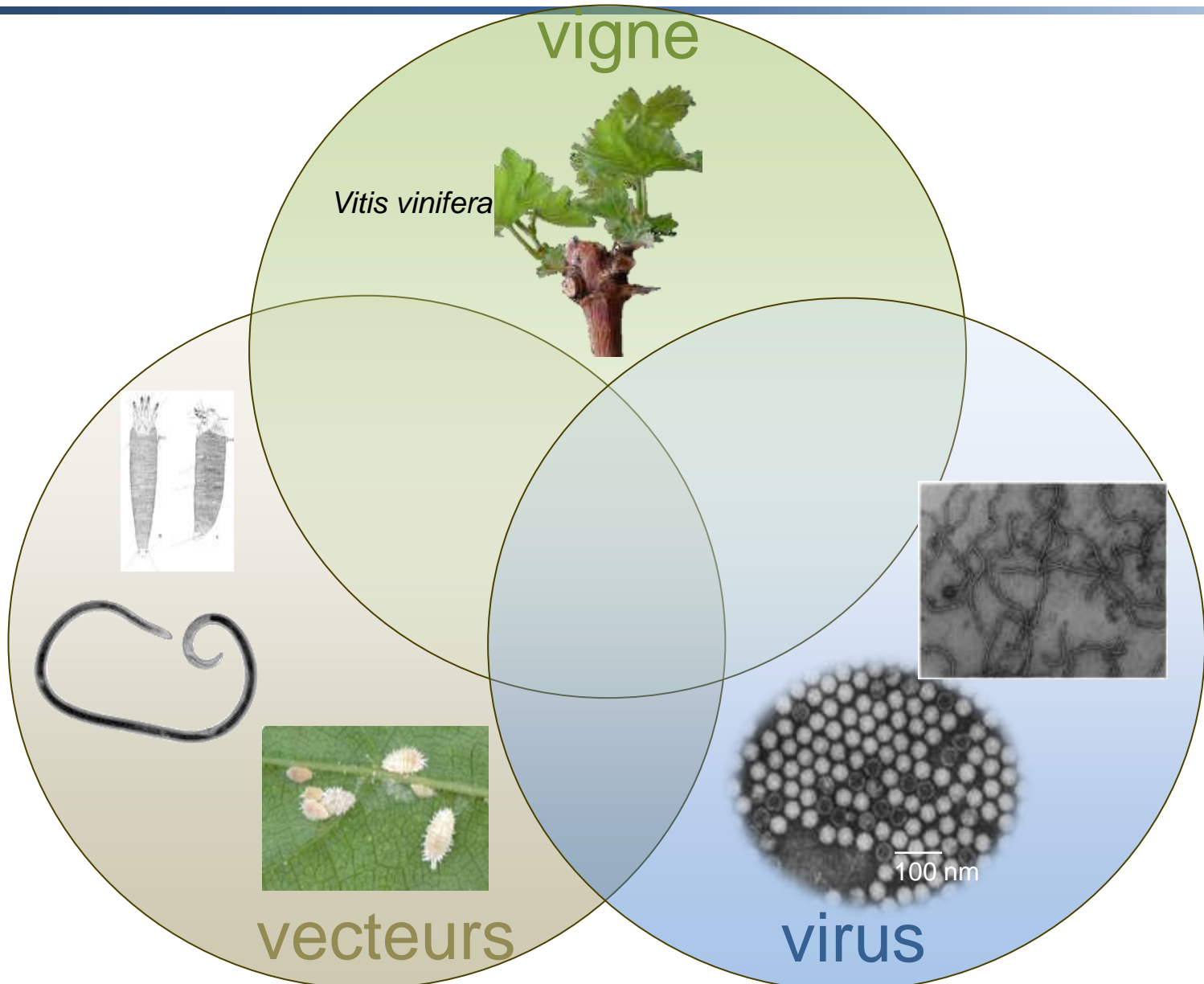
Transmission: Acarions

Colomerus vitis

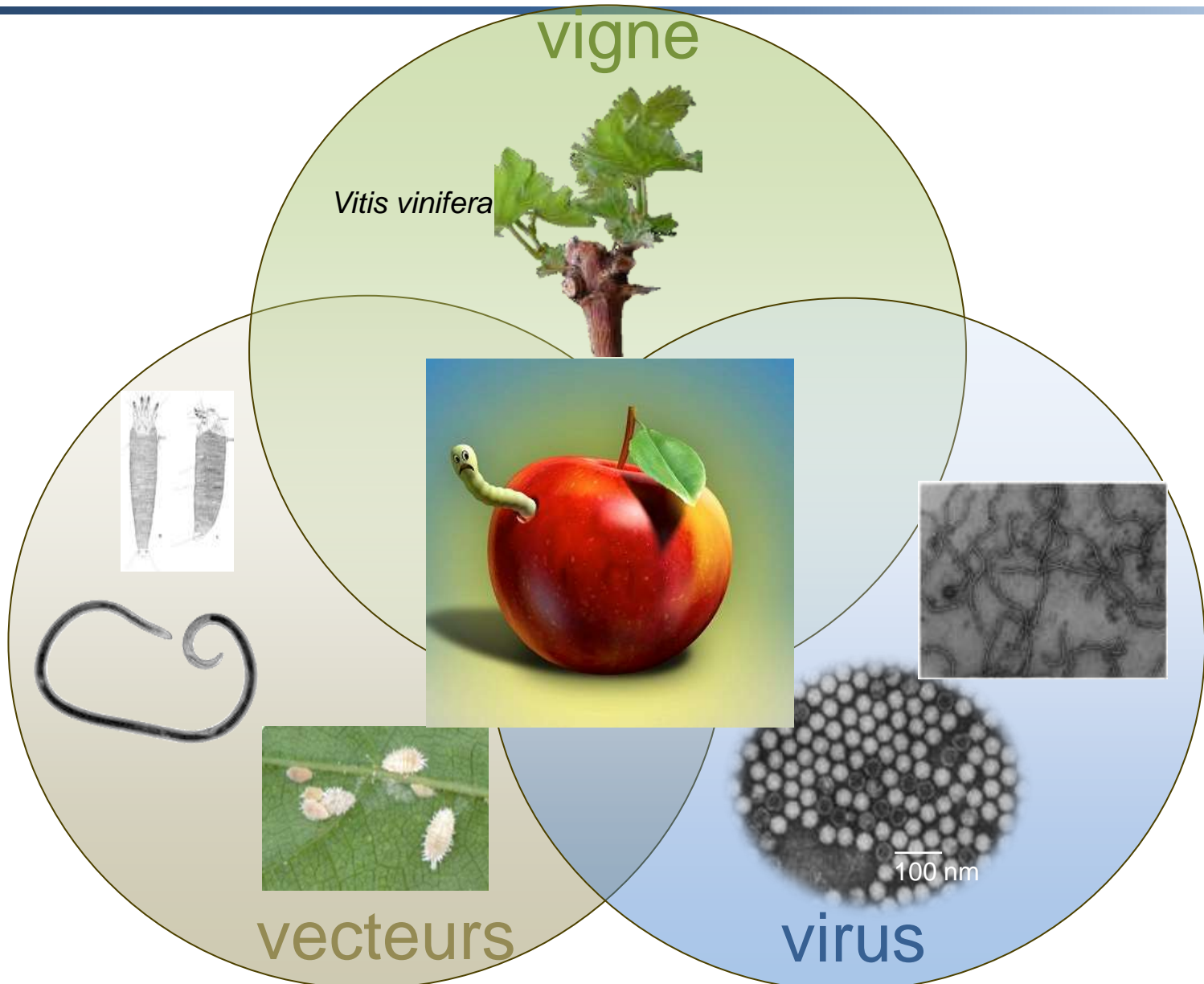
Taille 0,1 mm

Répartition mondiale





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



Court-noué/ Reisingkrankheit



P. Bass ©
1994



2014

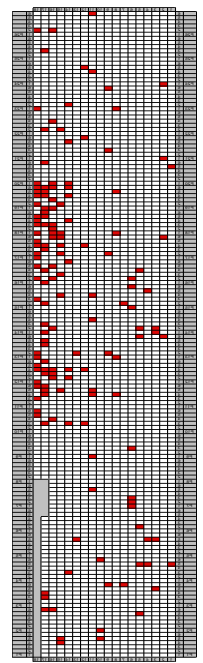


C. Ritzenthaler ©

Cramant, Champagne, France

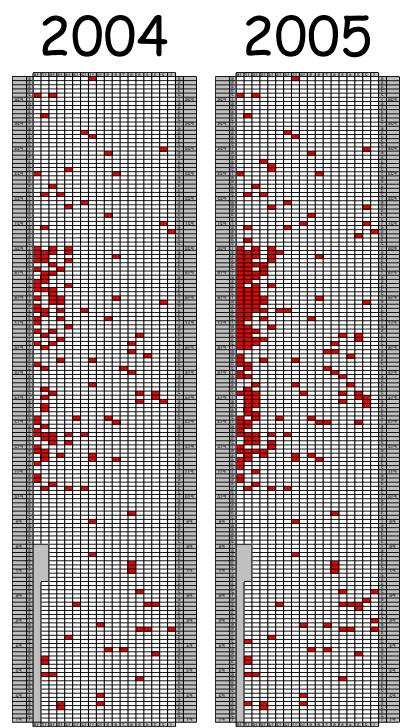
Enroulement / Blattrollkrankheit

2004



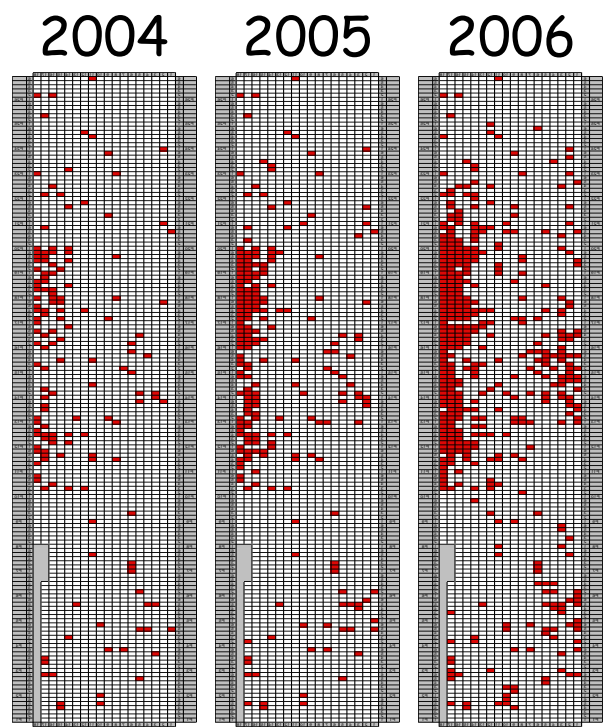
Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit



