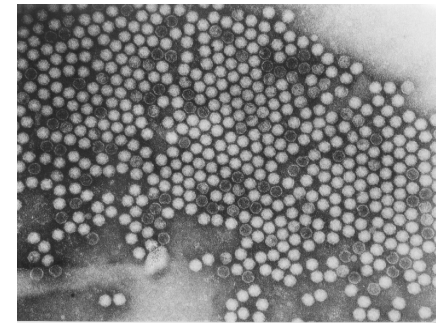
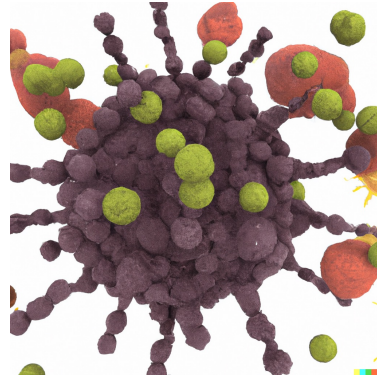


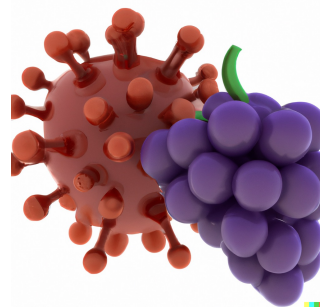


# Diplôme National D'Œnologue



## Virus - Vigne - Détection

2022-2023



nathalie.chazal@irim.cnrs.fr

**UMR 9004 CNRS UM**

*Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier (IRIM)*

*1919, Route de Mende Montpellier*

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

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

..naissance du vin

..aujourd'hui



-500 000

-120 000

-8 000

-5 400

2023

Paléolithique inférieur

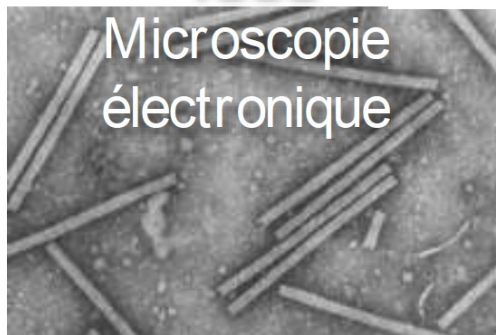
Néolithique

## La virologie, une discipline récente

1898



1939



NATURE

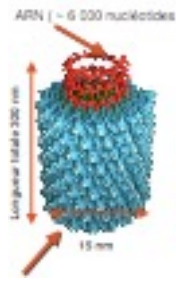
August 13, 1960

VOL. 187



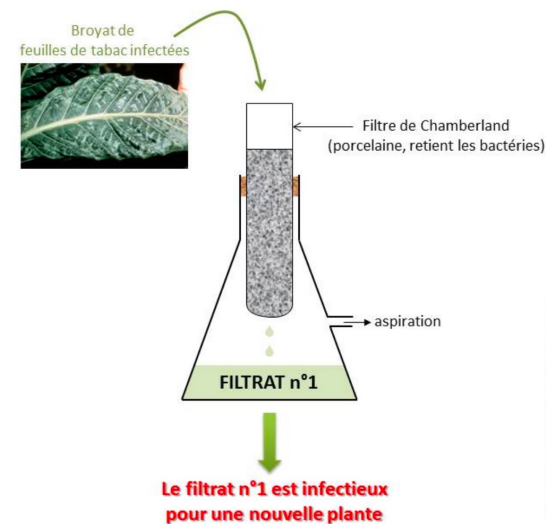


# Un peu d'histoire...



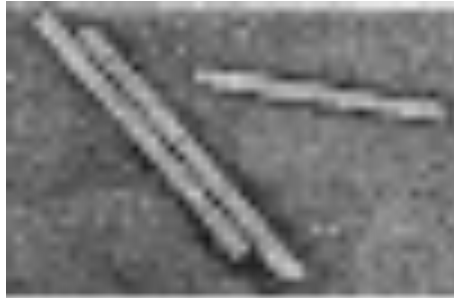
- ✓ Dimitri Ivanowsky (1864-1920) : Ultra-filtrat de la sève provenant de plants contaminés : transmission de la maladie aux plants sains.
- ✓ Martinus Beijerinck (1851-1931) : L'agent responsable de la mosaïque du Tabac ne peut se répliquer que dans un tissu vivant. "*contagium vivum fluidum* ».
- ✓ 1936 Bawden démontre que le virus de la mosaïque du Tabac est constitué : d' un ac. nucléique + protéine

**Virus = (liquide visqueux, poison)**



# Virus & Chimie 1929-1956

- 1927-1931 : Purification du virus de la mosaïque du Tabac
- 1935 : Cristallisation & micrographie électronique du TMV
- 1963 : ARN = information génétique du TMV



## Définition de Lwoff (1953)

- 1) Le virion ne possède qu'un seul type d'acide nucléique : soit de l'ARN, soit de l'ADN;
- 2) Le virion se reproduit à partir de son seul acide nucléique; alors que les autres êtres se reproduisent à partir de la somme de leurs constituants;
- 3) Le virion est incapable de croître et de subir des divisions binaires;
- 4) Le virion n'a aucune information génétique concernant les enzymes du métabolisme intermédiaire (susceptibles de produire de l'énergie);
- 5) La multiplication des virions implique l'utilisation des structures de la cellule-hôte.

# Définition & Virus

## Virus ?

### Parasite intra-cellulaire obligatoire

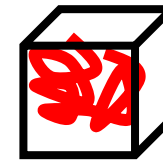
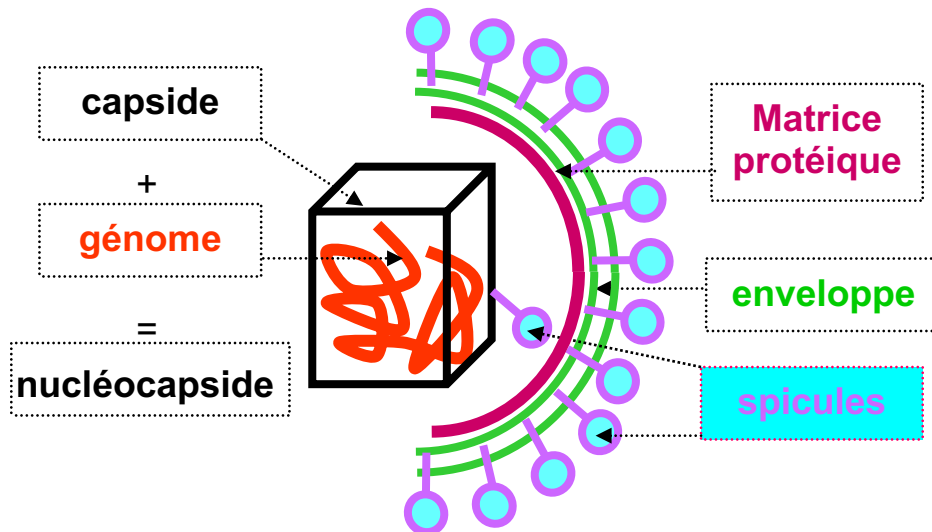
(animaux, végétaux, champignons, protistes, bactéries et virus)

### Structure spécifique nucléoprotéique

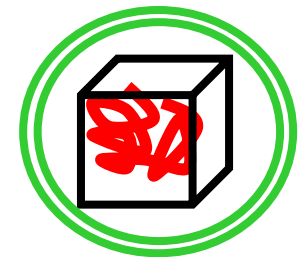
1 type d'acide nucléique (ARN ou ADN) associé à une protection protéique (capside) et, parfois, une enveloppe lipidique

Eléments constants

Eléments inconstants



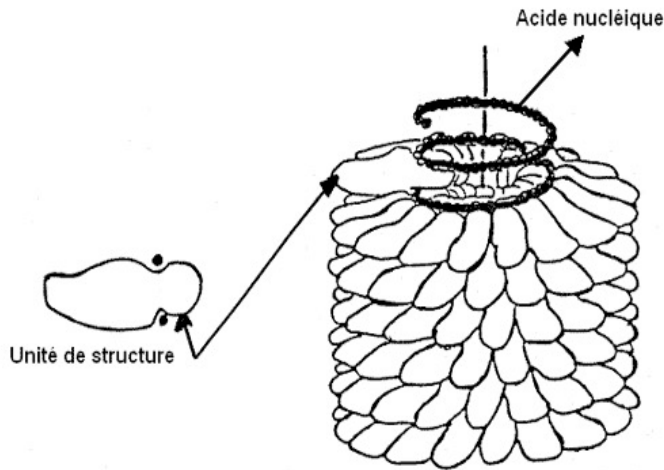
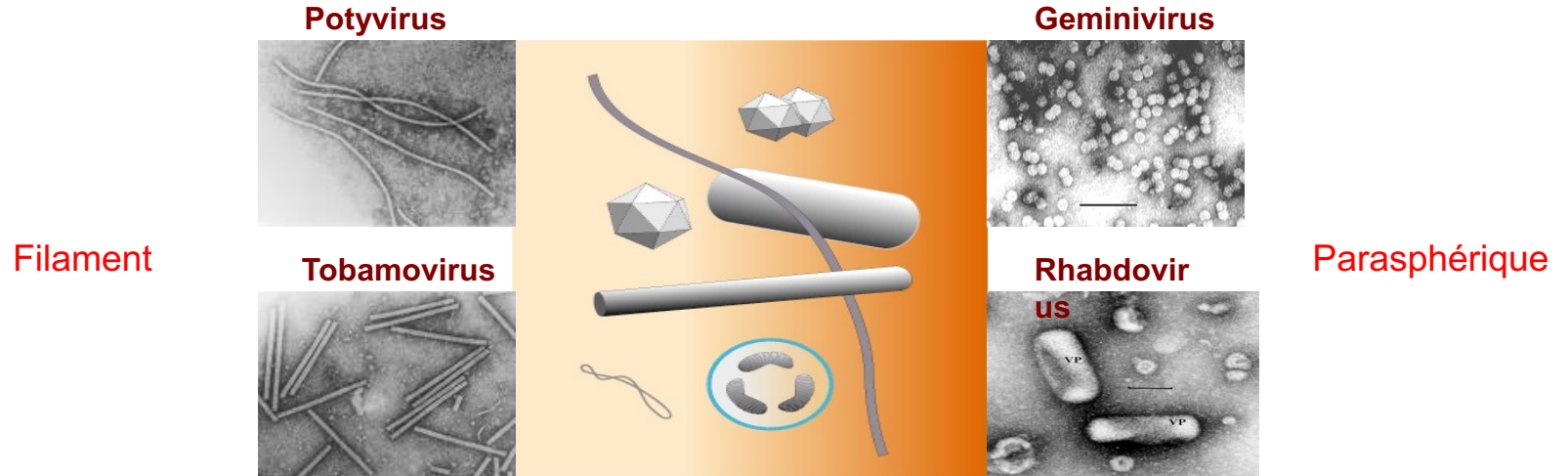
Virus nus



Virus enveloppés

# Formes et structures des virus des plantes

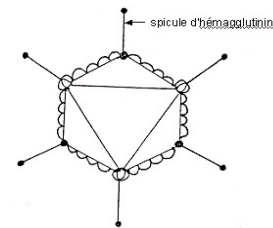
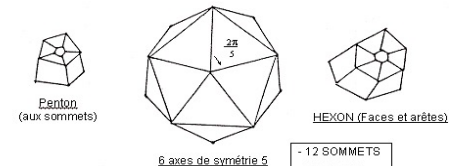
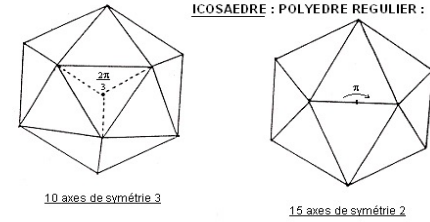
## 2 types majeurs de symétrie : hélicoïdale ou icosaoédrique



### Symétrie hélicoïdale :

- Répétition de sous-unités protéiques constituant un "manchon"
- Le manchon est rigide → forme tubulaire du virus
- Le manchon est flexible → structure enroulée sur elle-même → forme sphérique

### ICOSAEDRE : POLYEDRE REGULIER :



# DESCRIPTION

## Virus ?

Matériel génétique ARN ou ADN protégé par une coque protéique = capsid

Capsid + Ac.nucléique

Enveloppé ou non

2 types majeurs de symétrie : hélicoïdale ou icosaédrique

### Spectre d'hôte des virus de plantes

Virus peuvent infecter de nombreuses plantes

Ex : « **ArMV** « **Arabis mosaïc virus** » (court-noué de la vigne), infecte aussi le houblon, la betterave etc...

Certains infectent une gamme d'hôte limitée d'espèces végétales

Ex : « **GFLV** « **Grapevine Fanleaf virus** » (court-noué de la vigne)

Premier virus de la vigne identifié en 1960

# Virus de la vigne et classification (2000)

Tableau 1. Les virus de la vigne et leur classification systématique (d'après [34] modifié)

Famille	Genre	Espèce
A. Virus appartenant à des genres classés en familles		
Bromoviridae	Alfavirus	Alfalfa mosaic (AMV)
	Cucumovirus	Cucumber mosaic (CMV)
	Ilarvirus	Grapevine line pattern (GLPV)
Bunyaviridae	Tospovirus	Tomato spotted wilt* (TSWV)
Comoviridae	Epilobavirus	Broadbean wilt (BBWV)
	<b>Nepovirus</b>	Arabis mosaic (ArMV)
	Court-noué	Artichoke italian latent (AILV)
		Blueberry leaf mottle (BBLMV)
		Grapevine bulgarian latent (GBLV)
		Grapevine chrome mosaic (GCMV)
		Grapevine fanleaf (GFLV)
		Grapevine tunisian ringspot (GTRV)
		Peach rosette mosaic (PRMV)
		Raspberry ringspot (RRV)
		Tobacco ringspot (TRSV)
		Tomato black ring (TBRV)
		Tomato ringspot (ToRSV)
		Strawberry latent ringspot (SLRSV)
Tombusviridae	Tombusvirus	Petunia asteroid mosaic (PAMV)
	Carmovirus	Grapevine algerian latent (GALV)
	Necrovirus	Carnation mottle (CarMV)
Closteroviridae	<b>Closterovirus</b>	Tobacco necrosis D (TNV-D)
	Enroulement	Grapevine leafroll associated 1 (GLRaV-1)
		Grapevine leafroll associated 2 (GLRaV-2)
		Grapevine leafroll associated 3 (GLRaV-3)
		Grapevine leafroll associated 4 (GLRaV-4)
		Grapevine leafroll associated 5 (GLRaV-5)
		Grapevine leafroll associated 6 (GLRaV-6)
		Grapevine leafroll associated 7 (GLRaV-7)
B. Virus appartenant à des genres qui ne sont pas classés en familles		
	Sobemovirus	Sowbane mosaic (SoMV)
	Potexvirus	Potato X (PVX)
	Tobamovirus	Tobacco mosaic (TMV)
		Tomato mosaic (ToMV)
	Trichovirus	Grapevine berry internal necrosis (GBINV)
	<b>Vitivirus</b>	Grapevine A (GVA)
	Complexe du bois strié	Grapevine B (GVB)
		Grapevine C (GVC)
		Grapevine D (GVD)
	Capillovirus	pas nommé
C. Virus qui ne sont pas classés taxonomiquement		
	<b>Famille : Tymoviridae</b>	Grapevine fleck (GfV)
	<b>Genre : Maculavirus</b>	Grapevine asteroid mosaic (GAMV)
	Marbrure	Grapevine ajinashika (GAV)
		Grapevine stunt (GSV)
		Grapevine labile rod-shaped (GLRSV)
		Rupestris stem pitting associated (RSPaV)
		Unidentified isometric grapevine (UIGV)

\* Caractérisation incertaine.

Plus de 64 virus décrits pour la vigne + 10 maladies de type viral à l'étiologie incertaine

Cf. ICTV !