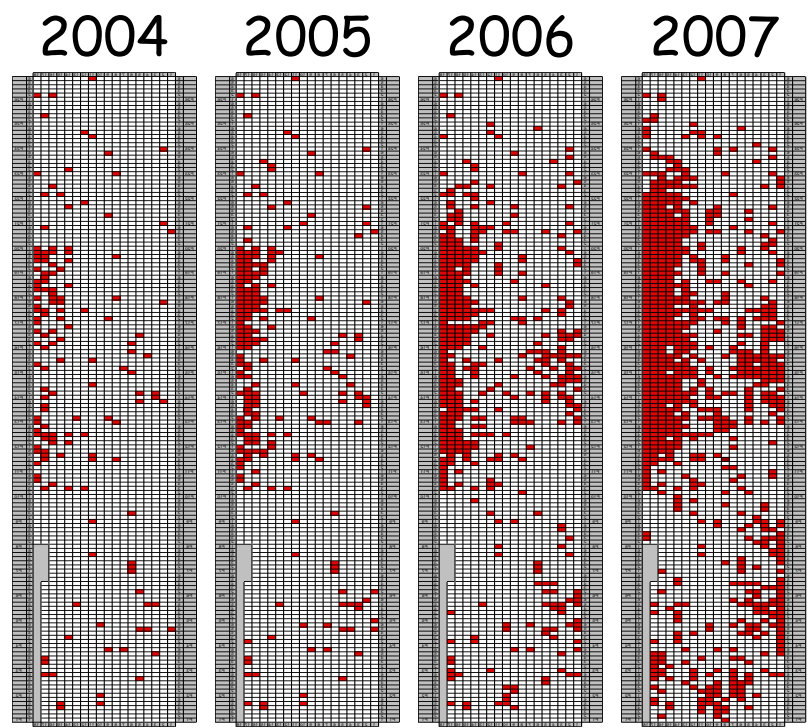
Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit



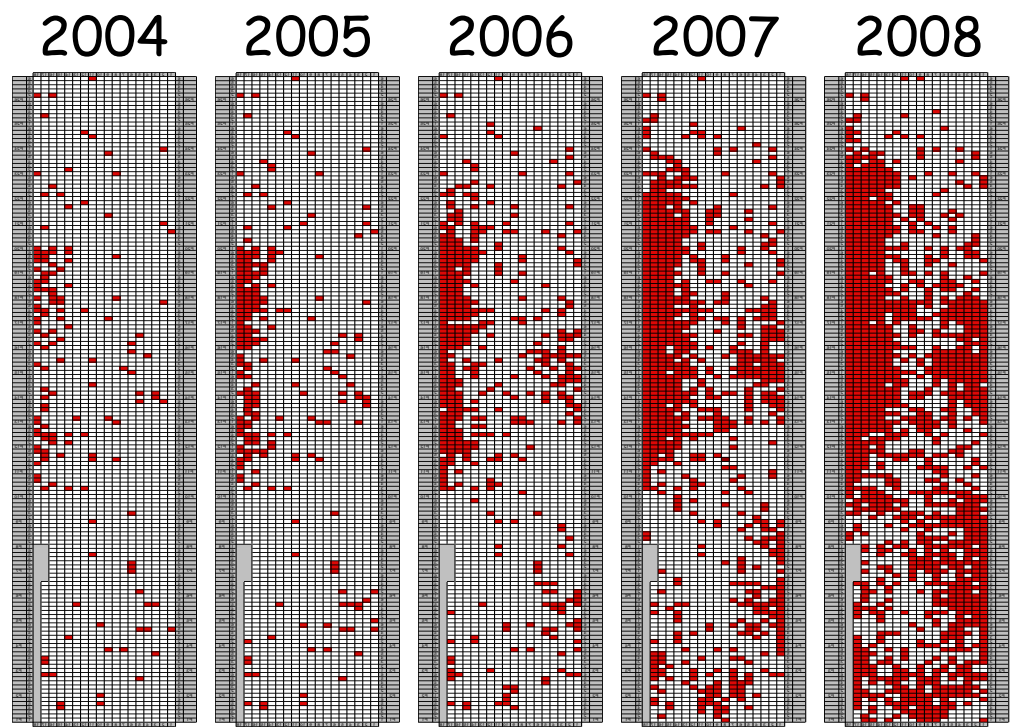
Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit



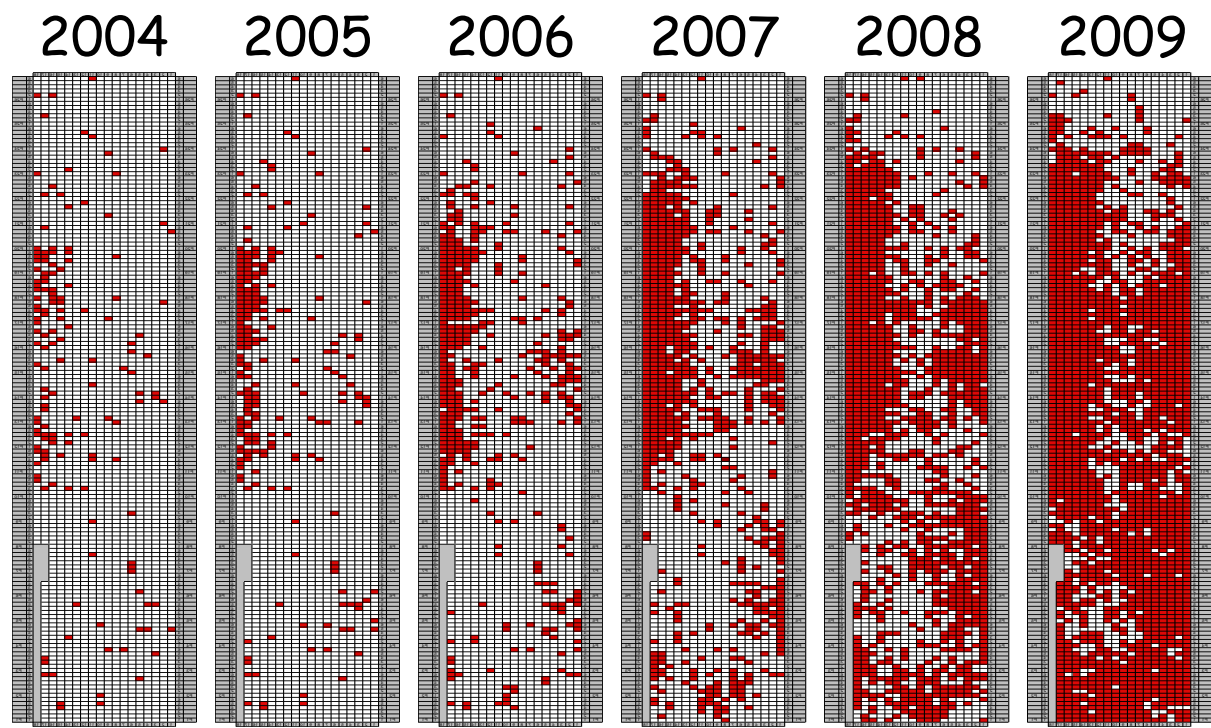
Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit



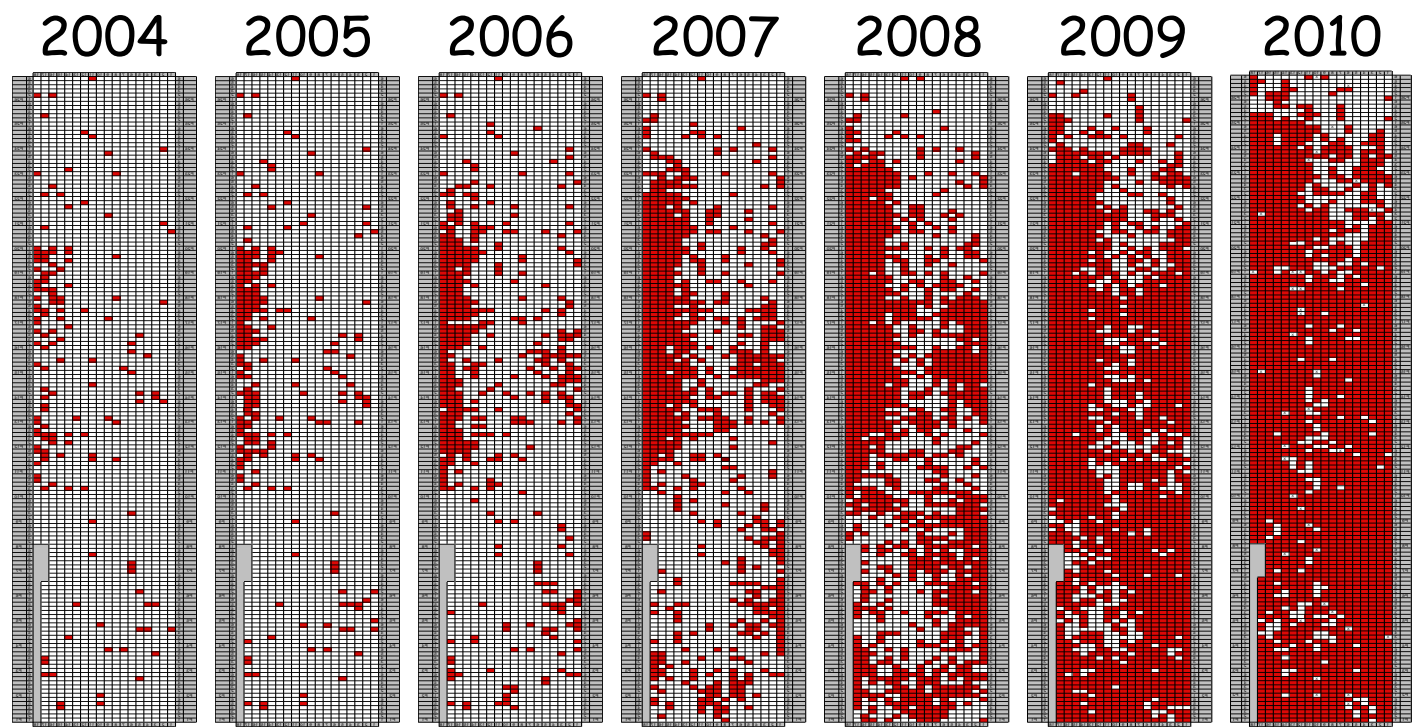
Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

Enroulement / Blattrollkrankheit



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

Enroulement / Blattrollkrankheit

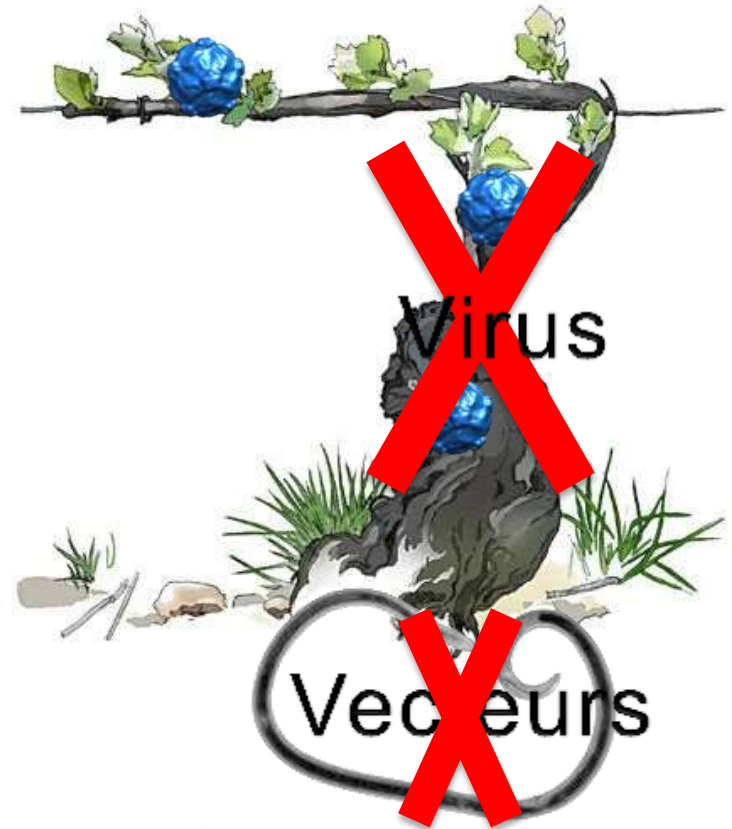


Dispersion naturelle du GLRaV-1 au vignoble (Le Maguet et al., 2012)

agir en préventif !



➔ Matériel sain (certifié)



➔ Détection des virus = **diagnostic**

Symptômes



Indexage



Moléculaire



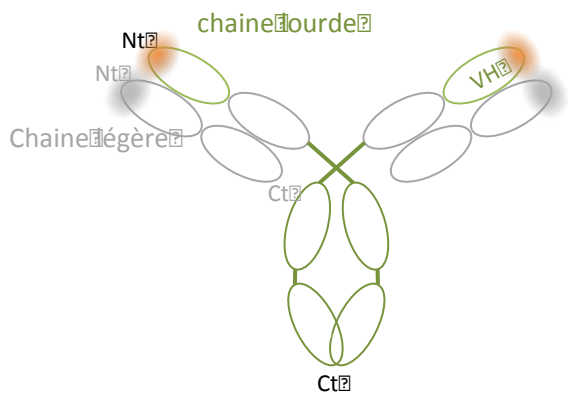
Sérologique



- 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

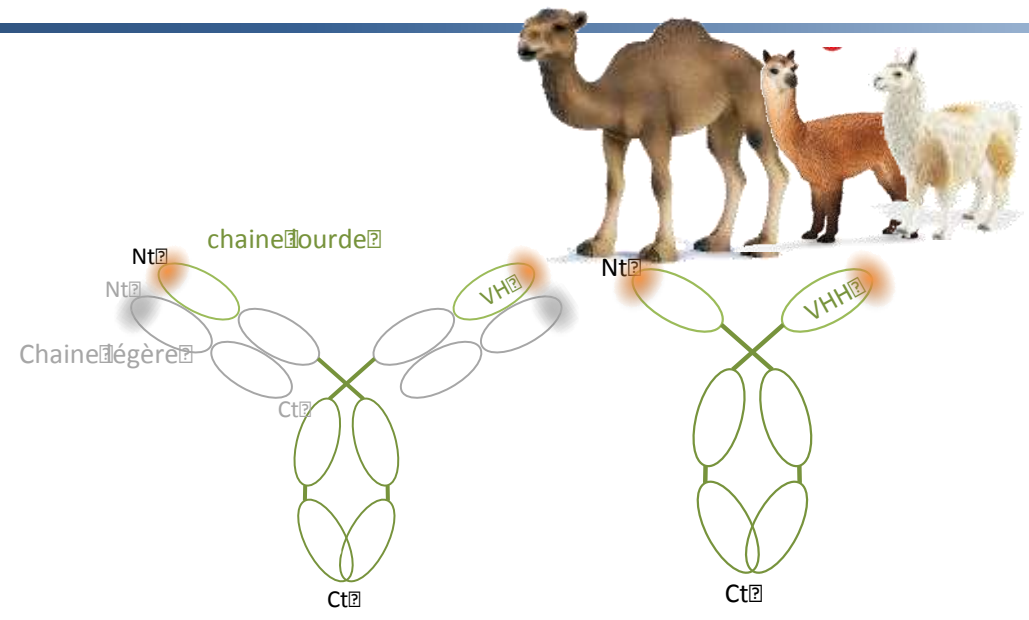
- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
- UNI FREIBURG
- Karlsruher Institut für Technologie
- DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
- Agro science
- JKI
- UNIVERSITÄT KOBLENZ-LANDAU
- CNRS
- UNIVERSITÉ HAUTE-ALSACE
- INRA SCIENCE & IMPACT
- SNi SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



Sérologique



ELISA



anticorps conventionnels

anticorps de camélidés

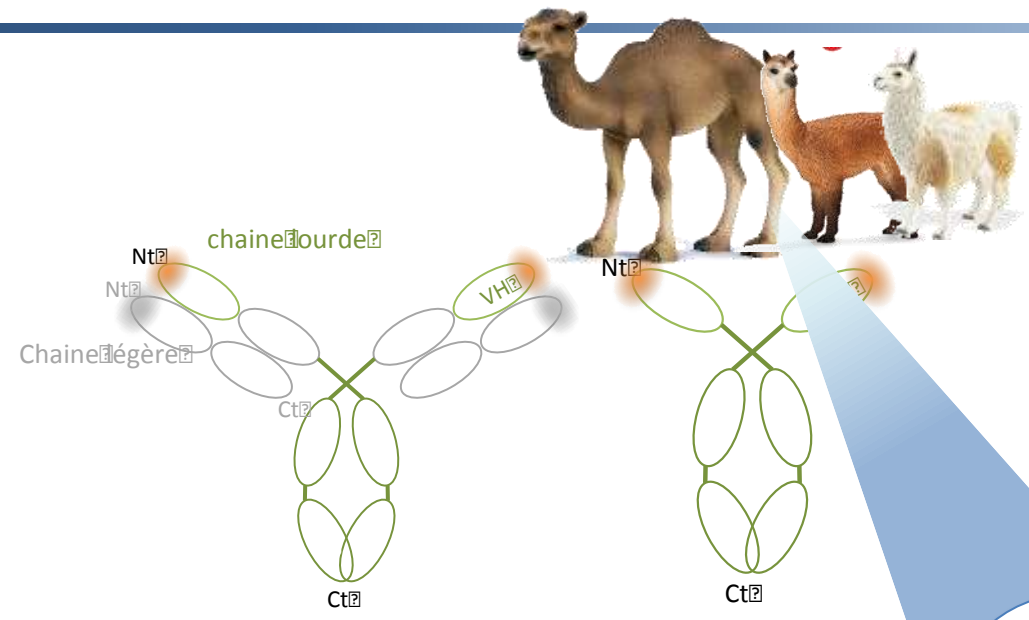
- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
- UNI FREIBURG
- Karlsruher Institut für Technologie
- DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
- Agro science
- JKI
- UNIVERSITÄT KOBLENZ-LANDAU
- CNRS
- UNIVERSITÉ HAUTE-ALSACE
- INRA SCIENCE & IMPACT
- SNi SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



Sérologique



ELISA



anticorps conventionnels

anticorps de camélidés



Nanobody®

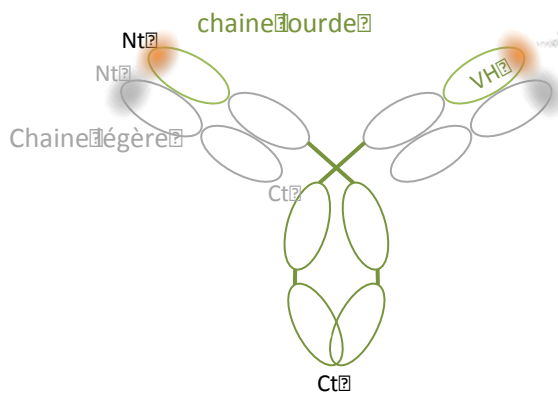
- STAATLICHES WEINBAUINSTITUT FREIBURG
-
- Karlsruher Institut für Technologie
- DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
-
- Johann Keule-Koch Institut
-
-
-
- SCIENCE & IMPACT
- SWISS NANOSCIENCE INSTITUTE



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



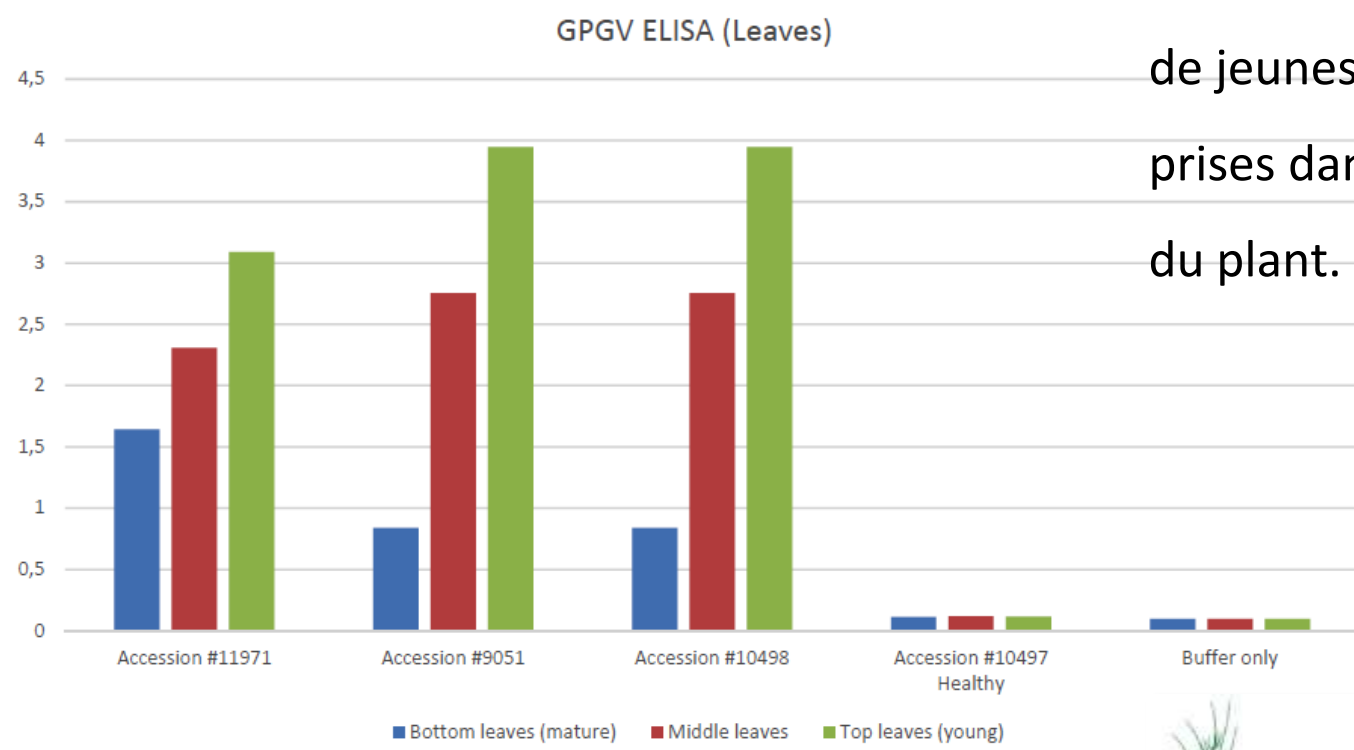
- GPGV est un Trichovirus family Betaflexiviridae) découvert en 2012 (Giampetruzzi et al, 2012).
- Effets sur la vigne encore peu clairs; le lien entre l'infection virale et l'apparition des symptômes est encore mal caractérisé.
- Infection confirmée sur au moins 28 variétés de vigne.
- Présent dans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