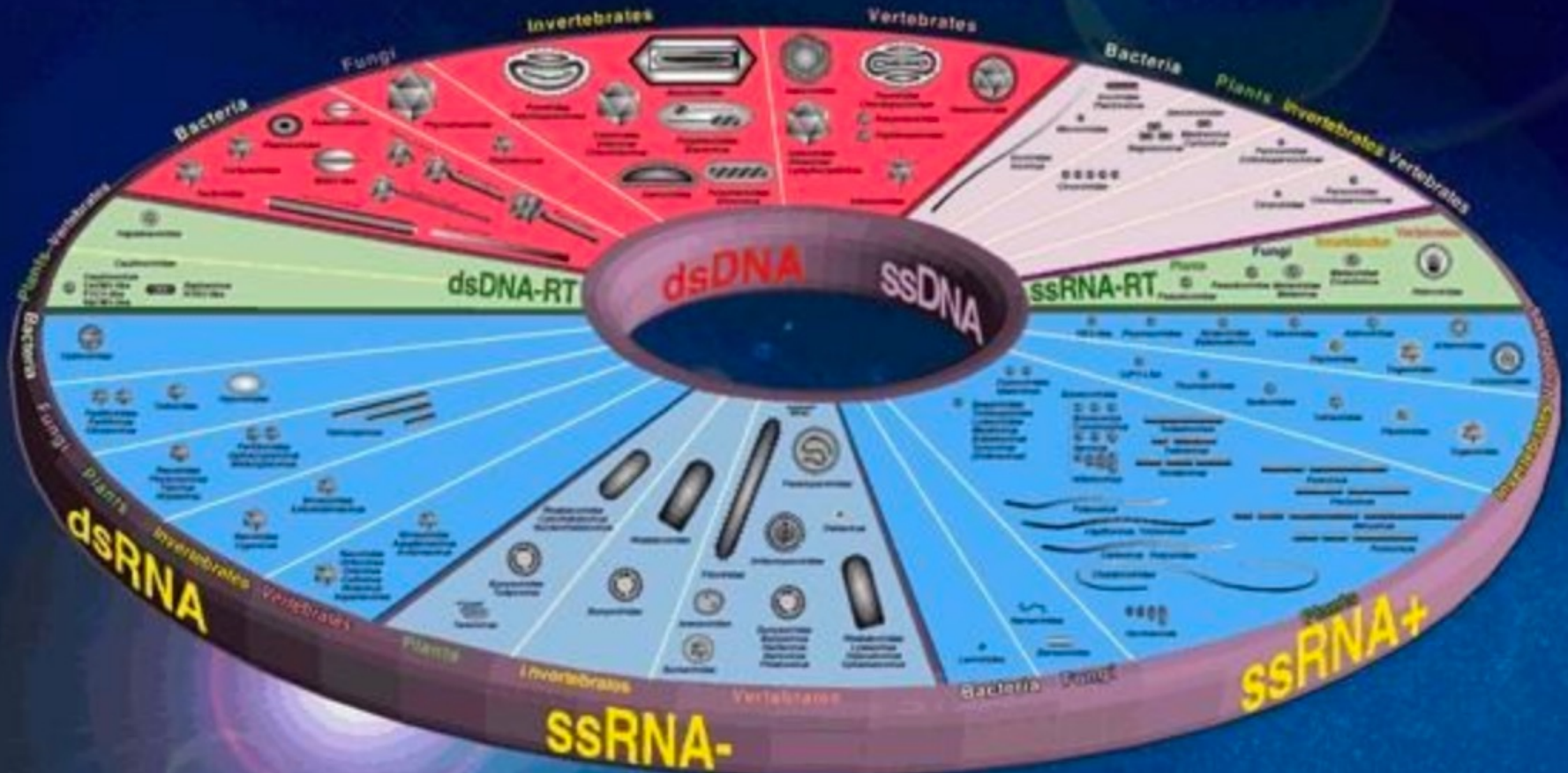
A. Virus appartenant à des genres classés en famille

B. Virus appartenant à des genres qui ne sont pas classés en famille

C. Virus non classés taxonomiquement



# The Viruses





Taxa name search:

Select to search across all ICTV releases

(28 results found)

Click to view	Release	Search results
<a href="#">View genus</a>	2013	<a href="#">Picornavirales</a> > <a href="#">Secoviridae</a> > <a href="#">Comovirinae</a> > <a href="#">Nepovirus</a>
<a href="#">View genus</a>	2012	<a href="#">Picornavirales</a> > <a href="#">Secoviridae</a> > <a href="#">Comovirinae</a> > <a href="#">Nepovirus</a>
<a href="#">View genus</a>	2011	<a href="#">Picornavirales</a> > <a href="#">Secoviridae</a> > <a href="#">Comovirinae</a> > <a href="#">Nepovirus</a>
<a href="#">View genus</a>	2009	<a href="#">Picornavirales</a> > <a href="#">Secoviridae</a> > <a href="#">Comovirinae</a> > <a href="#">Nepovirus</a>
<a href="#">View genus</a>	2008	<a href="#">Picornavirales</a> > <a href="#">Comoviridae</a> > <a href="#">Nepovirus</a>
<a href="#">View genus</a>	2005	Unassigned > <a href="#">Comoviridae</a> > <a href="#">Nepovirus</a>

## Virus Taxonomy: 2013 Release

[?](#) How do I use the taxonomy tree?

EC 45, Edinburgh, July 2013;  
Email ratification 2014 (MSL #28)

Order: <b>Caudovirales</b>	(3 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Herpesvirales</b>	(3 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Ligamenvirales</b>	(2 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Mononegavirales</b>	(5 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Nidovirales</b>	(4 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Picornavirales</b>	(5 Families)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Dicistroviridae</b>	(2 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Iflaviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Marnaviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Picornaviridae</b>	(26 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Secoviridae</b>	(1 Subfamily and 5 Genera not in a Subfamily)	<a href="#">history</a>
Subfamily: <b>Comovirinae</b>	(3 Genera)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Comovirus</b>	(15 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Fabavirus</b>	(5 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Nepovirus</b>	(36 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Cheravirus</b>	(4 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Sadwavirus</b>	(1 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Sequivirus</b>	(3 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Torradovirus</b>	(2 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Unassigned</b>	(3 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Waikavirus</b>	(3 Species)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Unassigned</b>	(2 Genera)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Tymovirales</b>	(4 Families)	<a href="#">history</a>
Virus families not assigned to an order	(77 Families)	<a href="#">history</a>

Realm: <b>Riboviria</b>	1 phylum	<a href="#">history</a>
Phylum: <b>Negarnaviricota</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 subphyla	<a href="#">history</a>
Subphylum: <b>Haploviricotina</b> Phylum: <b>Negarnaviricota</b>	4 classes	<a href="#">history</a>
Class: <b>Chunquiviricetes</b> Subphylum: <b>Haploviricotina</b>	1 order	<a href="#">history</a>
Order: <b>Muvirales</b> Class: <b>Chunquiviricetes</b>	1 family	<a href="#">history</a>
Class: <b>Milneviricetes</b> Subphylum: <b>Haploviricotina</b>	1 order	<a href="#">history</a>
Order: <b>Serpentovirales</b> Class: <b>Milneviricetes</b>	1 family	<a href="#">history</a>
Class: <b>Monjiviricetes</b> Subphylum: <b>Haploviricotina</b>	2 orders	<a href="#">history</a>
Order: <b>Jingchuvirales</b> Class: <b>Monjiviricetes</b>	1 family	<a href="#">history</a>
Order: <b>Mononegavirales</b> Class: <b>Monjiviricetes</b>	11 families	<a href="#">history</a>
Class: <b>Yunchangviricetes</b> Subphylum: <b>Haploviricotina</b>	1 order	<a href="#">history</a>
Order: <b>Goujianvirales</b> Class: <b>Yunchangviricetes</b>	1 family	<a href="#">history</a>
Subphylum: <b>Polyploviricotina</b> Phylum: <b>Negarnaviricota</b>	2 classes	<a href="#">history</a>
Class: <b>Ellioviricetes</b> Subphylum: <b>Polyploviricotina</b>	1 order	<a href="#">history</a>
Order: <b>Bunyavirales</b> Class: <b>Ellioviricetes</b>	12 families	<a href="#">history</a>
Class: <b>Inshoviricetes</b> Subphylum: <b>Polyploviricotina</b>	1 order	<a href="#">history</a>
Order: <b>Articulavirales</b> Class: <b>Inshoviricetes</b>	2 families	<a href="#">history</a>
Order: <b>Nidovirales</b> Realm: <b>Riboviria</b>	7 suborders	<a href="#">history</a>
Order: <b>Picornavirales</b> Realm: <b>Riboviria</b>	6 families	<a href="#">history</a>
Family: <b>Dicistroviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	3 genera	<a href="#">history</a>
Family: <b>Iflaviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
Family: <b>Marnaviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	7 genera	<a href="#">history</a>
Family: <b>Picornaviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	47 genera	<a href="#">history</a>
Family: <b>Polycipiviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	3 genera	<a href="#">history</a>
Family: <b>Secoviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	1 subfamily, 5 genera, 1 species	<a href="#">history</a>
Subfamily: <b>Comovirinae</b> Family: <b>Secoviridae</b>	3 genera	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Comovirus</b> Subfamily: <b>Comovirinae</b>	15 species	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Fabavirus</b> Subfamily: <b>Comovirinae</b>	7 species	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Nepovirus</b> Subfamily: <b>Comovirinae</b>	40 species	<a href="#">history</a>
Species: <b>Aeonium ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Apricot latent ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Arabis mosaic virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Arracacha virus A</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Artichoke Aegean ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Artichoke Italian latent virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Artichoke yellow ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Beet ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Blackcurrant reversion virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Blueberry latent spherical virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Blueberry leaf mottle virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Cassava American latent virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Cassava green mottle virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Cherry leaf roll virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Chicory yellow mottle virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Cocoa necrosis virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Crimson clover latent virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Cycas necrotic stunt virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Grapevine Anatolian ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Grapevine Bulgarian latent virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Grapevine chrome mosaic virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Grapevine deformation virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Grapevine fanleaf virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Grapevine Tunisian ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Hibiscus latent ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Lucerne Australian latent virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Melon mild mottle virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Mulberry mosaic leaf roll associated virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Mulberry ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Myrobalan latent ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Olive latent ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Peach rosette mosaic virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Potato black ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Potato virus B</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Potato virus U</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Raspberry ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Soybean latent spherical virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Tobacco ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Tomato black ring virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>
Species: <b>Tomato ringspot virus</b> Genus: <b>Nepovirus</b>	<a href="#">history</a>	<a href="#">history</a>

**Grapevine Fanleaf Nepovirus : GFLV**  
**Grapevine leafroll associated virus : GLRaV**  
**Grapevine virus A : GVA**  
**Rupestris stem pitting-associated virus : RSPaV**  
**Grapevine Fleck Virus : GFkV**

Taxa name search:

Select to search across all ICTV releases

(26 results found)

Click to view	Release	Search results
<a href="#">View genus</a>	2013	Unassigned -> Closteroviridae -> <a href="#">Closterovirus</a>
<a href="#">View genus</a>	2012	Unassigned -> Closteroviridae -> <a href="#">Closterovirus</a>
<a href="#">View genus</a>	2011	Unassigned -> Closteroviridae -> <a href="#">Closterovirus</a>
<a href="#">View genus</a>	2009	Unassigned -> Closteroviridae -> <a href="#">Closterovirus</a>
<a href="#">View genus</a>	2008	Unassigned -> Closteroviridae -> <a href="#">Closterovirus</a>

## Virus Taxonomy: 2013 Release

[How do I use the taxonomy tree?](#)


IC 45, Edinburgh, July 2013;  
Email ratification 2014 (MSL #28)

Order: <b>Caudovirales</b>	(3 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Herpesvirales</b>	(3 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Ligamenvirales</b>	(2 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Mononegavirales</b>	(5 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Nidovirales</b>	(4 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Picornavirales</b>	(5 Families)	<a href="#">history</a>
Order: <b>Tymovirales</b>	(4 Families)	<a href="#">history</a>
<b>Virus families not assigned to an order</b>	(77 Families)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Adenoviridae</b>	(5 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Alphatetraviridae</b>	(2 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Alvernaviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Amalgaviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Ampullaviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Anelloviridae</b>	(11 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Arenaviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Ascoviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Acfarviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Astroviridae</b>	(2 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Avsunviridae</b>	(3 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Baculoviridae</b>	(4 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Barnaviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Benyviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Bicoudoviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Bidnaviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Birnaviridae</b>	(4 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Bromoviridae</b>	(6 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Bunyaviridae</b>	(5 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Caliciviridae</b>	(5 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Carmotetraviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Caulimoviridae</b>	(7 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Chrysoviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Circoviridae</b>	(2 Genera)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Closteroviridae</b>	(1 Genus)	<a href="#">history</a>
Family: <b>Closteroviridae</b>	(4 Genera)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Ampelovirus</b>	(8 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Closterovirus</b>	(11 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Crimivirus</b>	(13 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Unassigned</b>	(4 Species)	<a href="#">history</a>
Genus: <b>Velarivirus</b>	(3 Species)	<a href="#">history</a>

Realm: <b>Riboviria</b>	1 phylum	<a href="#">history</a>
+ Phylum: <b>Negarnaviricota</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 subphyla	<a href="#">history</a>
+ Order: <b>Nidovirales</b> Realm: <b>Riboviria</b>	7 suborders	<a href="#">history</a>
- Order: <b>Picornavirales</b> Realm: <b>Riboviria</b>	6 families	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Dicistroviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	3 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Iflaviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Marnaviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	7 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Picornaviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	47 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Polycipiviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	3 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Secoviridae</b> Order: <b>Picornavirales</b>	1 subfamily	<a href="#">history</a>
- Order: <b>Tymovirales</b> Realm: <b>Riboviria</b>	5 families	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Alphaflexiviridae</b> Order: <b>Tymovirales</b>	7 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Betaflexiviridae</b> Order: <b>Tymovirales</b>	2 subfamilies	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Deltaflexiviridae</b> Order: <b>Tymovirales</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Gammalflexiviridae</b> Order: <b>Tymovirales</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Tymoviridae</b> Order: <b>Tymovirales</b>	3 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Alphatetraviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Alvernaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Amalgaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Astroviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Avsunviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	3 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Barnaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Benyviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Birnaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	4 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Botourmiaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	4 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Bromoviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	6 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Caliciviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	11 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Carmotetraviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Chrysoviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 genera	<a href="#">history</a>
- Family: <b>Closteroviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	4 genera	<a href="#">history</a>
+ Genus: <b>Ampelovirus</b> Family: <b>Closteroviridae</b>	11 species	<a href="#">history</a>
- Genus: <b>Closterovirus</b> Family: <b>Closteroviridae</b>	13 species	<a href="#">history</a>
Species: <b>Beet yellow stunt virus</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
★ Species: <b>Beet yellows virus</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Burdock yellows virus</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Carnation necrotic fleck virus</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Carrot yellow leaf virus</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Citrus tristeza virus</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Grapevine leafroll-associated virus 2</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Mint virus 1</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Raspberry leaf mottle virus</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Rose leaf rosette-associated virus</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Strawberry chlorotic fleck-associated virus</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Tobacco virus 1</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Wheat yellow leaf virus</b> Genus: <b>Closterovirus</b>		<a href="#">history</a>
+ Genus: <b>Crimivirus</b> Family: <b>Closteroviridae</b>	14 species	<a href="#">history</a>
+ Genus: <b>Velarivirus</b> Family: <b>Closteroviridae</b>	7 species	<a href="#">history</a>
Species: <b>Actinidia virus 1</b> Family: <b>Closteroviridae</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Alligatorweed stunting virus</b> Family: <b>Closteroviridae</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Blueberry virus A</b> Family: <b>Closteroviridae</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Megaepasma mosaic virus</b> Family: <b>Closteroviridae</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Mint vein banding-associated virus</b> Family: <b>Closteroviridae</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Olive leaf yellowing-associated virus</b> Family: <b>Closteroviridae</b>		<a href="#">history</a>
Species: <b>Persimmon virus B</b> Family: <b>Closteroviridae</b>		<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Cystoviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Endornaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Flaviviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	4 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Hepeviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Hypoviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Kitaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	3 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Leviviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Luteoviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	3 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Matonaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Megabirnaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	1 genus	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Narnaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Nodaviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	2 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Partitiviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	5 genera	<a href="#">history</a>
+ Family: <b>Permutotetraviridae</b> Realm: <b>Riboviria</b>	1 genus	<a href="#">history</a>