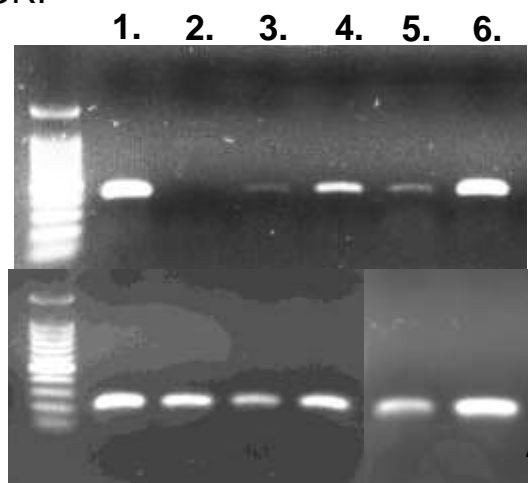


Jean-Sébastien Reynard, Agroscope, Suisse



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

RT-PCR:



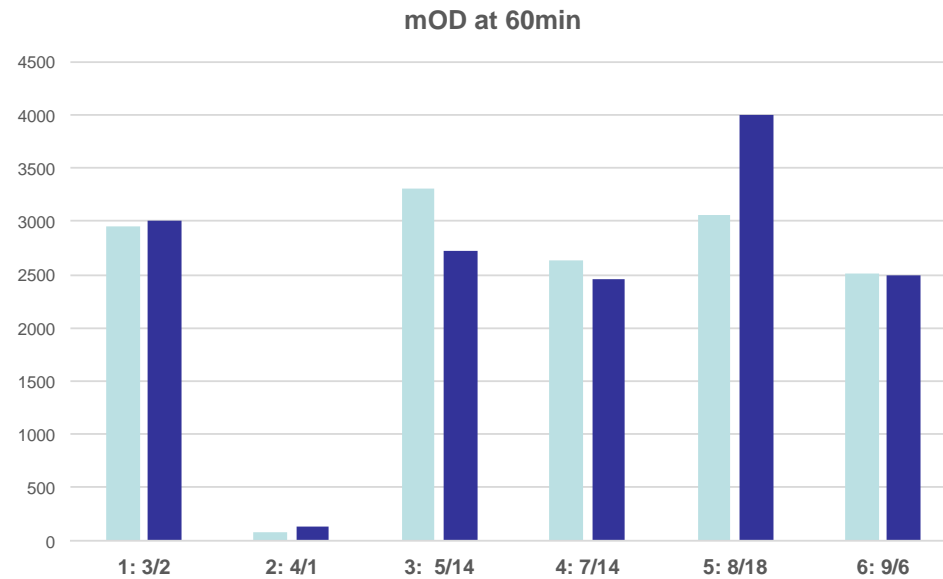
Primers:
CP-F2/CP-R2
Amplicon: 430bp

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 Rheinland-Pfalz
■ 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.



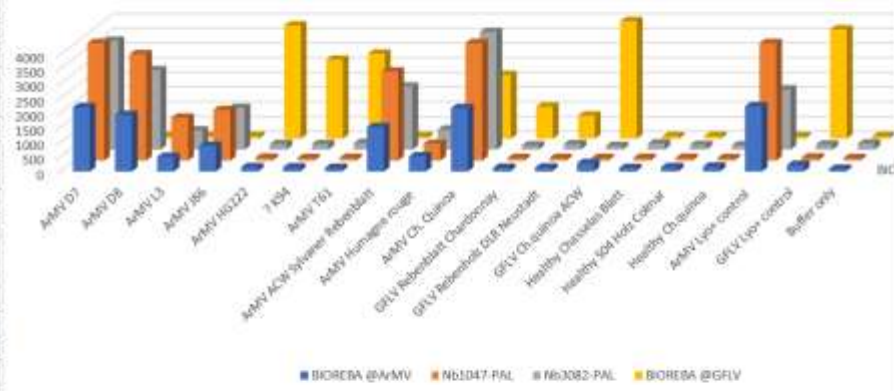


Incorporation de «Nanobodies» dans des kits de diagnostic



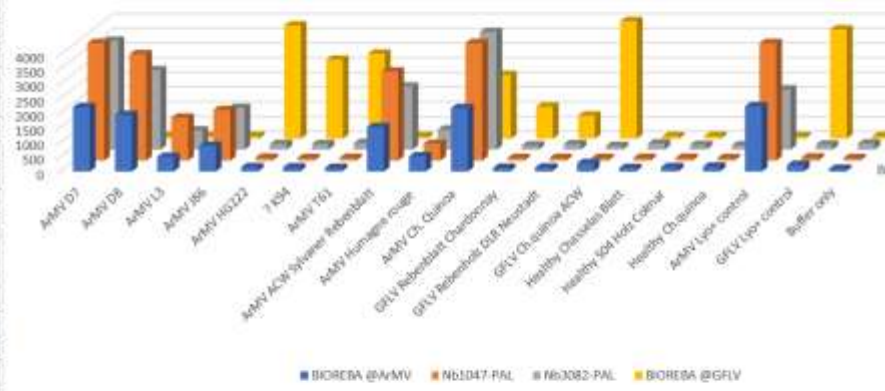
ArMV: Utilisation d'un «Nanobody» comme réactif conjugué.

| 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 7 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

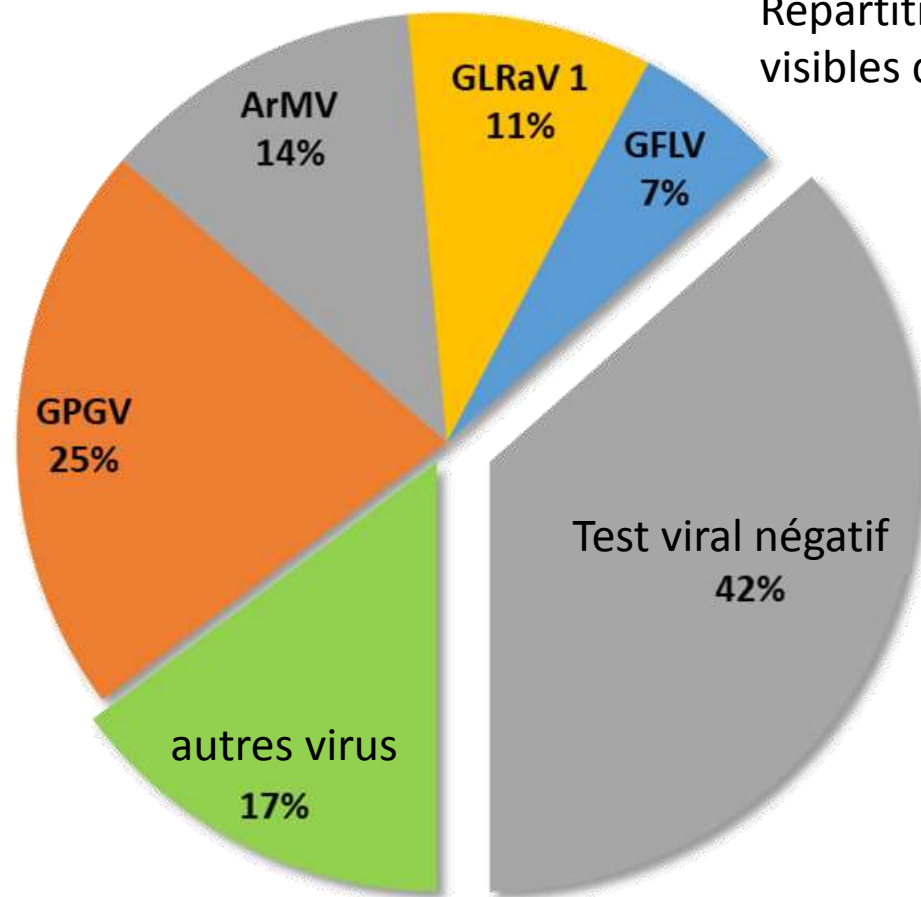


Noemi Meßmer



Distribution Bade-Wurtemberg

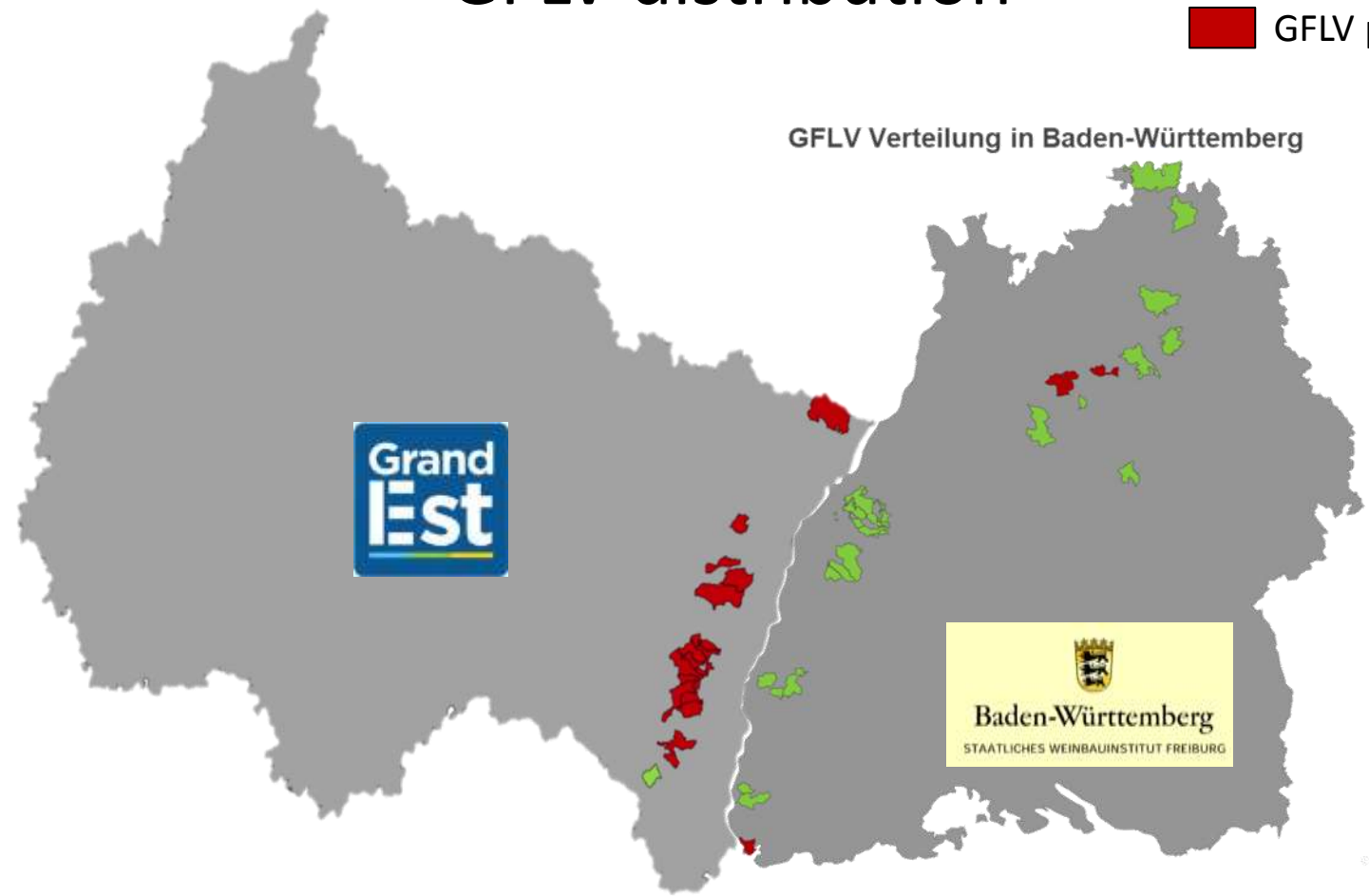
Répartition du virus dans des zones bien visibles du Bade-Wurtemberg