# ICTV 2013

# ICTV 2019



Home | Contact

International Committee on Taxonomy of Viruses  
VIROLOGY DIVISION - IUMS

The ICTV | Taxonomy | FAQ | Files and Discussions | News and Information | ICTV Directory

Taxa name search:

Select to search across all ICTV releases

(13 results found)

Click to view	Release	Search results
<a href="#">View genus</a>	2013	<i>Tymovirales</i> → <i>Betaflexiviridae</i> → <b>Vittivirus</b>
<a href="#">View genus</a>	2012	<i>Tymovirales</i> → <i>Betaflexiviridae</i> → <b>Vittivirus</b>
<a href="#">View genus</a>	2011	<i>Tymovirales</i> → <i>Betaflexiviridae</i> → <b>Vittivirus</b>
<a href="#">View genus</a>	2009	<i>Tymovirales</i> → <i>Betaflexiviridae</i> → <b>Vittivirus</b>
<a href="#">View genus</a>	2008	Unassigned → <i>Flexiviridae</i> → <b>Vittivirus</b>
<a href="#">View genus</a>	2005	Unassigned → <i>Flexiviridae</i> → <b>Vittivirus</b>

## Virus Taxonomy: 2013 Release

EC 45, Edinburgh, July 2013;  
Email ratification 2014 (MSL #26)

[How do I use the taxonomy tree?](#)

- Order: *Caudovirales* (3 Families) [history](#)
- Order: *Herpesvirales* (3 Families) [history](#)
- Order: *Ligamenvirales* (2 Families) [history](#)
- Order: *Mononegavirales* (5 Families) [history](#)
- Order: *Nidovirales* (4 Families) [history](#)
- Order: *Picornavirales* (5 Families) [history](#)
- Order: *Tymovirales* (4 Families) [history](#)
  - Family: *Alphaflexiviridae* (6 Genera) [history](#)
  - Family: *Betaflexiviridae* (7 Genera) [history](#)
    - Genus: *Capillovirus* (2 Species) [history](#)
    - Genus: *Carlavirus* (52 Species) [history](#)
    - Genus: *Citivirus* (1 Species) [history](#)
    - Genus: *Foveavirus* (6 Species) [history](#)
    - Genus: *Tepovirus* (1 Species) [history](#)
    - Genus: *Trichovirus* (7 Species) [history](#)
    - Genus: Unassigned (9 Species) [history](#)
    - Genus: *Vittivirus* (9 Species) [history](#)
  - Family: *Gammaflexiviridae* (1 Genus) [history](#)
  - Family: *Tymoviridae* (3 Genera) [history](#)
- Virus families not assigned to an order (77 Families) [history](#)

- Order: *Tymovirales* Realm: *Riboviria* (5 families) [history](#)
  - Family: *Alphaflexiviridae* Order: *Tymovirales* (7 genera) [history](#)
  - Family: *Betaflexiviridae* Order: *Tymovirales* (2 subfamilies) [history](#)
    - Subfamily: *Quinvirinae* Family: *Betaflexiviridae* (3 genera) [history](#)
    - Subfamily: *Trivirinae* Family: *Betaflexiviridae* (9 genera) [history](#)
      - Genus: *Capillovirus* Subfamily: *Trivirinae* (4 species) [history](#)
      - Genus: *Chardovirus* Subfamily: *Trivirinae* (2 species) [history](#)
      - Genus: *Citivirus* Subfamily: *Trivirinae* (1 species) [history](#)
      - Genus: *Divavirus* Subfamily: *Trivirinae* (3 species) [history](#)
      - Genus: *Prunovirus* Subfamily: *Trivirinae* (3 species) [history](#)
      - Genus: *Tepovirus* Subfamily: *Trivirinae* (2 species) [history](#)
      - Genus: *Trichovirus* Subfamily: *Trivirinae* (7 species) [history](#)
      - Genus: *Vittivirus* Subfamily: *Trivirinae* (15 species) [history](#)
      - Genus: *Wamavirus* Subfamily: *Trivirinae* (1 species) [history](#)
- Family: *Deltaflexiviridae* Order: *Tymovirales* (1 genus) [history](#)
- Family: *Gammaflexiviridae* Order: *Tymovirales* (1 genus) [history](#)
- Family: *Tymoviridae* Order: *Tymovirales* (3 genera) [history](#)
- Family: *Alphatetraviridae* Realm: *Riboviria* (2 genera) [history](#)
- Family: *Alverniviridae* Realm: *Riboviria* (1 genus) [history](#)
- Family: *Amalgaviridae* Realm: *Riboviria* (2 genera) [history](#)
- Family: *Astroviridae* Realm: *Riboviria* (2 genera) [history](#)
- Family: *Avsunviridae* Realm: *Riboviria* (3 genera) [history](#)
- Family: *Barnaviridae* Realm: *Riboviria* (1 genus) [history](#)
- Family: *Benyviridae* Realm: *Riboviria* (1 genus) [history](#)
- Family: *Birnaviridae* Realm: *Riboviria* (4 genera) [history](#)
- Family: *Botourmiaviridae* Realm: *Riboviria* (4 genera) [history](#)
- Family: *Bromoviridae* Realm: *Riboviria* (6 genera) [history](#)
- Family: *Caliciviridae* Realm: *Riboviria* (11 genera) [history](#)
- Family: *Carmotetraviridae* Realm: *Riboviria* (2 genera) [history](#)
- Family: *Chrysoviridae* Realm: *Riboviria* (2 genera) [history](#)
- Family: *Closteroviridae* Realm: *Riboviria* (4 genera) [history](#)
- Family: *Cystoviridae* Realm: *Riboviria* (1 genus) [history](#)
- Family: *Endornaviridae* Realm: *Riboviria* (2 genera) [history](#)
- Family: *Flaviviridae* Realm: *Riboviria* (4 genera) [history](#)

# ICTV 2013

# ICTV 2019

Home | Contact

**ICTV** International Committee on Taxonomy of Viruses  
VIROLOGY DIVISION - IUMS

The ICTV | Taxonomy | FAQ | Files and Discussions | News and Information | ICTV Directory

Taxa name search:  Search Reset

Select to search across all ICTV releases

No matching results

### Virus Taxonomy: 2013 Release

[? How do I use the taxonomy tree?](#)

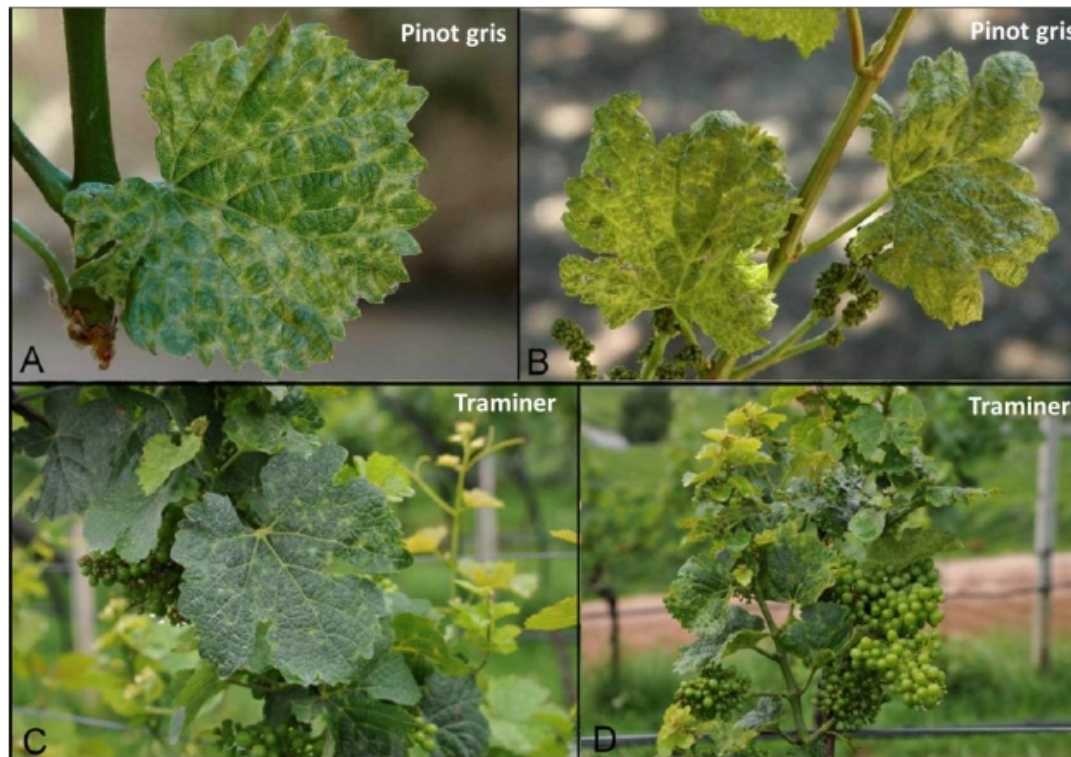
EC 45, Edinburgh, July 2013;  
Email ratification 2014 (MSL #28)

- Order: *Caudovirales* (3 Families) history
- Order: *Herpesvirales* (3 Families) history
- Order: *Ligamenvirales* (2 Families) history
- Order: *Mononegavirales* (5 Families) history
- Order: *Nidovirales* (4 Families) history
- Order: *Picornavirales* (5 Families) history
- Order: *Tymovirales* (4 Families) history
  - Family: *Alphaflexiviridae* (6 Genera) history
  - Family: *Betaflexiviridae* (7 Genera) history
  - Family: *Gammaflexiviridae* (1 Genus) history
  - Family: *Tymoviridae* (3 Genera) history
    - Genus: *Maculavirus* (1 Species) history
    - ★ Species: *Grapevine fleck virus* history
    - Genus: *Marafivirus* (7 Species) history
    - Genus: *Tymovirus* (27 Species) history
    - Genus: Unassigned (2 Species) history
- Virus families not assigned to an order (77 Families) history

- Realm: *Riboviria* 1 phylum history
- + Phylum: *Negarnaviricota* Realm: *Riboviria* 2 subphyla history
- + Order: *Nidovirales* Realm: *Riboviria* 7 suborders history
- Order: *Picornavirales* Realm: *Riboviria* 6 families history
  - + Family: *Dicistroviridae* Order: *Picornavirales* 3 genera history
  - + Family: *Ilaviridae* Order: *Picornavirales* 1 genus history
  - + Family: *Marnaviridae* Order: *Picornavirales* 7 genera history
  - + Family: *Picornaviridae* Order: *Picornavirales* 47 genera history
  - + Family: *Polycipiviridae* Order: *Picornavirales* 3 genera history
  - + Family: *Secoviridae* Order: *Picornavirales* 1 subfamily history
- Order: *Tymovirales* Realm: *Riboviria* 5 families history
  - + Family: *Alphaflexiviridae* Order: *Tymovirales* 7 genera history
  - + Family: *Betaflexiviridae* Order: *Tymovirales* 2 subfamilies history
  - + Family: *Deltaflexiviridae* Order: *Tymovirales* 1 genus history
  - + Family: *Gammaflexiviridae* Order: *Tymovirales* 1 genus history
  - Family: *Tymoviridae* Order: *Tymovirales* 3 genera history
    - Genus: *Maculavirus* Family: *Tymoviridae* 1 species history
    - ★ Species: *Grapevine fleck virus* Genus: *Maculavirus* history
    - + Genus: *Marafivirus* Family: *Tymoviridae* 10 species history
    - + Genus: *Tymovirus* Family: *Tymoviridae* 28 species history
    - Species: *Bombyx mori latent virus* Family: *Tymoviridae* history
    - Species: *Poinsettia mosaic virus* Family: *Tymoviridae* history
- + Family: *Alphatetraviridae* Realm: *Riboviria* 2 genera history
- + Family: *Alvernariidae* Realm: *Riboviria* 1 genus history
- + Family: *Amalgaviridae* Realm: *Riboviria* 2 genera history
- + Family: *Astroviridae* Realm: *Riboviria* 2 genera history
- + Family: *Avsunviridae* Realm: *Riboviria* 3 genera history
- + Family: *Barnaviridae* Realm: *Riboviria* 1 genus history
- + Family: *Benyviridae* Realm: *Riboviria* 1 genus history

## Deux nouveaux virus de vigne identifiés en France en 2015

Les vignes françaises sont touchées par de nombreuses maladies causées par différents virus. Le *Grapevine Pinot gris virus* (GPGV) et le *Grapevine Red globe virus* (GRGV) ont été découverts pour la première fois en France, par deux équipes de recherche de l'Inra à Bordeaux et à Colmar. Ces virus pourraient être associés à des pathologies affectant les vignes françaises, en particulier pour le GPGV, qui semble être associé à la symptomatologie rappelant celle du court-noué.



GPGV est fortement présent en France (65 % des échantillons analysés) dans les différents bassins viticoles et ce quel que soit l'âge des parcelles.

Acarien *Colomerus vitis*

Les symptômes sont parfois francs avec une végétation rabougrie, des feuilles asymétriques, un sinus pétiolaire largement ouvert, des feuilles déformées et "gaufrées" et des décolorations sectorielles ou ponctuelles. Parfois, ces symptômes sont beaucoup plus légers.

*Grapevine Pinot gris virus* (GPGV) : Court-noué  
*Grapevine Red globe virus* (GRGV) : Marbrure

<http://icvg.org/>



[Home](#)   [About](#)   [Members](#)   [Resources](#)   [Meeting Proceedings](#)



**Welcome to the International Council for the Study of Viruses and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG)**

**This website is a gateway to information about the history of our organization, our members, and the resources available to the community.**

**Upcoming:**

20th conference of the International Council for the Study of Virus and Virus-Like Diseases of the Grapevine to be held in 2021 in Thessaloniki, Greece

**ABOUT US**  
History of our organization, media information and contact information.

**MEMBERS**  
Become a member or view our member database.

**RESOURCES**  
Virus Collections, recommendations and useful links.

**GENERAL ASSEMBLY**  
View the minutes and proceedings our our organization by year.

# VIROSES DE LA VIGNE

Plus 80 virus ont été identifiés appartenant à 15 familles et 30 genres variés (2019)

Deux groupes :

- Pathogènes pour différentes espèces végétales cultivées mais **curiosité pour la vigne** (rarement trouvés ou dommages négligeables)
- Pathogènes **responsables de maladies de la vigne**

NB : possibilité d'infections par plusieurs virus

**VIROSES les plus répandues et plus dommageables !**

Grapevine Fanleaf Nepovirus : GFLV

Court-noué

Grapevine leafroll associated virus : GLRaV

L'enroulement viral

Grapevine virus A : GVA

Le complexe du bois strié

Rupestris stem pitting-associated virus : RSPaV

Marbrure

Grapevine Fleck Virus : GFkV



# VIROSES & VIGNE

Virus les plus dommageables par ordre d'impact !

***Nepovirus* : Court-noué**

(répandue dans la quasi-totalité des vignobles du monde)

***Closterovirus* : Enroulement**

***Vitivirus* : Complexe du bois strié**

***Maculavirus* : Marbrure**

Outre les viroses historiques connues comme préjudiciables (court noué et enroulement), **certaines viroses émergentes** pourraient être inquiétantes pour la filière. Le RedBlotch (GRBaV) identifié pour l'instant uniquement sur le territoire nord-américain et du virus du Pinot gris (GPGV) identifié depuis 2012 dans plusieurs pays européens et en France en 2015.