27 places
80 zones
654 vignes

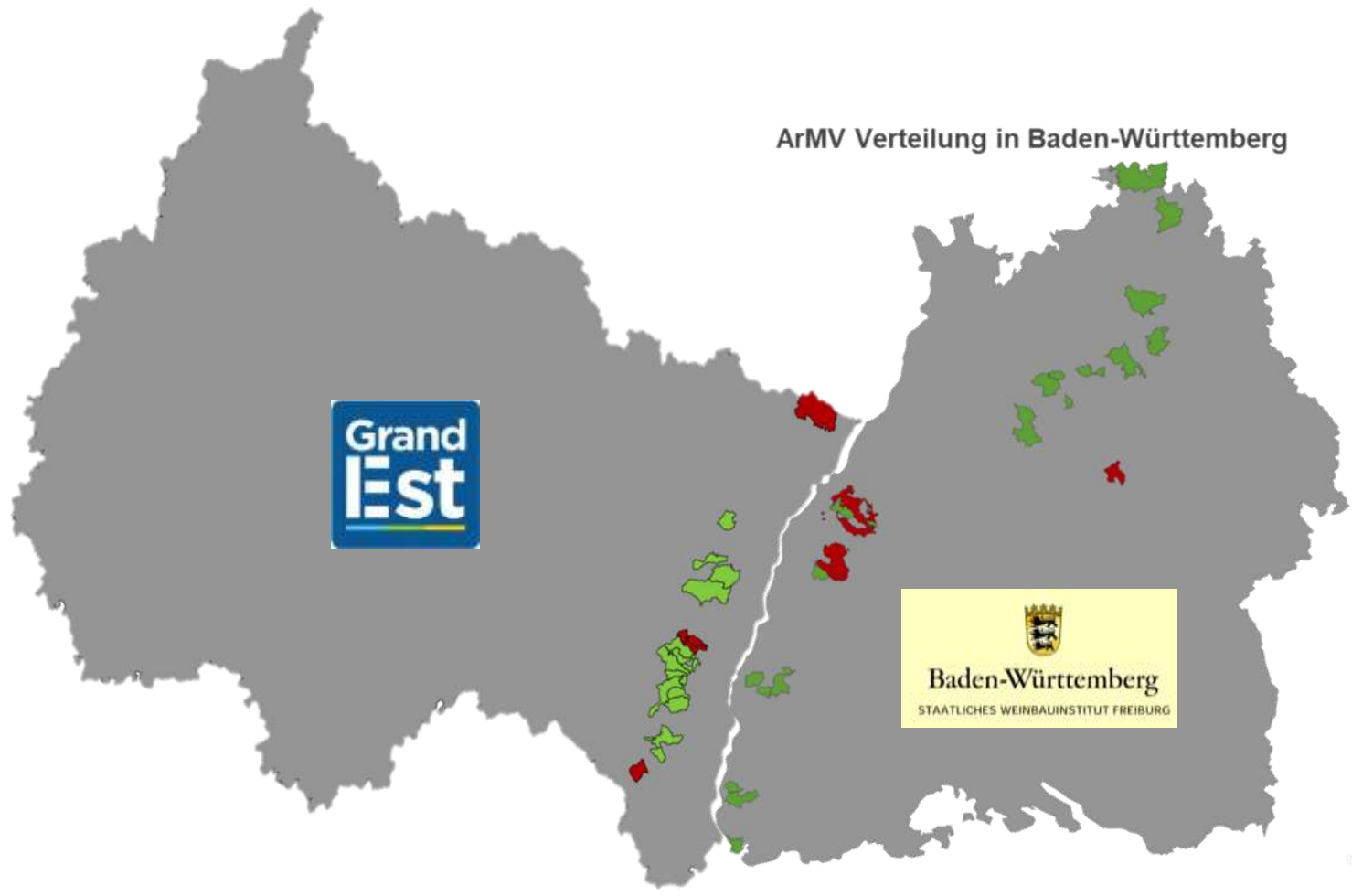
GFLV distribution

- GFLV negativ
- GFLV positiv



ArMV distribution

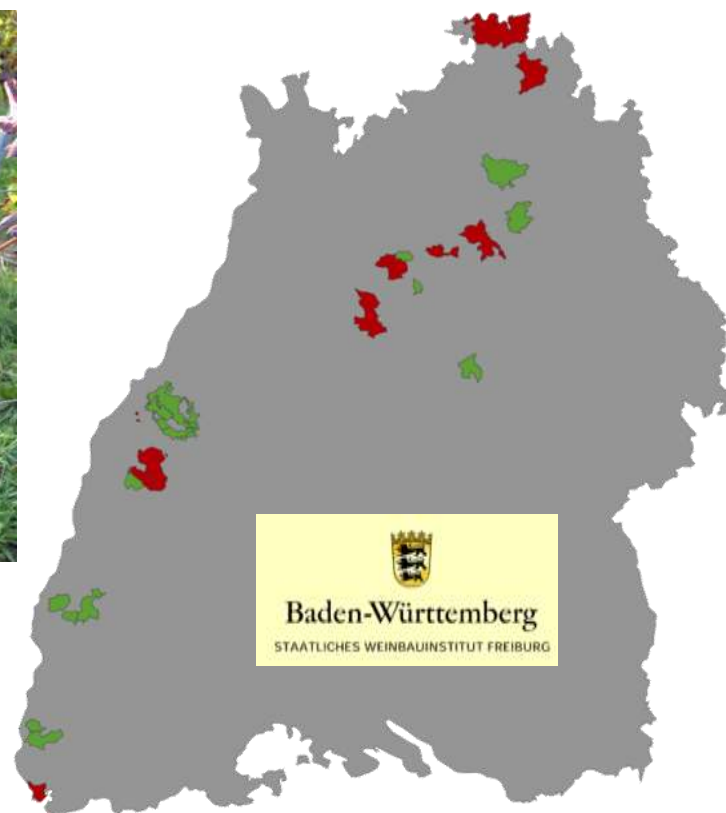
- ArMV negativ
- ArMV positiv



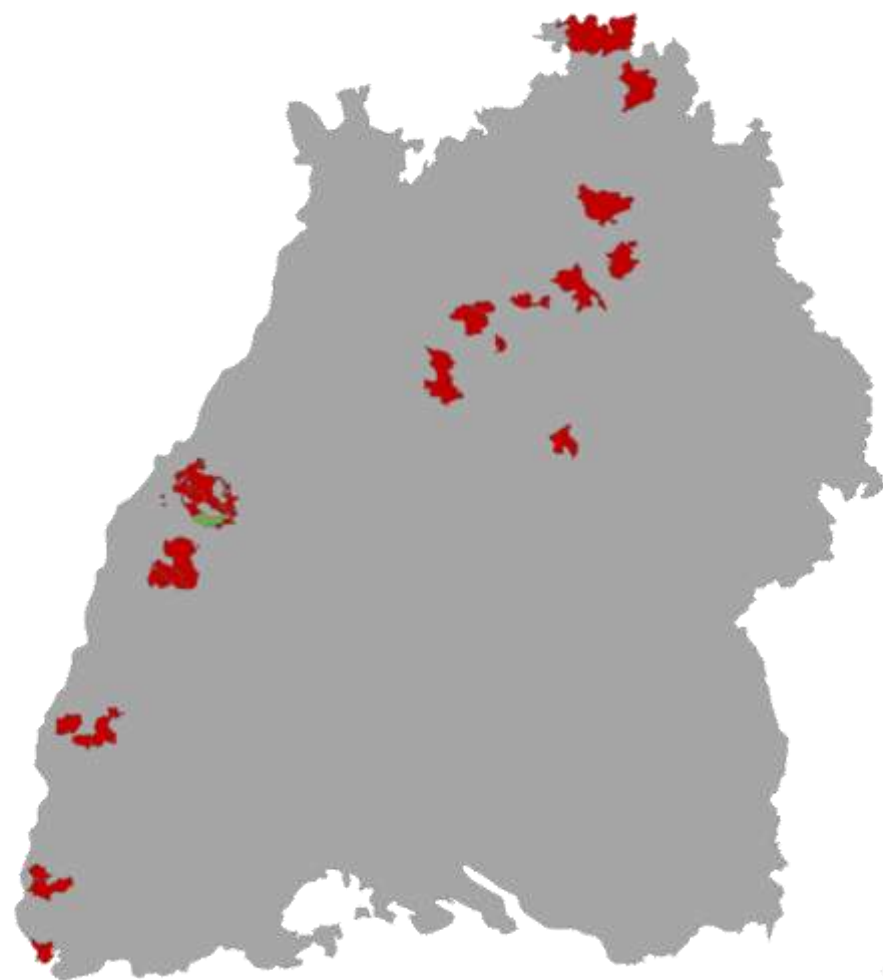
GLRaV-1 distribution

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 | alle Riesling Pflanzen sind bis 2019 gesund | | | | | | | | | | | | | | | | Durchgang | |
| | oben | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Stock 6 | positiv | 1 negativ | positiv | 1 negativ | positiv | positiv | 1 tot | positiv | 1 tot | 1 tot | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | Wasserstaffel rechts |
| Stock 5 | positiv | 1 negativ | positiv | 1 negativ | positiv | positiv | 1 tot | positiv | 1 tot | 1 tot | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | Wasserstaffel rechts |
| Stock 4 | positiv | 1 negativ | positiv | 1 negativ | positiv | positiv | 1 tot | positiv | 1 tot | 1 tot | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | Wasserstaffel rechts |
| Stock 3 | positiv | 1 negativ | positiv | 1 negativ | positiv | positiv | 1 tot | positiv | 1 tot | 1 tot | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | Wasserstaffel rechts |
| Stock 2 | positiv | 1 negativ | positiv | 1 negativ | positiv | positiv | 1 tot | positiv | 1 tot | 1 tot | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | Wasserstaffel rechts |
| Stock 1 | positiv | 1 negativ | positiv | 1 negativ | positiv | positiv | 1 tot | positiv | 1 tot | 1 tot | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | positiv | Wasserstaffel rechts |
| 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 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | 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:

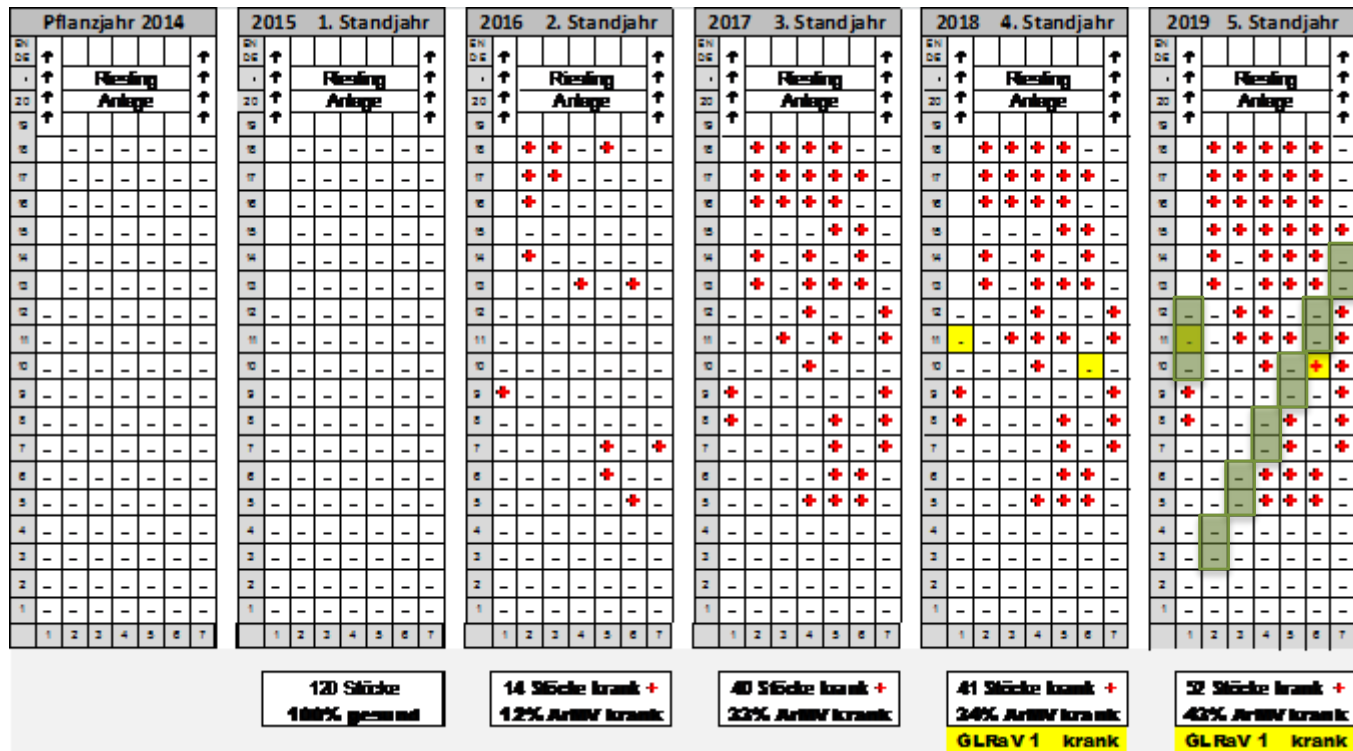
- WBI STAATLICHER WEINBAUINSTITUT FREIBURG
- UNI FREIBURG
- KIT Karlsruher Institut für Technologie
- Rheinland-Pfalz DIENSTLEISTUNGSZENTRUM LÄNDLICHER RAUM RHEINPFALZ
- Agro science
- JKI Julius Kühn-Institut Federal Research Centre for Cultivated Plants
- UNIVERSITÄT KOBLENZ · LANDAU
- CNRS
- UNIVERSITÉ 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



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 }

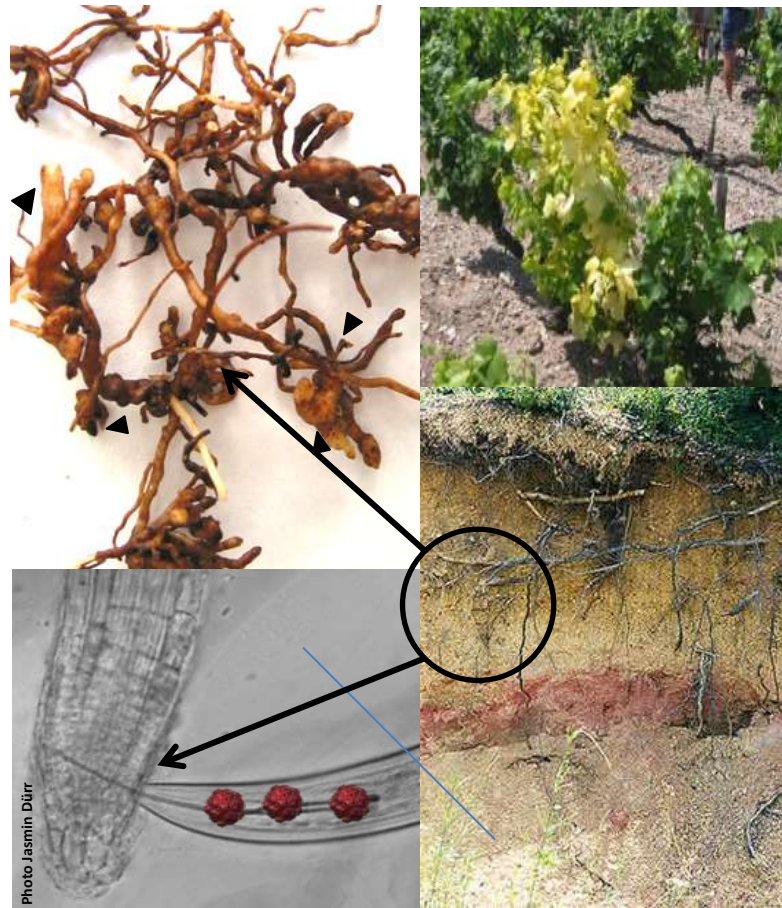


Photo Jasmin Dürr



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 !

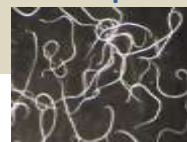
Greffage

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



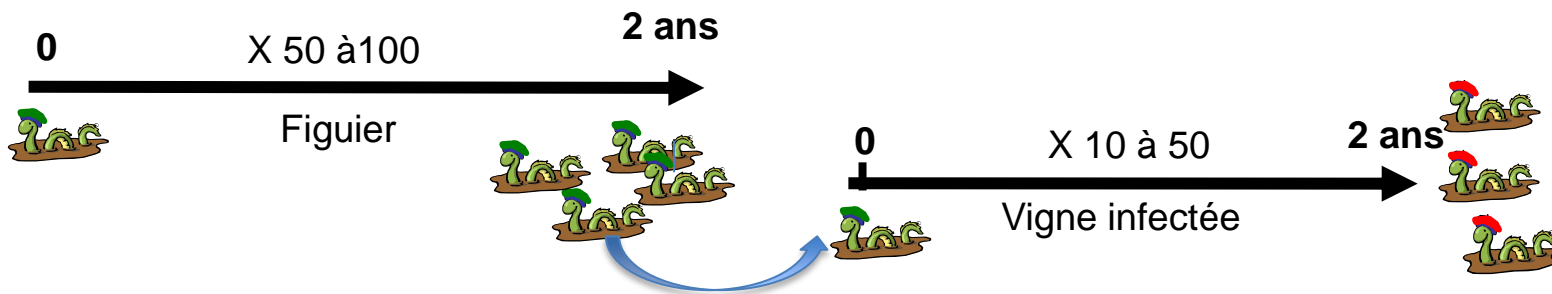
Multiplication de nématodes porteurs de virus



sans virus



avec virus

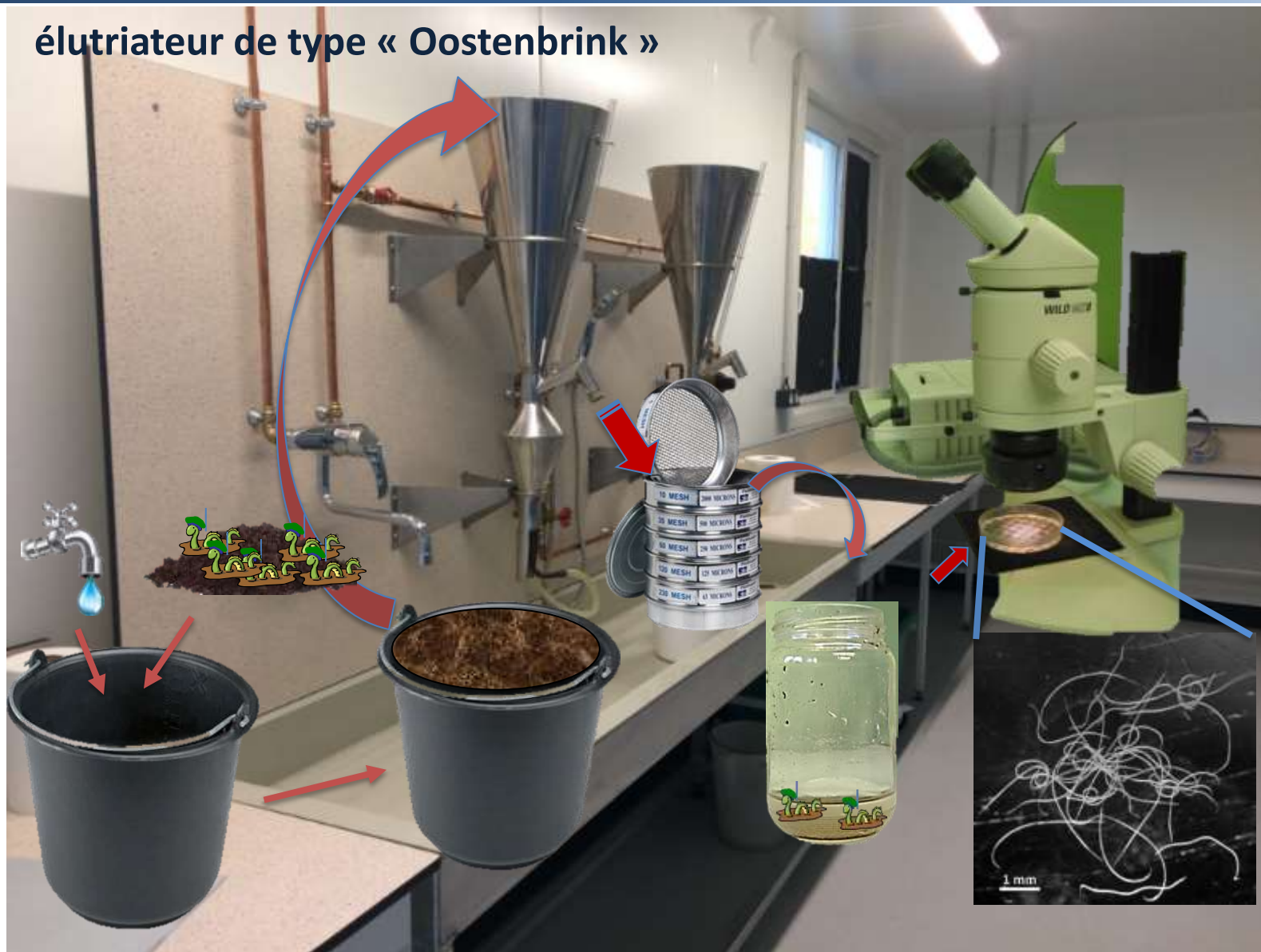




éluviateur de type « Oostenbrink »