# TRANSMISSION des Phytovirus

- par des organes ou tissus nécessaires à la **reproduction végétative** (bouture, greffon, bulbe) **ou sexuée** (pollen, graine)
- par des **vecteurs animaux** :
  - présents dans le sol : nématodes transmettent le virus au niveau des racines (diffusion lente de la maladie)
  - vecteurs aériens : insectes et acariens (cf. épidémies)
- **par contact** : suite aux blessures (frottements entre feuilles)

# TRANSMISSION & VIGNE

**Pour la vigne** (espèce végétale: multiplication végétative le plus souvent utilisée)

**1- Les bois et les plantes atteintes** : source de contamination importante

**2- Vecteurs sous-terrain** peuvent constituer un réservoir

Ex : nématodes vecteur des virus du court-noué des sols viticoles

# DÉVELOPPEMENT

Nécessité de rompre la paroi pecto-cellulosique :

- par blessure mécanique
- par le stylet d' un insecte ou nématode

A partir du centre primaire d'infection :

**1. Diffusion d'une cellule à l'autre :** (prot de diffusion) via canaux de communication inter-cellulaires : plasmodesmes

- soit migration de l'ac.nucléique associé à la protéine de diffusion viral après multiplication dans les cellules primo-infectées
- soit *via* la formation de nouvelles particules virales

**2. Mouvement à longue distance *via* tissus conducteurs**

- soit infection systémique (le plus souvent)
- soit progression limitée (réaction de défense)

# DÉVELOPPEMENT suite...

Mouvement d'un virus dans la plante

## 2 types de mouvements :

- ➔ De cellule à cellule : lent (mm/jour)
- ➔ Systémique : rapide (cm/hr) par les tissus vasculaires.  
Le virus envahit la plante.

# DÉVELOPPEMENT suite ...

## Perturbations physiologiques

- Symptômes externes (organes de la plante)
- Symptômes internes (cellule)

## Préjudices pour la plante

- Soit **quantitativement** : baisse de la production et/ou rendement
- Soit **qualitativement** : baisse des caractères visuels et/ou organoleptiques

# DÉVELOPPEMENT suite ...

## Symptômes externes de viroses

**Racines** : dégénérescence ou faible développement des racines

**Tiges** : nécroses, striures, cannelures, déformation, éclatement du bois raccourcissement de l'entre-nœuds, incompatibilité entre greffon et porte-greffe

**Feuilles** : mosaïque, panachure, tâches chlorotiques ou nécrotiques, gaufrage, marbrure, nervures jaunes, flétrissement, enroulement des feuilles

**Fleurs** : décoloration, panachure, nécrose

**Fruits** : déformation, réduction de taille, tâches chlorotiques ou nécrotiques, rugosité, verrues

**Graines** : réduction de taille, tâches

**Observations insuffisantes pour déterminer l'origine virale de l'infection, Infections latentes, infections par de multiples virus ...**

# DÉVELOPPEMENT suite ...

## Symptômes internes de viroses

**Inclusions** : accumulation de particules virales ou de protéines virales

Moyen de diagnostic : virus de la mosaïque du dahlia

Type d'inclusions caractéristiques d'un groupe de phytovirus : Potyvirus

**Modifications des organites** : hypertrophie du RE, des mitochondries, agrégations des chloroplastes ou des mitochondries



# DOMMAGES...

Maladies à virus de plantes : persistantes et incurables

Pas de système immunitaire capable d'éliminer le virus

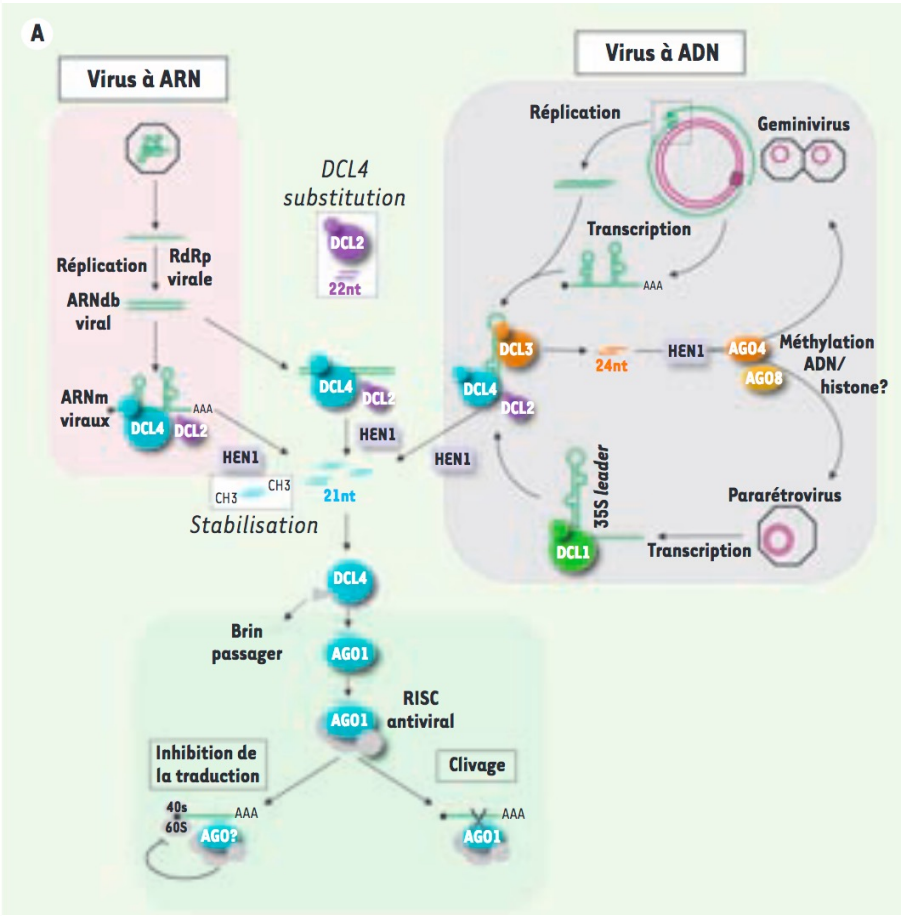
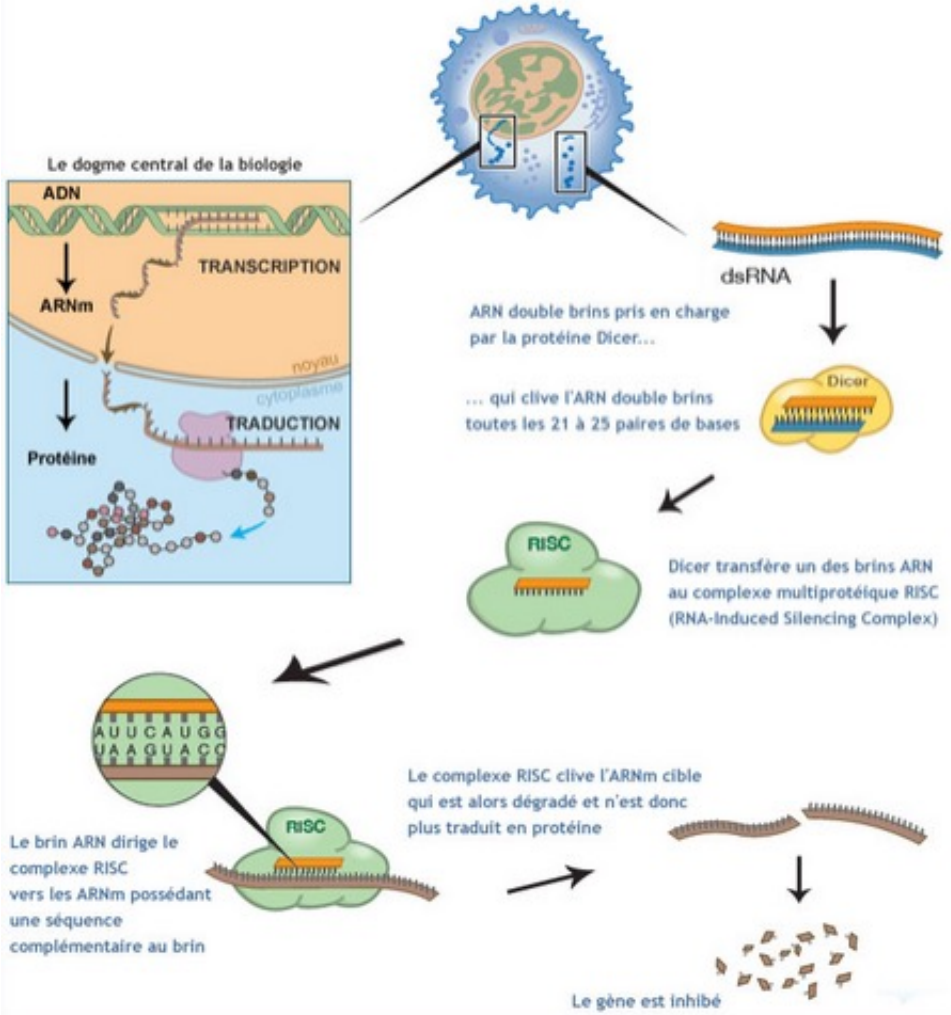
Aucun moyen de lutte chimique contre ces virus

# DOMMAGES...

## MECANISMES D'INTERFERENCE ARN

### L'interférence ARN

L'ARN interférence existe dans le cytoplasme de toutes les cellules humaines, animales et végétales



# DOMMAGES...

## Nature et sévérité des dégâts : les paramètres

- Virus ou les virus
- Virulence de l'isolat
- Espèce et variété de la vigne
- Âge de la vigne
- Interaction avec d'autres pathogènes
- Interaction avec les conditions agro-climatiques
- Diffusion des virus par des vecteurs



# VIROSES DE LA VIGNE



## Coût !

Une étude réalisée aux États-Unis a estimé que l'impact économique de la maladie de l'enroulement de la vigne sur le profit des entreprises viticoles se situe entre 25 000 et 40 000 dollars par hectare pour les vignobles ayant une durée de vie de 25 ans

*ATALLAH, S.S.; GOMEZ, M.I.; FUCHS, M.F.; MARTINSON, T.E. Economic impact of grapevine leafroll disease on Vitis vinifera cv. Cabernet franc in Finger Lakes vineyards of New York. American Journal of Enology and Viticulture, Davis, v.63, n.1, p.73-79, 2012.*

**Les viroses de la vigne  
constituent une partie des maladies de la vigne les plus  
dommageables et les plus difficiles à maîtriser**



# VIROSES DE LA VIGNE



## Coût ! Avantage du dépistage

Coûts et les avantages d'un programme de dépistage du virus de l'enroulement de la vigne (GLRaV-3) dans la région de la côte nord de la Californie. Les avantages économiques du programme de test et de nettoyage du GLRaV-3 se sont avérés être supérieurs à 50 millions de dollars par an pour la région et dépassent largement ses coûts.

*The Economic Benefits from Virus-Screening: A Case Study of Grapevine Leafroll in the North Coast of California*  
•May 2015 [American Journal of Enology and Viticulture](#) 66(2)

# VIROSES DE LA VIGNE & DEPISTAGE Indexage

Symptômes



diagnostic

Sérologique



Moléculaire



# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 1. TEST BIOLOGIQUE :

### INDEXAGE BIOLOGIQUE

Consiste à placer un greffon d'un clone à tester sur une bouture d'une variété dite «indicatrice» capable d'extérioriser des symptômes typiques de la virose recherchée.

L'indexage peut se réaliser par greffage ligneux (3 ans) ou herbacé (6 à 12 mois).

**Méthode de référence pour l'agrément des clones.**



# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

Variétés indicatrices	Viroses
1. <i>Vitis rupestris</i> St George	Dégénérescence Marbrure Rupestris stem pitting
2. <i>Vitis vinifera</i> Cabernet franc, Pinot noir ou autres cépages rouges	Enroulement
3. Kober 5BB	Kober stem grooving
4. LN33 (Lloyd's number 33)	Écorce liégeuse LN33 stem grooving
5. <i>V. riparia</i> Gloire de Montpellier	Mosaïque des nervures
6. <i>V. rupestris</i> x <i>V. berlandieri</i> 110R	Nécrose des nervures



# VIROSES DE LA VIGNE



**Pépinière d'indexage** pour le dépistage de virus et maladies de type viral dans le cadre de la sélection sanitaire de la vigne

# VIROSES DE LA VIGNE

Ecorce liégeuse

Témoin



Dépistage de maladies de type viral par la technique de la greffe bouture herbacée :

- A) Assemblages échantillons/variété indicatrice piqués dans un pain de laine de roche
- B) Révélation de symptômes de la maladie de l'écorce liégeuse sur la variété indicatrice LN33 quelques semaines après le greffage ; à droite assemblage-témoin échantillon non infecté/LN33

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 2. TECHNIQUES IMMUNOCHIMIQUES

- **ELISA** (« Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay ») :

Méthode immuno-enzymatique basée sur la réaction anticorps - antigène. Le test ELISA est utilisé comme technique de contrôle pour le suivi sanitaire de la filière de multiplication.



Sensibilité 1 à 10ng/ml  
Rapidité, coût faible, automatisation,  
Standardisation possible

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

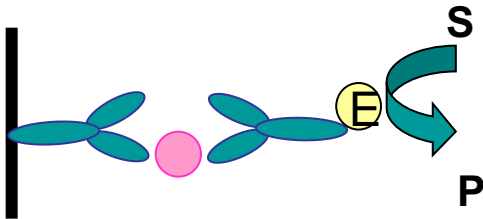
## ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

Méthode immuno-enzymatique basée sur la réaction anticorps - antigène.

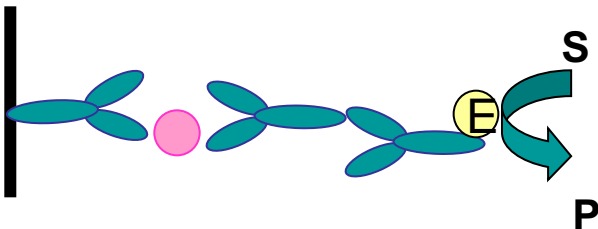
### Utilisation d'anticorps

#### ELISA sandwich

##### Sandwich direct



##### Sandwich indirect



<http://www.bioreba.com/>



A screenshot of the Bioreba website's product catalogue. It features a navigation bar with icons for home, email, shop, product info, technical info, services, company, and distributors. The URL <http://www.bioreba.com/> is visible. The background shows a ladybug on a leaf and a field of wheat. The main content area displays a 'Product catalogue' section with a 'New Product' banner for 'Potato DNA/RNA Rapid Extraction Set'. Below the banner is a photo of a woman in a lab coat working in a laboratory, and a photo of potatoes with a DNA double helix.