éluviateur de type « Oostenbrink »



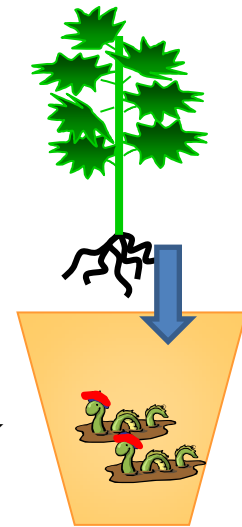


Vigne à tester

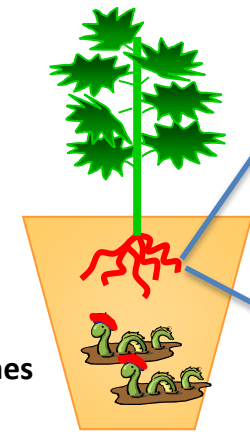
Nématodes avec virus



200-250
X. index



8 semaines

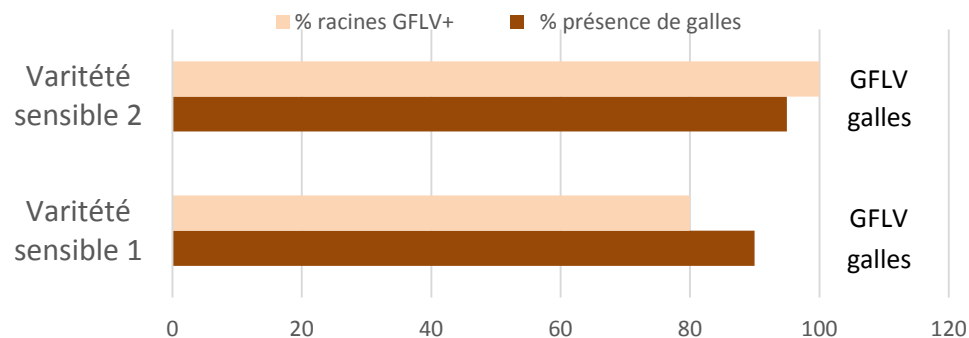


ELISA
GFLV



galles

transmission

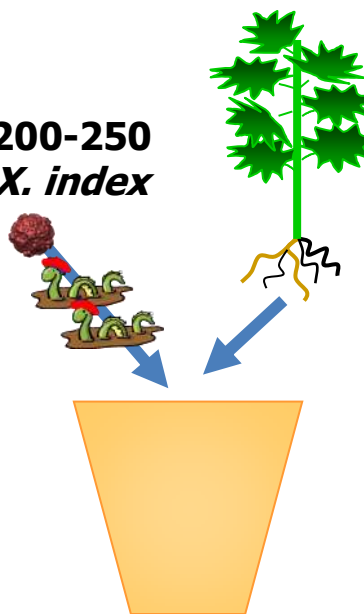


Taux de transmission du virus de 80 à 100%.



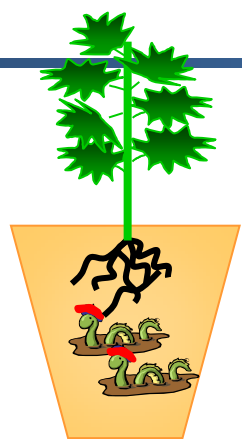
Boutures
de vigne
à tester

200-250
X. index

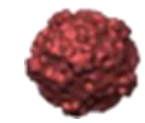


Premiers résultats...

Nemadex AB

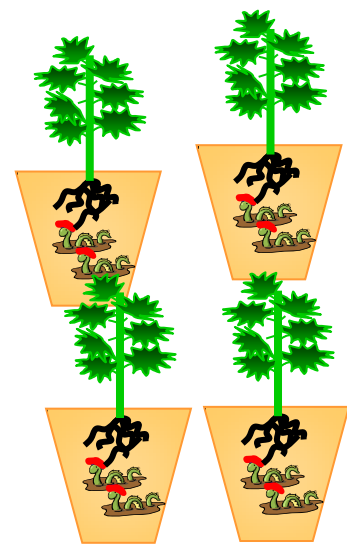


10 %



10 à 30% GFLV

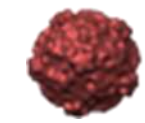
10 variétés peu sensible à *Xiphinema index*



2 variétés



10 %



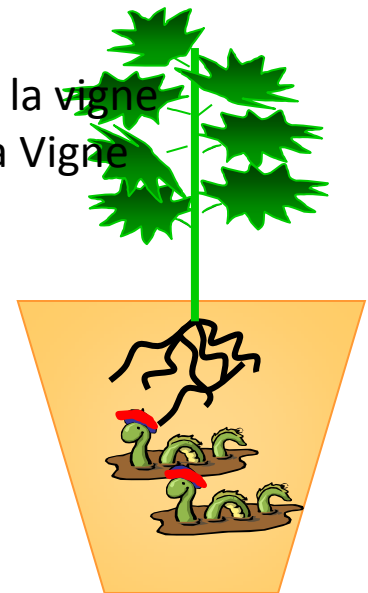
0%

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

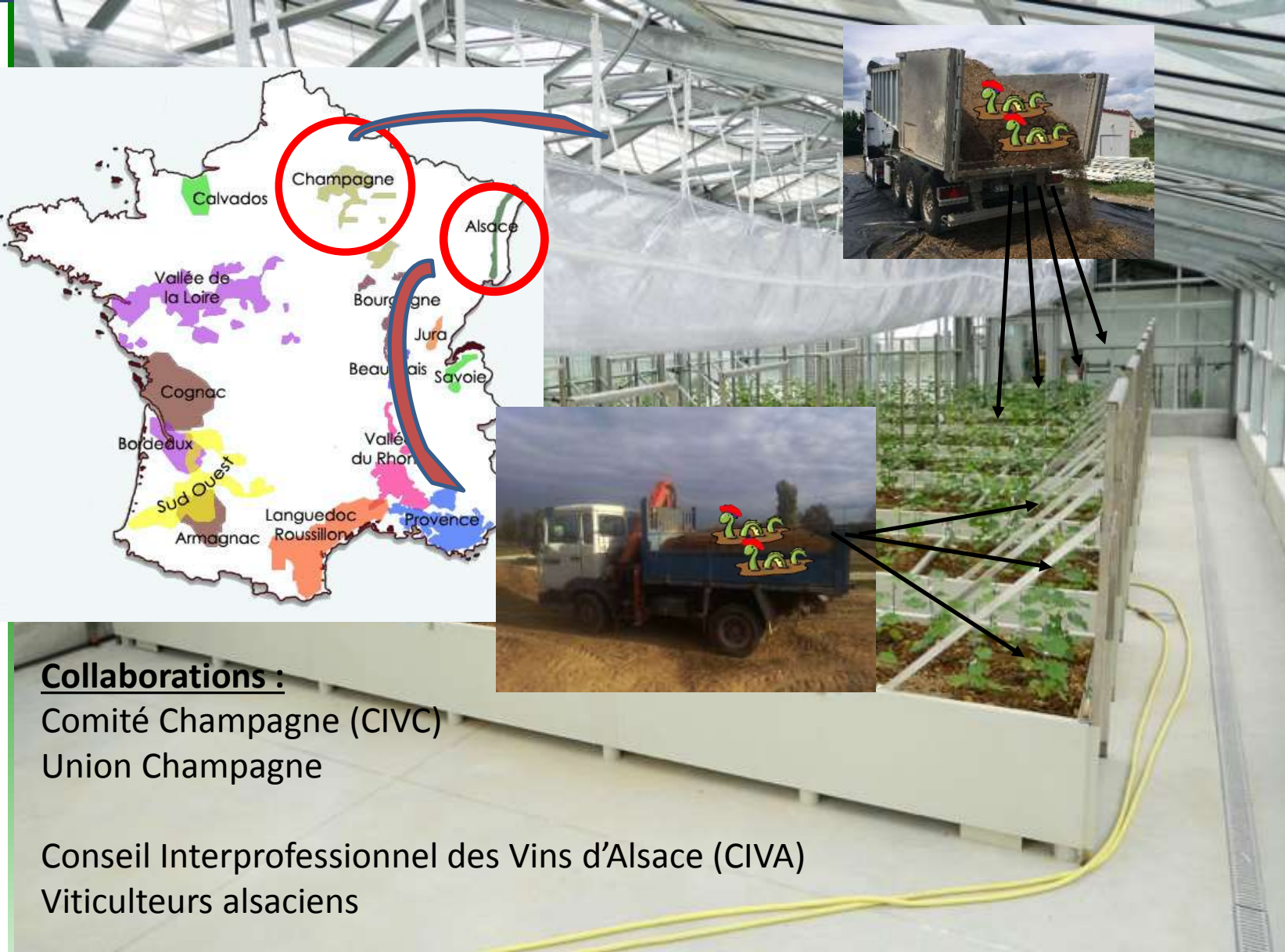
3. Explorer la résistance chez les *Vitis Sylvetris*
inconnue à ce jour!
 - ⇒ Collaboration Université de Haute Alsace (LVBE)
Karlsruhe Institut für Technologie (KIT)





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

Unités de phénotypage en milieu confiné



Capacité accueil de 1200 - 1300 plantes

2 pathosystèmes

Elisa en juillet 2018

| Region | Unité | Elisa en juillet 2018 | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|-------|-----------------------|---|----|----|----|----|----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 4 | 7 | 10 | 13 | 16 | 19 | 22 | 25 | 28 | 31 | 34 | 37 | 40 | 43 | 46 |
| 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 | |
| | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 | 27 | 30 | 33 | 36 | 39 | 42 | 45 | 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 | |
| | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 | 27 | 30 | 33 | 36 | 39 | 42 | 45 | 48 | |
| | 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 | 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 | |
| | 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 | |
| | 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 | |
| | 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 |