#### Our ELISA Tests for Grapevine samples

##### Group A

- ArMV Arabis mosaic virus (samples: leaves<sup>1</sup>, canes<sup>2</sup>)
- GFLV Grapevine fanleaf virus leaves<sup>1</sup>, canes<sup>3</sup>
- ArMV+GFLV Arabis mosaic virus + Grapevine fanleaf virus (samples: leaves<sup>1</sup>, canes<sup>3</sup>)
- PGPV Grapevine pinot gris virus (samples: leaves<sup>1</sup>, canes<sup>3</sup>)
- RpRSV-ch Raspberry ringspot virus-ch (samples: leaves<sup>1</sup>, canes<sup>3</sup>)
- RpRSV-g Raspberry ringspot virus-g (samples: leaves<sup>1</sup>, canes<sup>3</sup>)
- TBRV Tomato black ring virus (samples: leaves<sup>1</sup>, canes<sup>3</sup>)
- TRSV Tobacco ringspot virus (samples: leaves<sup>1</sup>, canes<sup>3</sup>)
- ToRSV Tomato ringspot virus (samples: leaves<sup>1</sup>, canes<sup>3</sup>)
- ToRSV-Ch Tomato ringspot virus-Ch (samples: leaves<sup>1</sup>, canes<sup>3</sup>)
- SLRSV Strawberry latent ringspot virus (samples: leaves<sup>1</sup>, canes<sup>3</sup>)

##### Group B

- GLRaV-1 Grapevine leafroll-associ. virus 1 (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- GLRaV-1+3 Grapevine leafroll-associ. virus 1+3 (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- GLRaV-2 Grapevine leafroll-associ. virus 2 (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- GLRaV-3 Grapevine leafroll-associ. virus 3 (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- GLRaV-4-9 Grapevine leafroll-associ. virus generic 4-9 (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- GLRaV-6 Grapevine leafroll-associ. virus 6 (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- GLRaV-7 Grapevine leafroll-associ. virus 7 (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- GVA Grapevine virus A (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- GFKV Grapevine fleck virus (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)

#### Our PCR Tests for Grapevine samples

- GRBV<sup>1</sup> Grapevine red blotch virus A (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- GVA<sup>4</sup> Grapevine virus A (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- GVB<sup>5</sup> Grapevine virus B (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- RSPAV<sup>6</sup> Russet stem pitting associ. virus (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- FD<sup>7</sup> Flavescence dorée phytoplasma (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>, canes<sup>3</sup>)
- BN<sup>8</sup> Bois noir phytoplasma (samples: leaves<sup>1</sup>, petioles<sup>2</sup>)

# Institut français de la vigne et du vin

**Tests ELISA** pour les organismes techniques, les pépiniéristes et les viticulteurs

## Détection des virus de la vigne :

- Court-Noué (CNa),
- Enroulement type 1, 2 et 3 (GLRaV-1, 2, 3),
- Marbrure (GFkV), •Grapevine Virus A (GVA).
- Au printemps (mi mai - fin juin) sur jeunes feuilles pour CNa - GFkV – GVA
- A l'automne (mi septembre - fin octobre) sur feuilles âgées pour GLRaV-1, 2, 3
- En automne et hiver (mi septembre à fin mars) sur bois pour toutes les viroses.

**Fiche de demande de détection de virus  
Méthode ELISA**

**PARTIE A COMPLETER PAR LE CLIENT**

Demandeur		Facturation (si différent du demandeur)	
Organisme :		Organisme :	
Nom :		Nom :	
Adresse :		Adresse :	
Tel :		Tel :	
E-Mail :		Copie des résultats <input type="checkbox"/>	
Informations Demandeur à reporter sur le rapport			
Détails des analyses demandées			
<input type="checkbox"/> Court-noué associé (GFLV + ArMV) <sup>(1)</sup>	<input type="checkbox"/> Enroulement 1+3 associé <sup>(2)</sup>	<input type="checkbox"/> Enroulement 2 (GLRaV-2) <sup>(1)</sup>	
<input type="checkbox"/> Court-noué (ArMV) <sup>(1)</sup>	<input type="checkbox"/> Enroulement 1 (GLRaV-1) <sup>(1)</sup>	<input type="checkbox"/> Marbrure (GfKv) <sup>(2)</sup>	
<input type="checkbox"/> Court-noué (GFLV) <sup>(1)</sup>	<input type="checkbox"/> Enroulement 3 (GLRaV-3) <sup>(1)</sup>	<input type="checkbox"/> Cannelure (GVA) <sup>(2)</sup>	
<sup>1</sup> Détection selon la méthode VV/04/05.		<sup>2</sup> Détection selon la méthode interne PRO/LAB/08.	
<input type="checkbox"/> <b>Autre :</b> (voir la <i>Liste des prestations réalisées E1//MAQ</i> ou nous contacter)			
Objet de la demande		Nombre d'échantillons	
<input type="checkbox"/> Autocontrôle VMG - VMGP	<input type="checkbox"/> Export	<input type="checkbox"/> Autre :	
<input type="checkbox"/> Conservatoire	<input type="checkbox"/> Analyse ponctuelle		
Protocole de prélèvement suivi		Date de prélèvement	Type d'échantillons
<input type="checkbox"/> IFV <input type="checkbox"/> FranceAgriMer <input type="checkbox"/> Autre			<input type="checkbox"/> Feuilles <input type="checkbox"/> Bois / Sarments <input type="checkbox"/> Racines <input type="checkbox"/> Autre : Contre expertise : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
<b>Codification des échantillons:</b> compléter la fiche de codification et l'adresser au laboratoire avec cette demande, par e-mail à <a href="mailto:laboratoire@vignevin.com">laboratoire@vignevin.com</a> ou avec vos échantillons (Possibilité d'envoyer un fichier Excel®).			
Délai de réponse souhaité		Transmission anticipée des résultats d'analyse	
Avant le :		<input type="checkbox"/> par téléphone <input type="checkbox"/> par e-mail	
Si le délai ne peut être honoré, il vous sera proposé une autre date.			
Autres destinataires du rapport d'analyse			
Société, Nom		Société, Nom	
Adresse :		Adresse :	
<input type="checkbox"/> Je déclare avoir pris connaissance et accepte les conditions générales de vente		Signature / Cachet	
Fait à :		le :	

**PROTOCOLE DE PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS DE VIGNE  
POUR DETECTER LES VIROSES PAR LA METHODE ELISA**

Remarque : Protocole valide au jour de sa diffusion. Susceptible d'évolution

Edition N° 3 du 10 novembre 2012

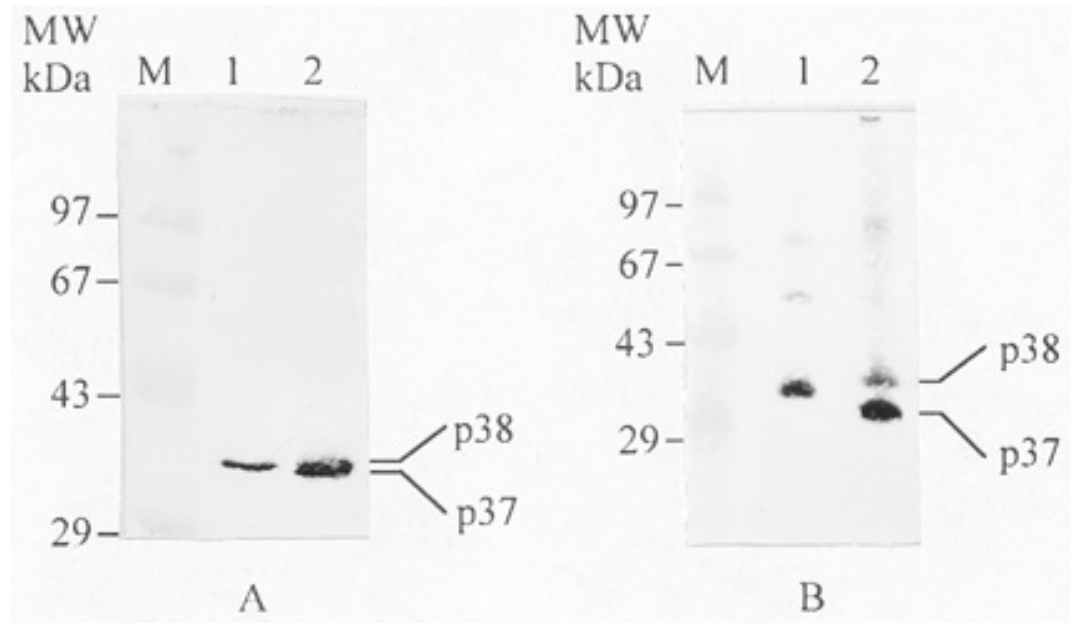
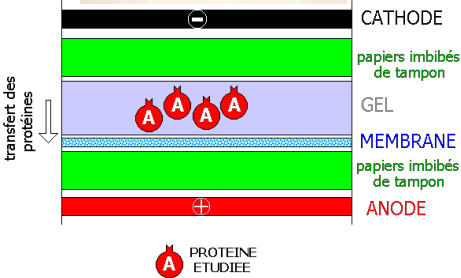
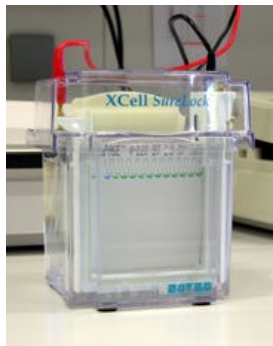
PERIODE OPTIMALE (INDIQUEE EN VERT)	Viroses		JANV	FEV	MARS	AVR	MAI	JUIN	JUIL	AOUT	SEPT	OCT	NOV	DEC
	Les enroulements (GLRaV) La cannelure associée au GVA													
	Le court-noué (ArMV / GFLV) La marbrure (GfKv)							sauf en période de fortes chaleurs						
	Toutes les viroses détectées au laboratoire													
ORGANES PRELEVES	FEUILLES		SARMENTS		RACINES PROPRES (Laver, nettoyer les racines prélevées)									
	Enroulements et cannelure associée au GVA Feuilles âgées avec pétioles (situées à la base)	Court-noué et Marbrure Jeunes feuilles avec pétioles (4 à 5 <sup>ème</sup> à partir du sommet)			Greffés-soudés									
GROUPE POSSIBLE	10 souches maximum	Souche par souche	20 souches maximum	Souche par souche	10 souches max	Souche par souche	4 paquets de 25 plants							
	1 feuille / souche	10 feuilles sur différents rameaux	1 feuille / souche	20 feuilles sur différents rameaux	1 fragment / souche 15 cm environ ; diamètre moyen	10 fragments / souche différents rameaux et diamètre moyen	1 racine / paquet 15 cm et diamètre moyen							
CONDITIONNEMENT	Sachet de 10 maximum		Sachet de 20 maximum		Sachet de 10 maximum		Sachet de 4							
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Rassembler tous les prélèvements constituant l'échantillon de préférence dans un sachet plastique en veillant à ne pas les comprimer.</li> <li>Identifier chaque sachet ou enveloppe avec la référence de l'échantillon : <b>utiliser des codes simples !</b></li> </ul>													
EXPEDITION DES ECHANTILLONS	<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Avant tout prélèvement,</b> prévenir le laboratoire afin de s'assurer qu'il est en mesure d'analyser vos échantillons.</li> <li><b>Attention,</b> si vous voulez expédier vos échantillons par courrier ou par transporteur, effectuer les prélèvements <b>en début de semaine</b> pour tenir compte du délai de livraison.</li> <li>Joindre la fiche de demande d'analyses à votre envoi.</li> </ul>													

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 2. TECHNIQUES IMMUNOCHIMIQUES

- **WB** (« Western Blot»)

Ex : Détection du GLRaV-7 (sensibilité)



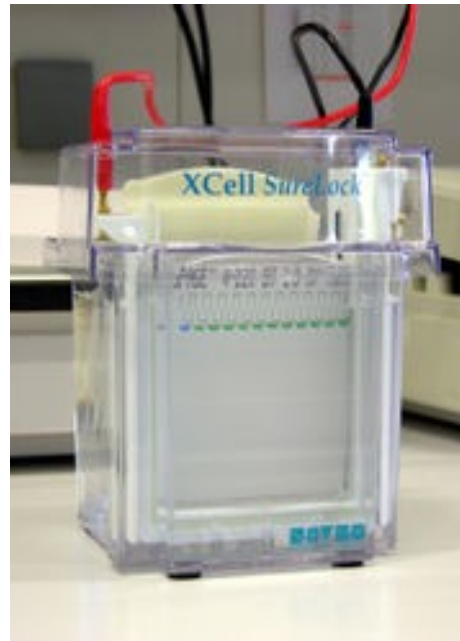
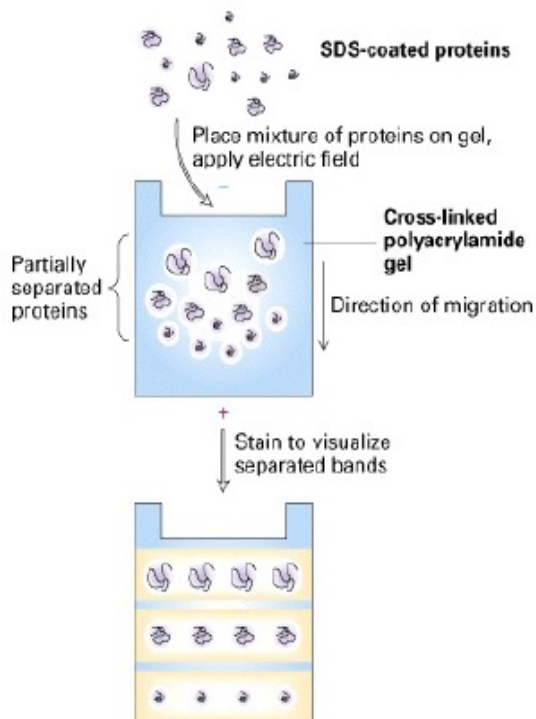
Monis, J. 2000. Development of monoclonal antibodies reactive to a new grapevine leafroll-associated closterovirus. Plant Dis. 84:858-862.

Ac. Polyclonaux et monoclonaux disponibles pour la détection des Nepovirus, des Closterovirus (GLRaV-1 à -7), des Vitivirus GVA, GVB et du Maculavirus GFkV. (Ac dirigés contre la protéine de capsid)

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 2. TECHNIQUES IMMUNOCHIMIQUES

### Western Blotting



Etape 1 : séparation des protéines  
selon leur poids moléculaire

**SDS-PAGE :**

Sodium Dodécylsulfate-  
PolyAcrylamide Gel Electrophoresis

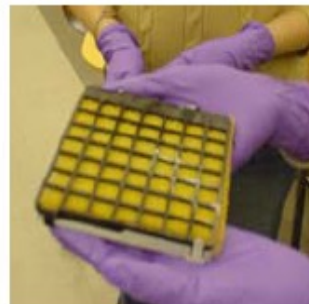


# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 2. TECHNIQUES IMMUNOCHIMIQUES

### Western Blotting

Etape 2 : Transfert des protéines sur un support solide (membrane de nitrocellulose)

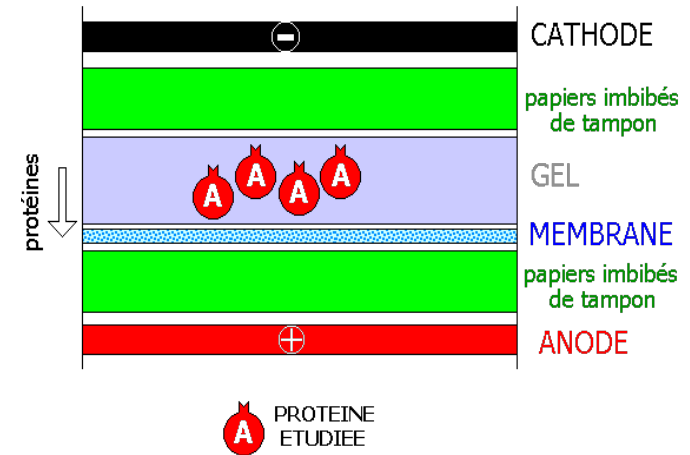
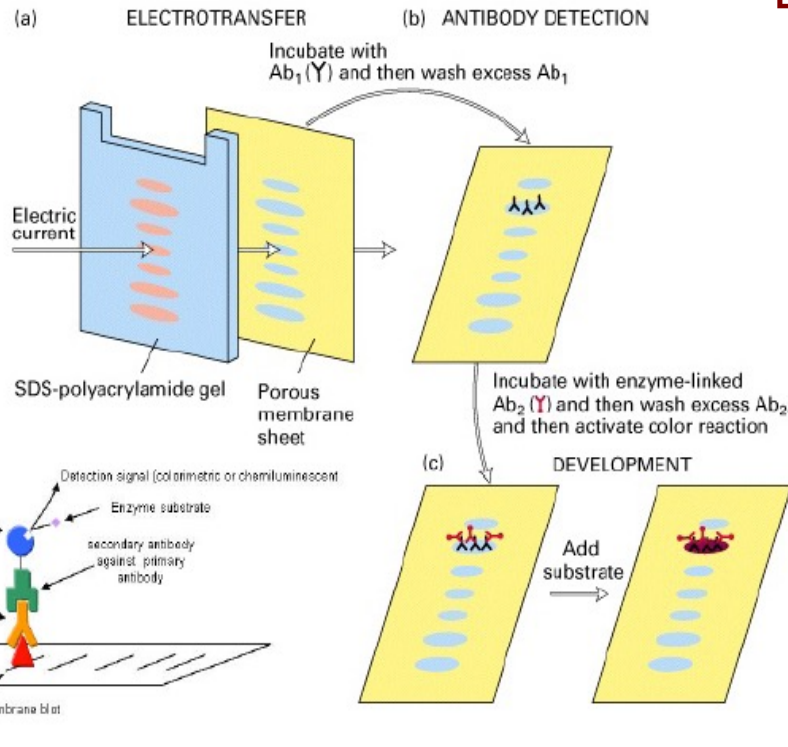


# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 2. TECHNIQUES IMMUNOCHIMIQUES

### Western Blotting

Etape 2 : Transfert des protéines sur un support solide (membrane de nitrocellulose)



Etape 3 : Incubation avec les anticorps et révélation

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

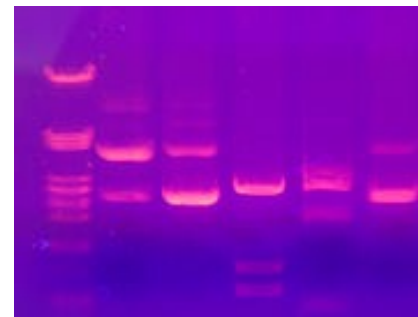
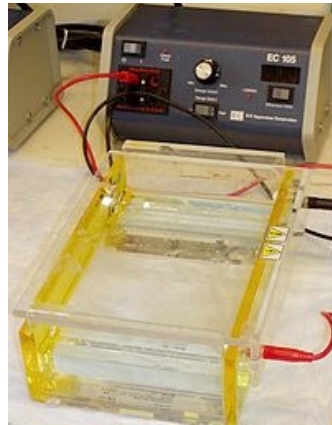
### Identification d'ARN double brin :

Les ARNs double brin sont des formes répliquatives des virus ARN simple brin (accumulation dans les tissus infectieux)

Extraction et purification complexe des ARNs double brin à partir d'une quantité importantes de tissus (2 à 10g)



Caractérisation des ARN double brin : migration sur gel



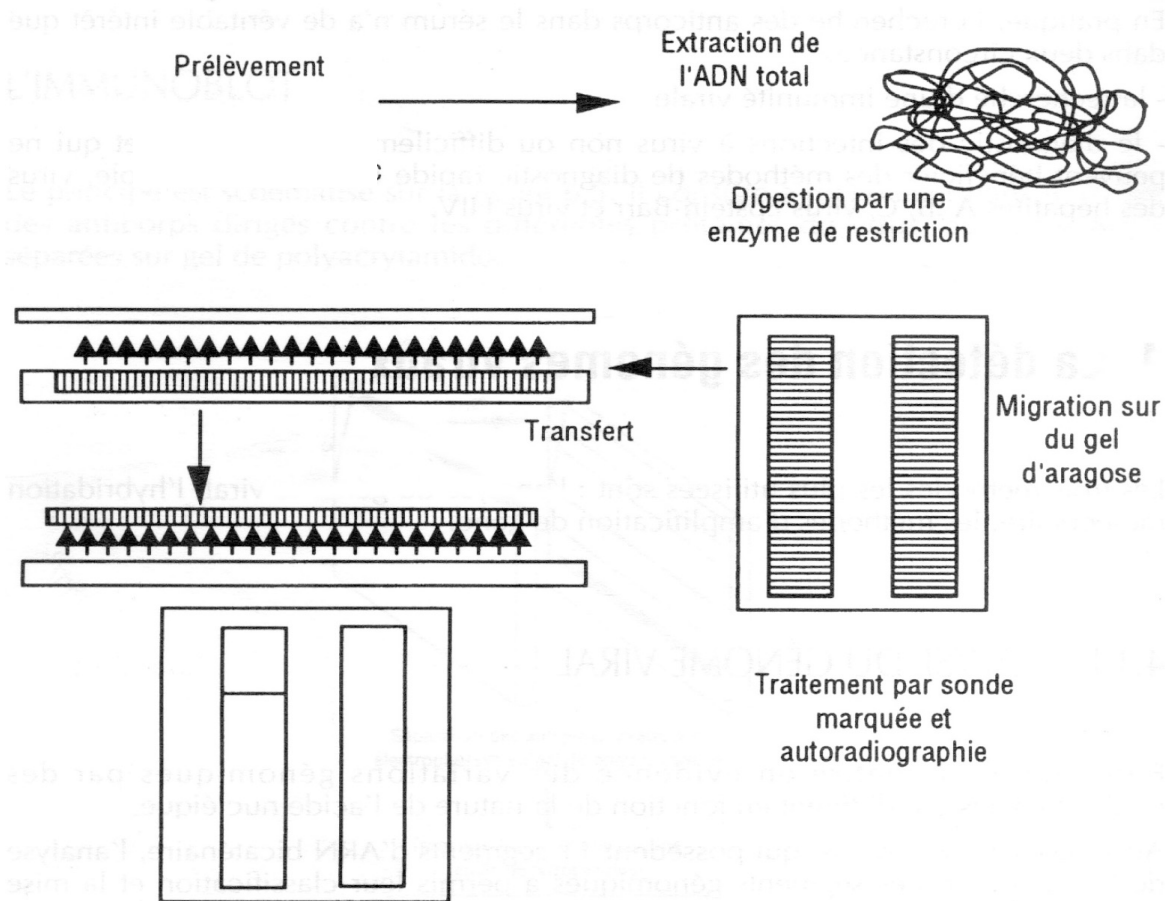
**Aucune spécificité !!**

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Hybridation moléculaire

Utilisation de sondes spécifiques



# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Hybridation moléculaire

Utilisation de sondes spécifiques

### Paramètres de l'hybridation :

Hybridation = élément essentiel

Température et concentrations en sel déterminent la stringence que l'on peut faire varier selon le degré de spécificité voulu

### Réalisation :

Sonde nucléique préalablement marquée / composé radioactif

Sondes nucléiques fluorescentes, chimioluminescentes, immuno-enzymatiques, colorimétriques.

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Hybridation moléculaire

Utilisation de sondes spécifiques

A partir des acides nucléiques extraits et dénaturés : cas le plus fréquent

**-Dot-blot** : acides nucléiques immobilisés sur une membrane

Peut être semi-quantitative mais peu sensible.

**-Southern-blot** : Digestion de l'ADN par des enzymes de restriction, puis Électrophorèse pour séparer les fragments obtenus en gel d'agarose puis transfert sur membrane

**-Northern-blot** : même chose pour détection des ARNs extraits

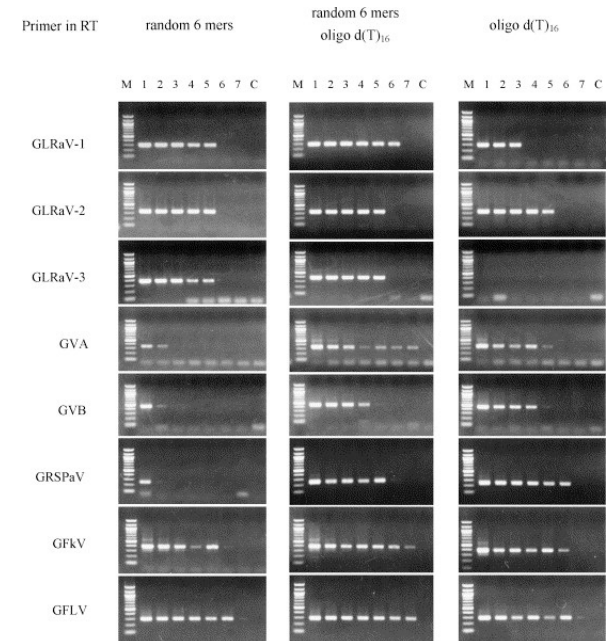
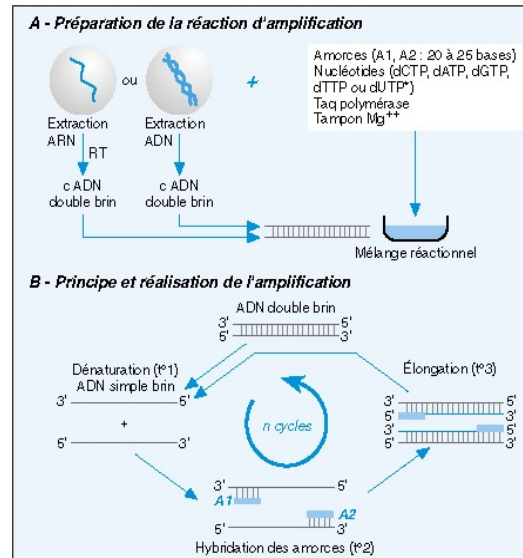
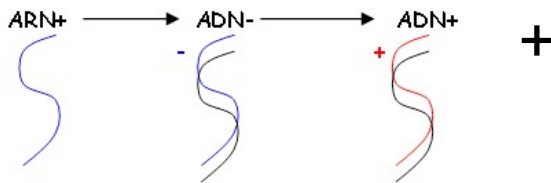
# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Amplification enzymatique : PCR et PCR en temps réel

**RT-** (Reverse transcription + **Quantitative real time PCR** pour les virus ARN)  
 A l'aide de marqueurs moléculaires (amorces) spécifiques, détection des virus par amplification génique après transcription inverse (RT - PCR).

Reverse Transcriptase :  
 ADN polymérase ARN dépendante



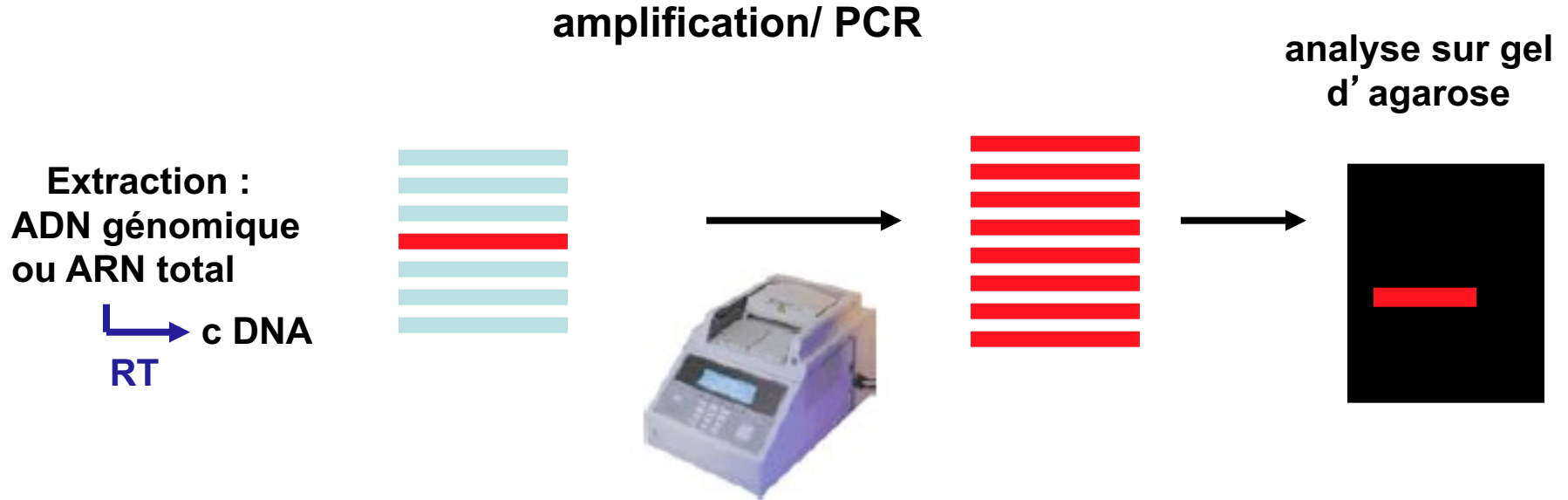
RT

+

PCR

Sensibilité 100 à 1000 à fois sup /ELISA

# La PCR traditionnelle et ses limites



**Analyse en « point terminal »** : variabilité, manque de reproductibilité

**Basée sur la détermination de la taille du fragment amplifié** : peu précise

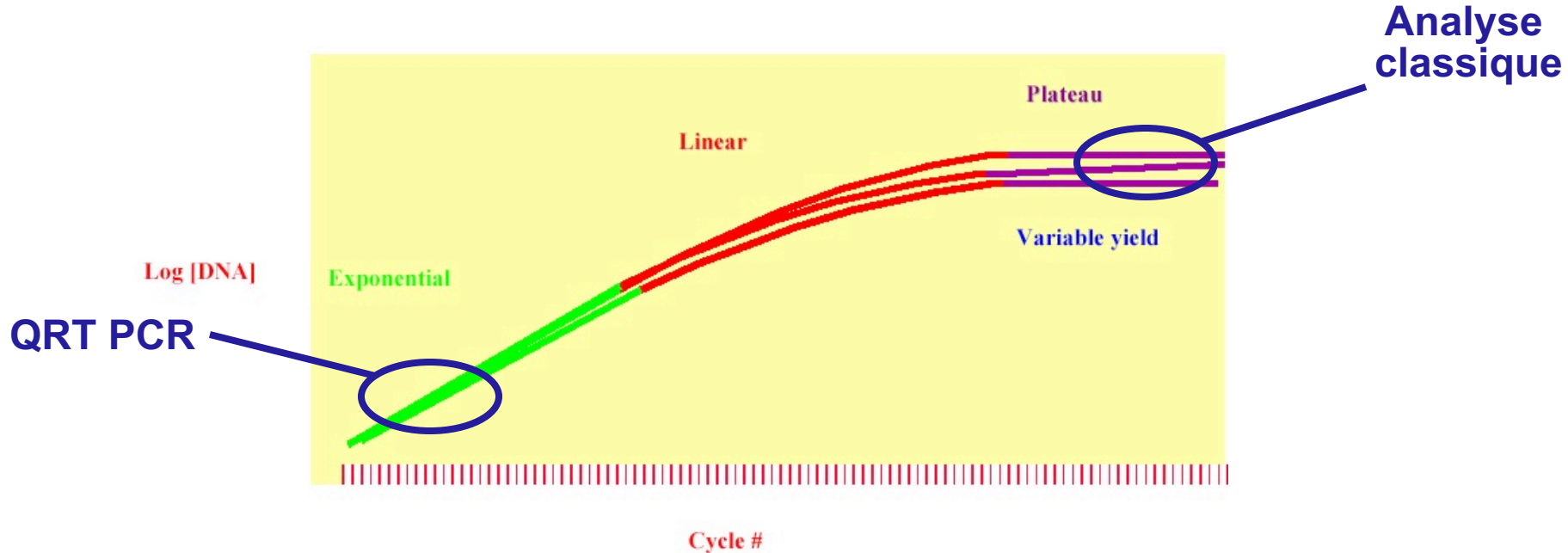
**Faible résolution** : 5 < facteur > 10

**Amplitude de détection** : 2 log



# Cinétique d'une PCR . . .

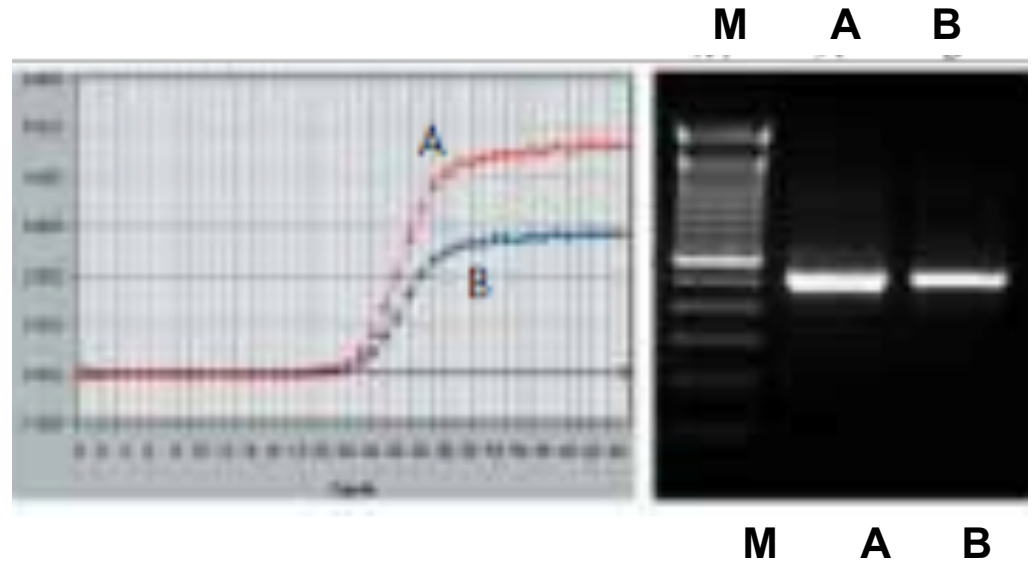
une analyse en « point terminal » est limitante



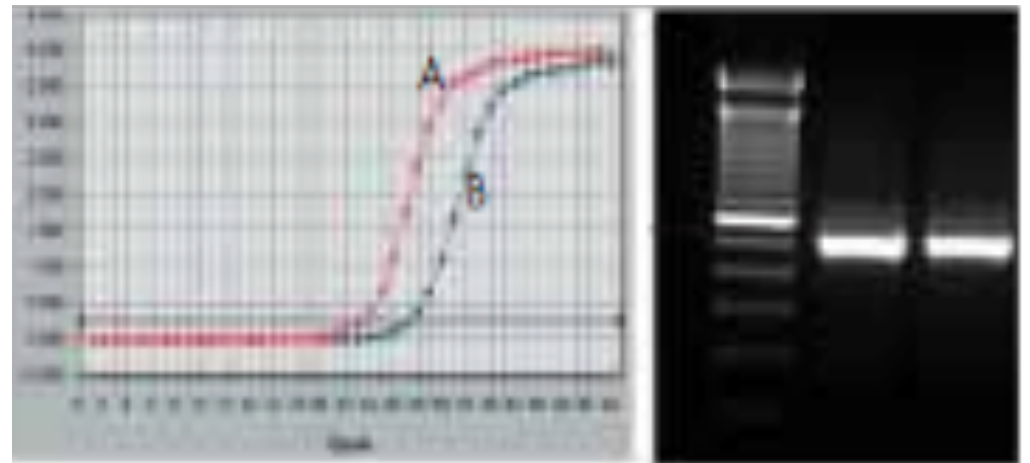
- phase exponentielle:  
efficacité, spécificité et précision maximales
- phase linéaire:  
vitesse ralentie, grande variabilité
- phase stationnaire:  
réaction stoppée, risque de dégradation des produits

## Comparaison des deux techniques : Quantitative Real Time-PCR / point terminal

- A et B en quantités  
équivalentes



-  $\neq$  quantités de A et B



# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Amplification enzymatique

« PCR en temps réel ou quantitative Real Time PCR RT-PCR : test le plus utilisé

**Attention ici RT-PCR (Reverse transcription + PCR pour les virus ARN)**

Les méthodes de PCR en temps réel mesurent la quantité de molécules d'ADN fabriquées pendant le début de la phase exponentielle de la réaction de PCR.

Schématiquement, l'ADN fabriqué pendant la PCR est quantifié par incorporation d'une molécule fluorescente ou hybridation de deux sondes spécifiques émettant une fluorescence. Ces thermocycleurs particuliers sont équipés pour la lecture continue (en temps réel) de la fluorescence émise.

**Quantification ABSOLUE : détermination d'une charge virale  
détermination exacte du nombre de copies par étalonnage !**

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Amplification enzymatique : PCR en temps réel

Technique permettant de suivre, en temps réel, cycle par cycle, la formation des produits amplifiés grâce à des sondes fluorescentes, hybridées et activées simultanément à l'amplification. Amplification et détection en même temps, pas de traitement post-PCR

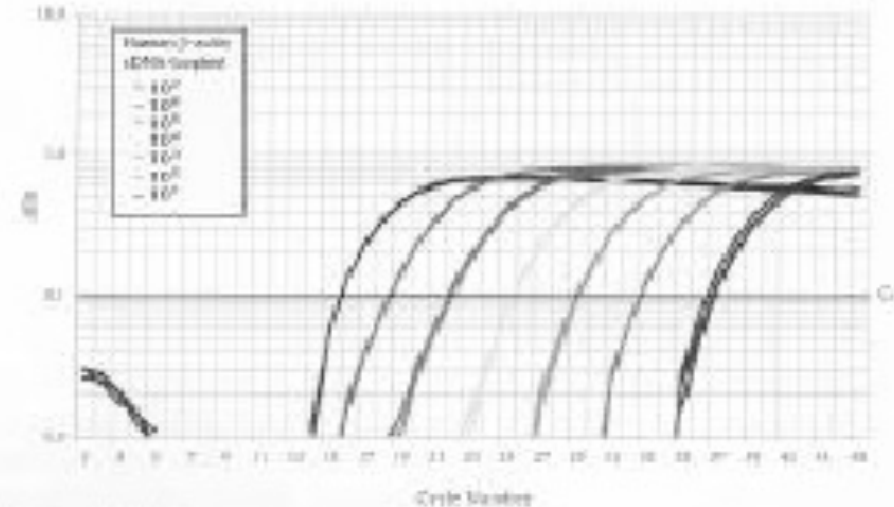
Durée d'amplification < 1h

Le nombre de cycles détermine la concentration.

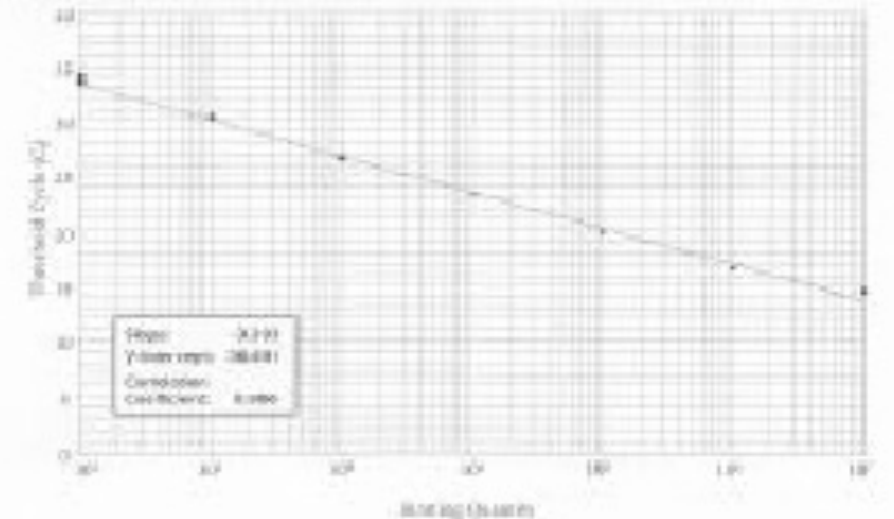
Courbe standard : pente liée à l'efficacité de la PCR

Travail dans la zone exponentielle de la courbe et non point final

A: Amplification Plot



B: Standard Curve



# L'analyse en temps réel nécessite un reporter fluorescent

## Différentes sondes disponibles

### Methods of fluorescence detection

SYBR Green



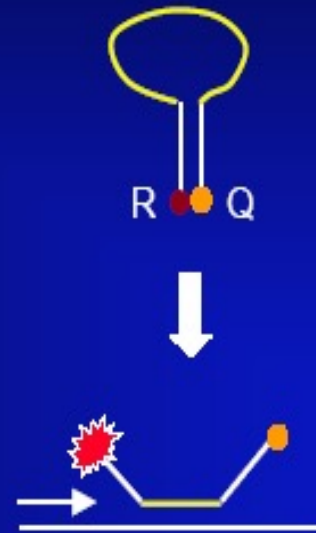
SYBR Green  
Agent liant l'ADN  
double brin

Taqman



Sondes TaqMan  
hydrolysables  
Cf. activité 5'  
exoncléasique  
de la polymérase

Molecular  
Beacons



« Balises »

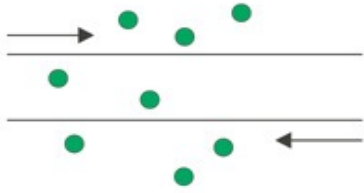
Light  
Cycler



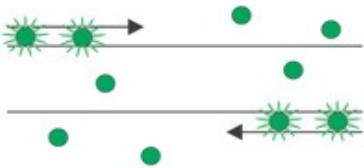
Sondes hybridantes  
Light Cycler

## a SYBR Green I

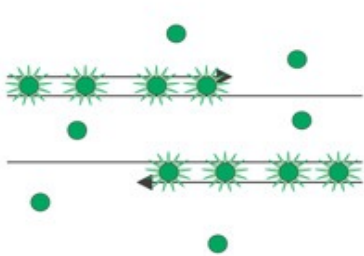
Annealing phase



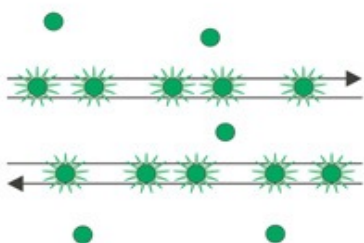
Extension phase (I)



Extension phase (II)



End of PCR cycle



Emission en fin  
d'élongation

## SYBR Green (Agent intercalant)

Marquage non spécifique de l'ADN double brin

Quand l'ADN est dénaturé les molécules SYBR Green sont libérées et la fluorescence réduite

Au cours de la polymérisation, le SYBR Green se lie aux acides nucléiques : émission de la fluorescence

Le complexe ADN/SYBR Green absorbe la lumière bleue (497 nm) et émet de la lumière verte (520 nm)

- Fluorescence non spécifique  
Excitation 497 nm; émission 520 nm
- Spécificité liée aux amorces

# L'analyse en temps réel nécessite un reporter fluorescent

Différentes sondes disponibles :

## Methods of fluorescence detection

SYBR Green



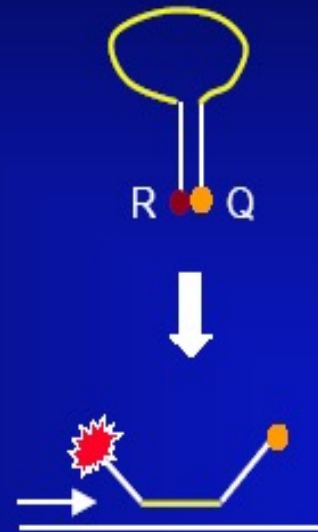
SYBR Green  
Agent liant l'ADN  
double brin

Taqman



Sondes TaqMan  
hydrolysables  
Cf. activité 5'  
exoncléasique  
de la polymérase

Molecular  
Beacons



« Balises »

Light  
Cycler



Sondes hybridantes  
Light Cycler

# Principe de FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer)

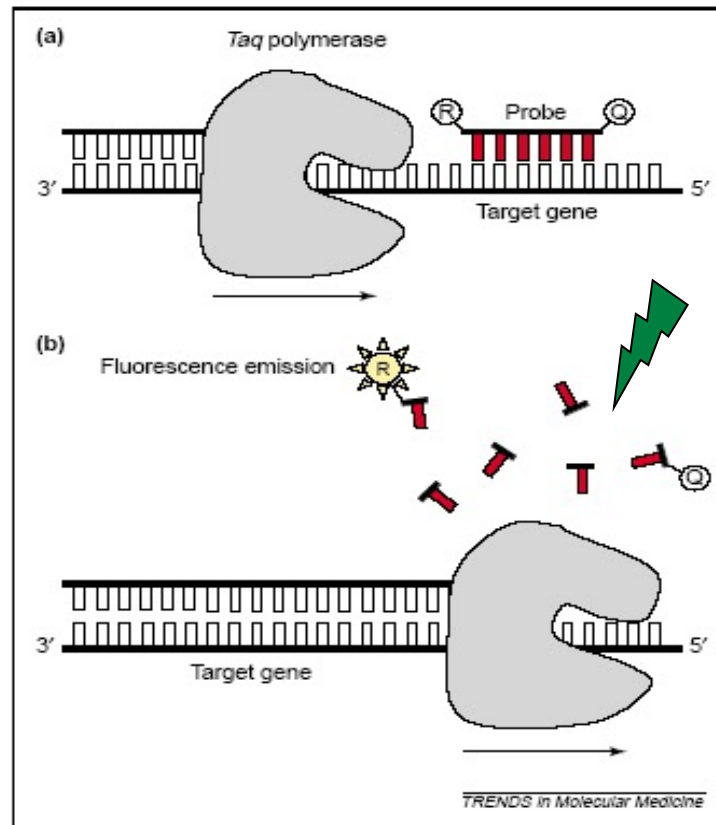
L'énergie émise par un **fluorochrome Reporter** est absorbée par un **Quencher**.

Pour que cette adsorption fonctionne = proximité entre R et Q

**Hydrolyse de sondes :**

**Technologie TaqMan :** le **fluorophore émetteur** transfère son énergie au fluorophore suppresseur voisin par principe du FRET

**DNA Polymerase  
5' exonuclease  
activity**



**Emission lors de la  
polymérisation**



# L'analyse en temps réel nécessite un reporter fluorescent

Différentes sondes disponibles :

## Methods of fluorescence detection

SYBR Green



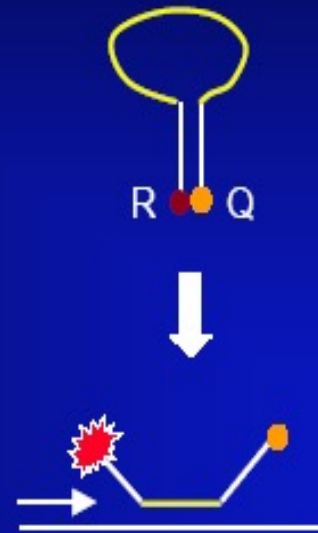
SYBR Green  
Agent liant l'ADN  
double brin

Taqman



Sondes TaqMan  
hydrolysables  
Cf. activité 5'  
exoncléasique  
de la polymérase

Molecular  
Beacons



« Balises »

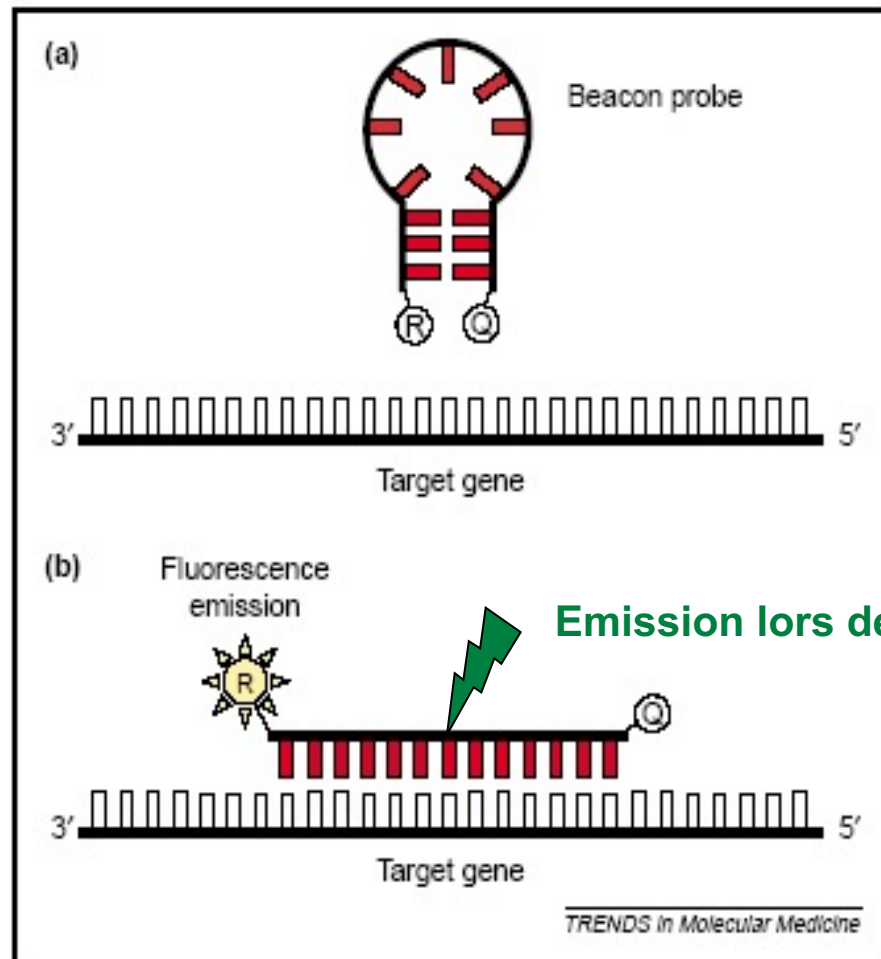
Light  
Cycler



Sondes hybridantes  
Light Cycler

# Balises moléculaires : molecular beacons (sondes en épingle à cheveu)

Balise en solution = énergie quenchée, hybridation = éloignement donc émission de fluorescence