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 | |

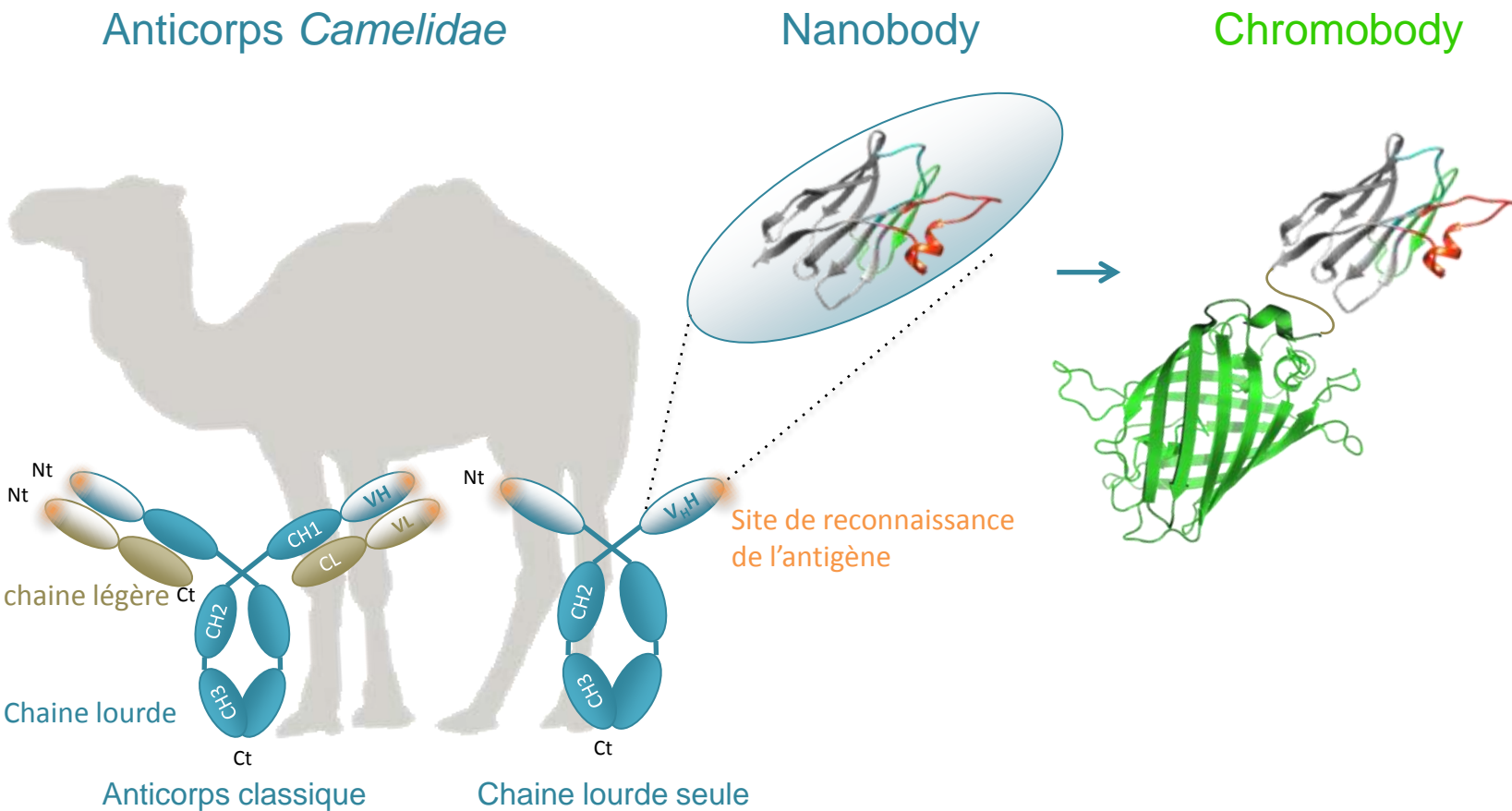
Terre de Champagne

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 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 | |

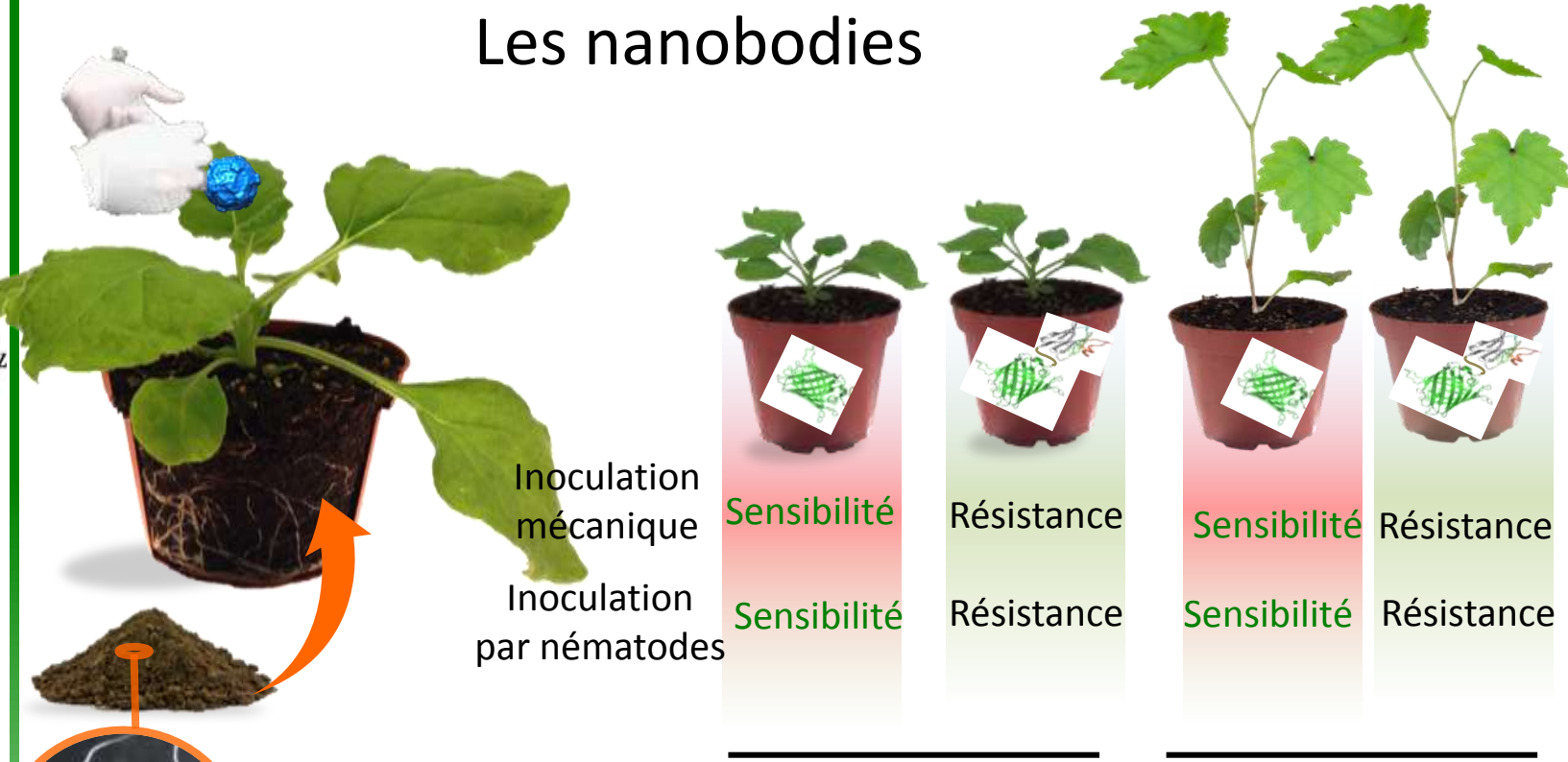
| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| C | 1 | 4 | 7 | 10 | 13 | 16 | 19 | 22 | 25 | 28 | 31 | 34 | 37 | 40 | 43 | 46 | 49 |
| | 2 | 5 | 8 | 11 | 14 | 17 | 20 | 23 | 26 | 29 | 32 | 35 | 38 | 41 | 44 | 47 | 50 |
| | 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 |

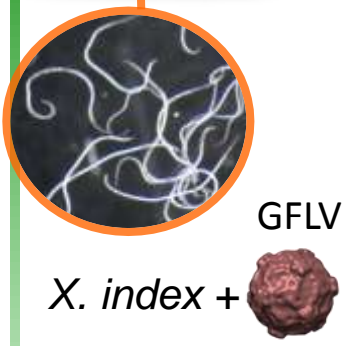


Les nanobodies



N. benthamiana

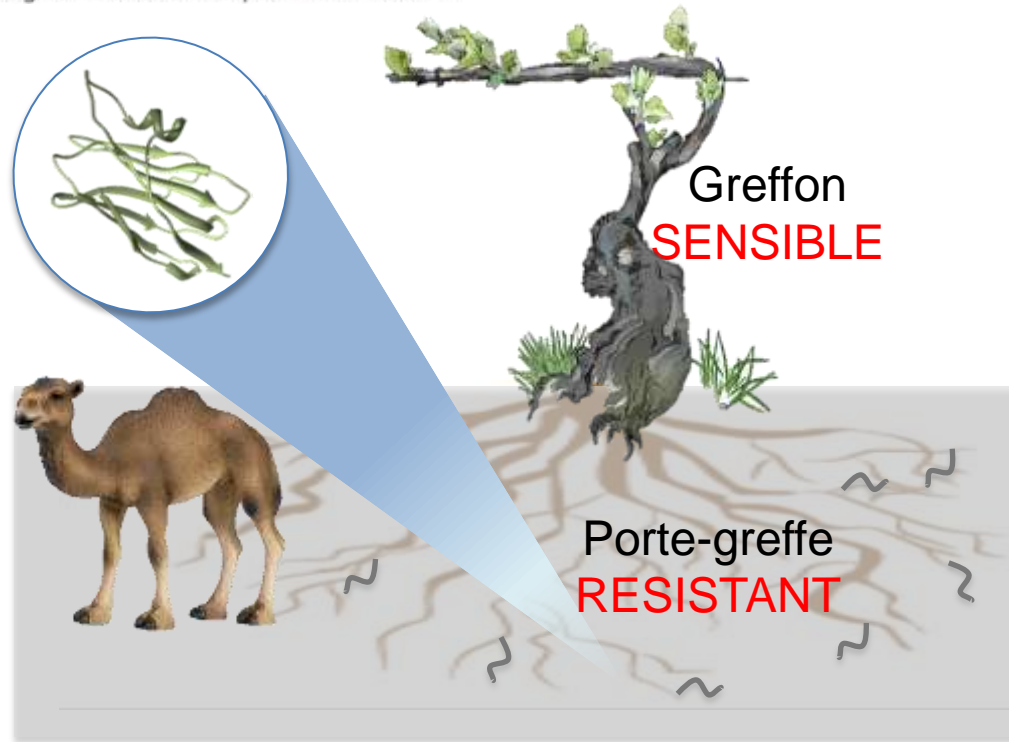
Vigne



⇒ Activité antivirale vis-à-vis du GFLV

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 Muylderms⁶, 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)