# L'analyse en temps réel nécessite un reporter fluorescent

Différentes sondes disponibles :

## Methods of fluorescence detection

SYBR Green



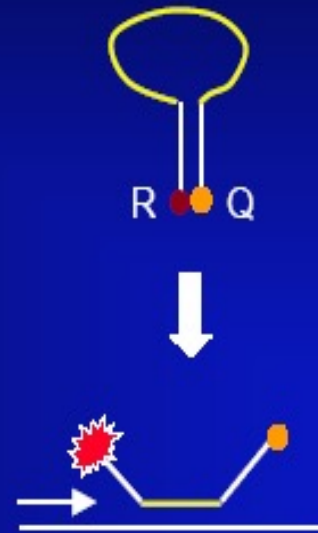
SYBR Green  
Agent liant l'ADN  
double brin

Taqman



Sondes TaqMan  
hydrolysables  
Cf. activité 5'  
exonucléasique  
de la polymérase

Molecular  
Beacons



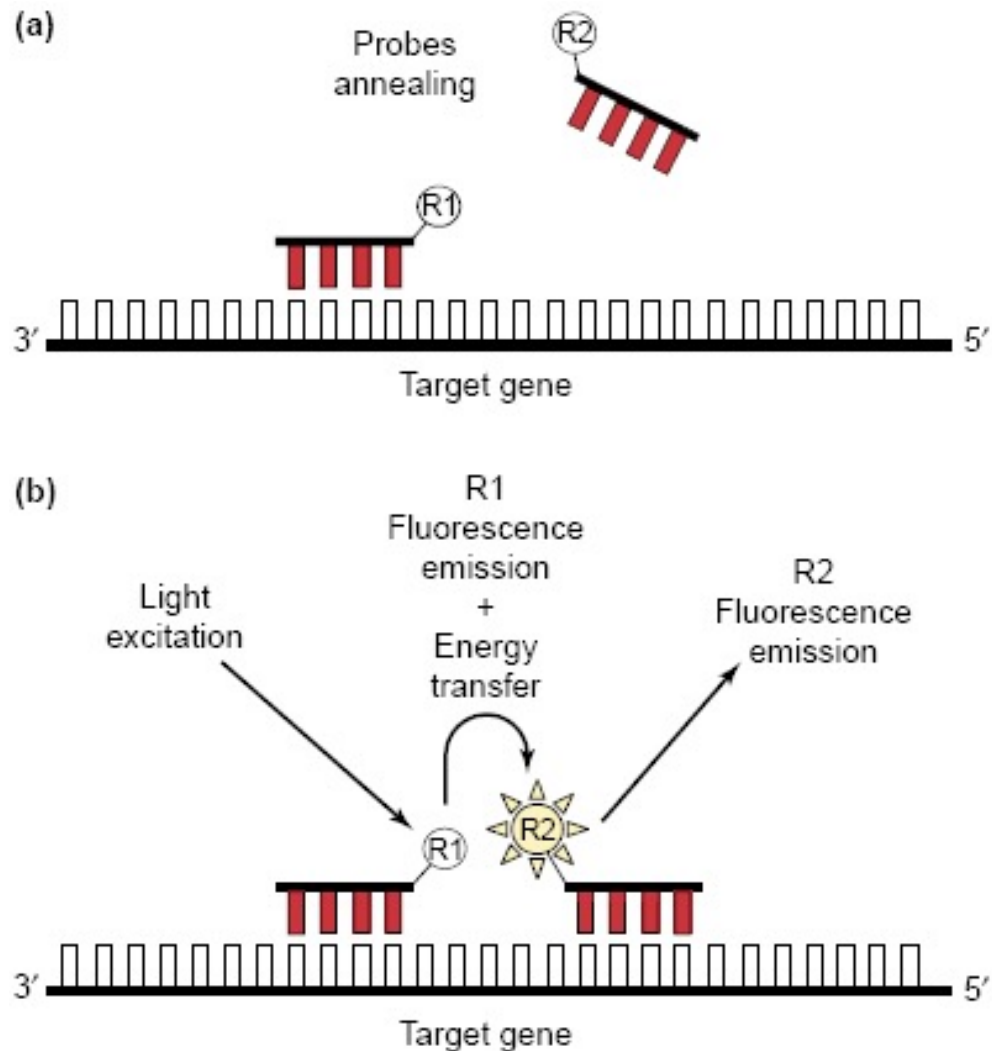
« Balises »

Light  
Cycler



Sondes hybridantes  
Light Cycler

**Sondes LightCycler** : deux sondes. Une première contenant un Reporter Donneur et une deuxième un accepteur réémettant dans une autre longueur d'onde et dont les deux sites d'hybridation sont proches sur la séquence.



# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Amplification enzymatique

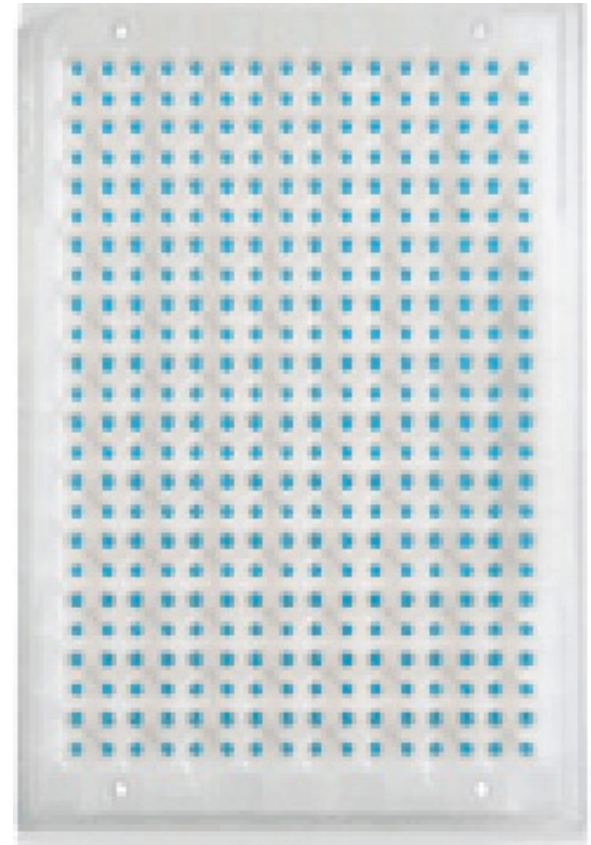
### Low density array

### Microplaque de 384 cupules

Variante de la technique de PCR en temps réel

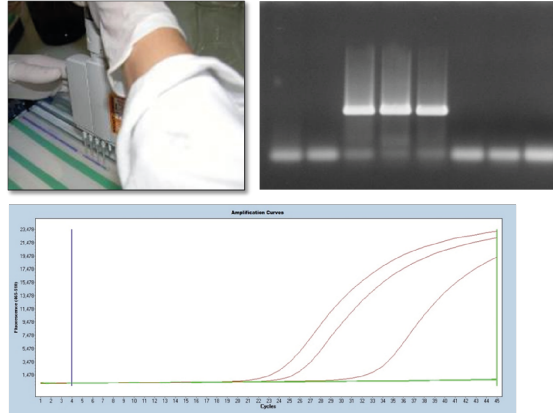
Utilisation TaqMan primers et de sondes lyophilisées

Ajouter cDNA + PCR master mix



# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux



Cette méthode va chercher à détecter une séquence spécifique **du génome du virus recherché**. Cette méthode est **plus sensible** que le test ELISA, permet aussi de rechercher un plus grand panel de virus. Elle est aussi plus onéreuse. Étant donné sa plus grande sensibilité par rapport aux tests ELISA, elle peut être utilisée **toute l'année** sur bois ou feuilles pour détecter la quasi-totalité des virus.

Dans le cas de la sélection sanitaire, elle est utilisée en amont pour **l'agrément des clones** en complément de l'indexage et des tests ELISA avant toute diffusion du matériel initial. Elle peut être aussi utilisée pour vérifier l'état sanitaire de plants présentant ou non des symptômes

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Amplification enzymatique

#### Nucleic acid sequence based amplification (NASBA)

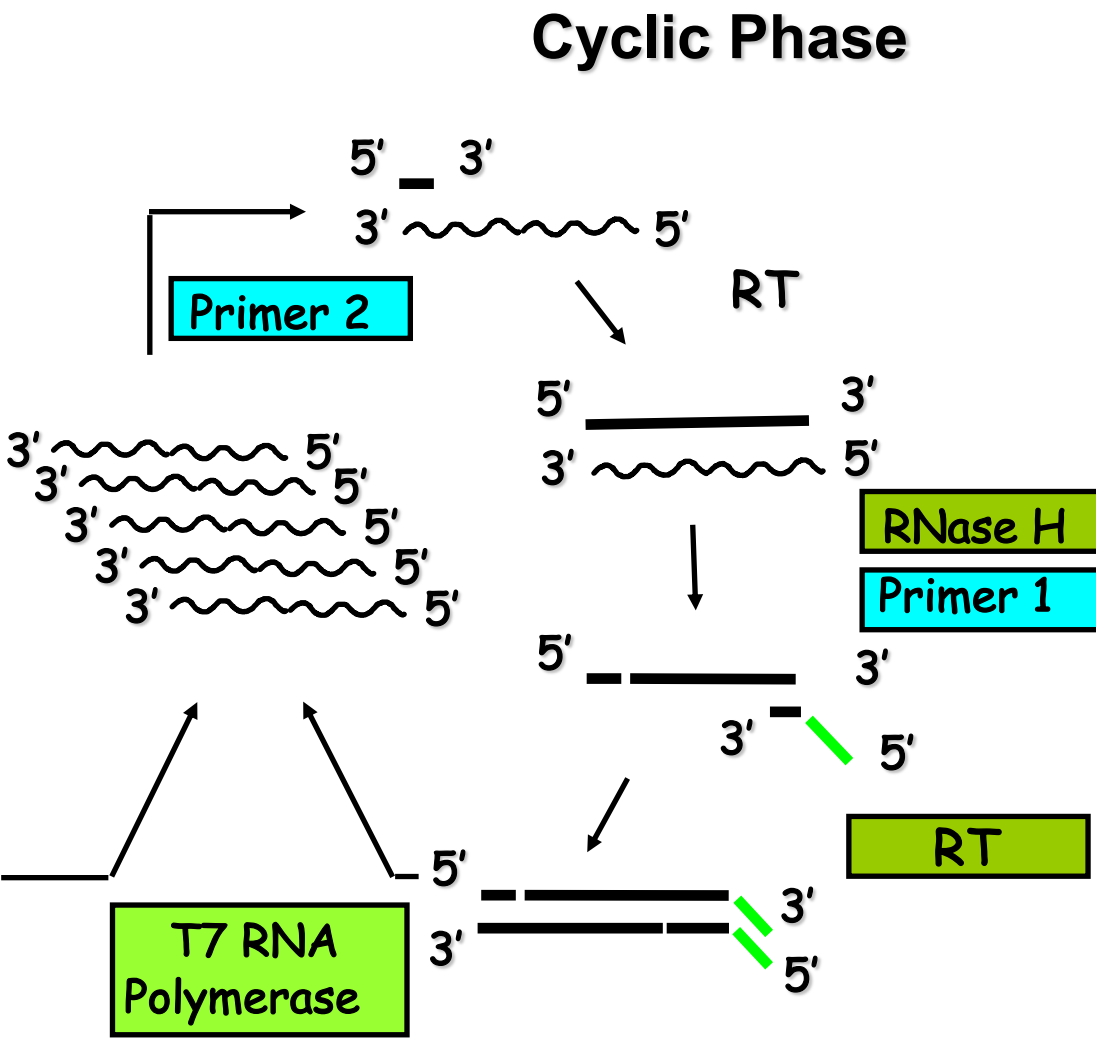
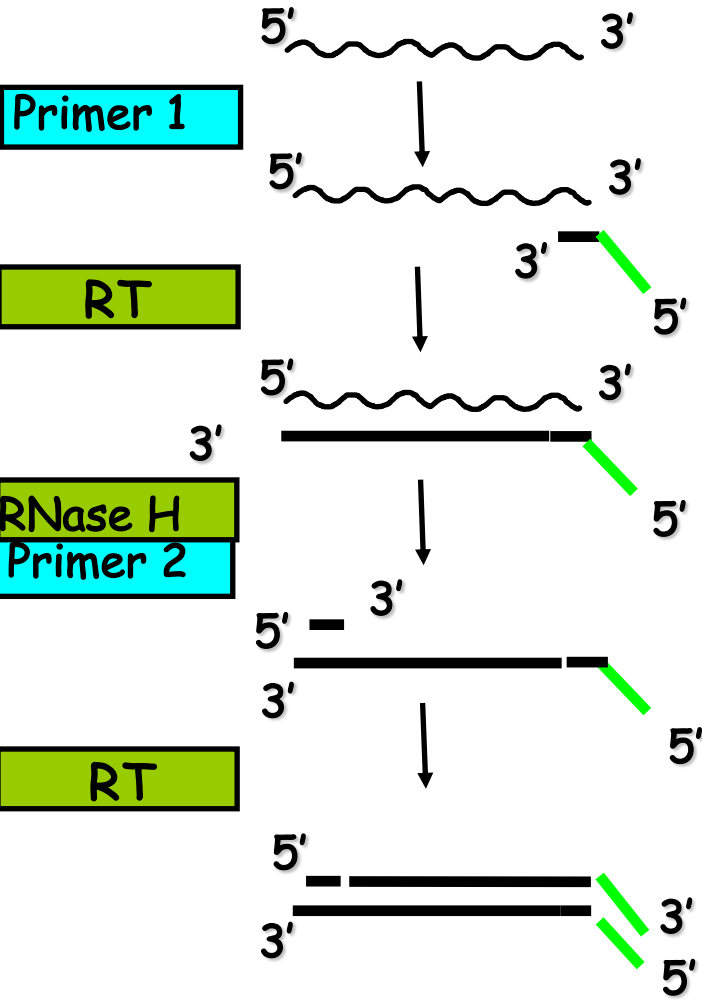
Technique **NASBA** (nucleic acid sequence-based amplification) développée par J. Compton en 1991 (*Nature*. 1991;350(6313):91-2).

La **NASBA** : **technique isotherme d'amplification d'ARN** inspirée du processus transcriptionnel observé chez les virus et les cellules.

Un ARN cible est recopié en son ADN complémentaire à l'aide d'une transcriptase inverse. Une RNase H permet l'élimination de l'ARN, puis l'ADNc est transcrit en ARN à l'aide d'une ARN polymérase.

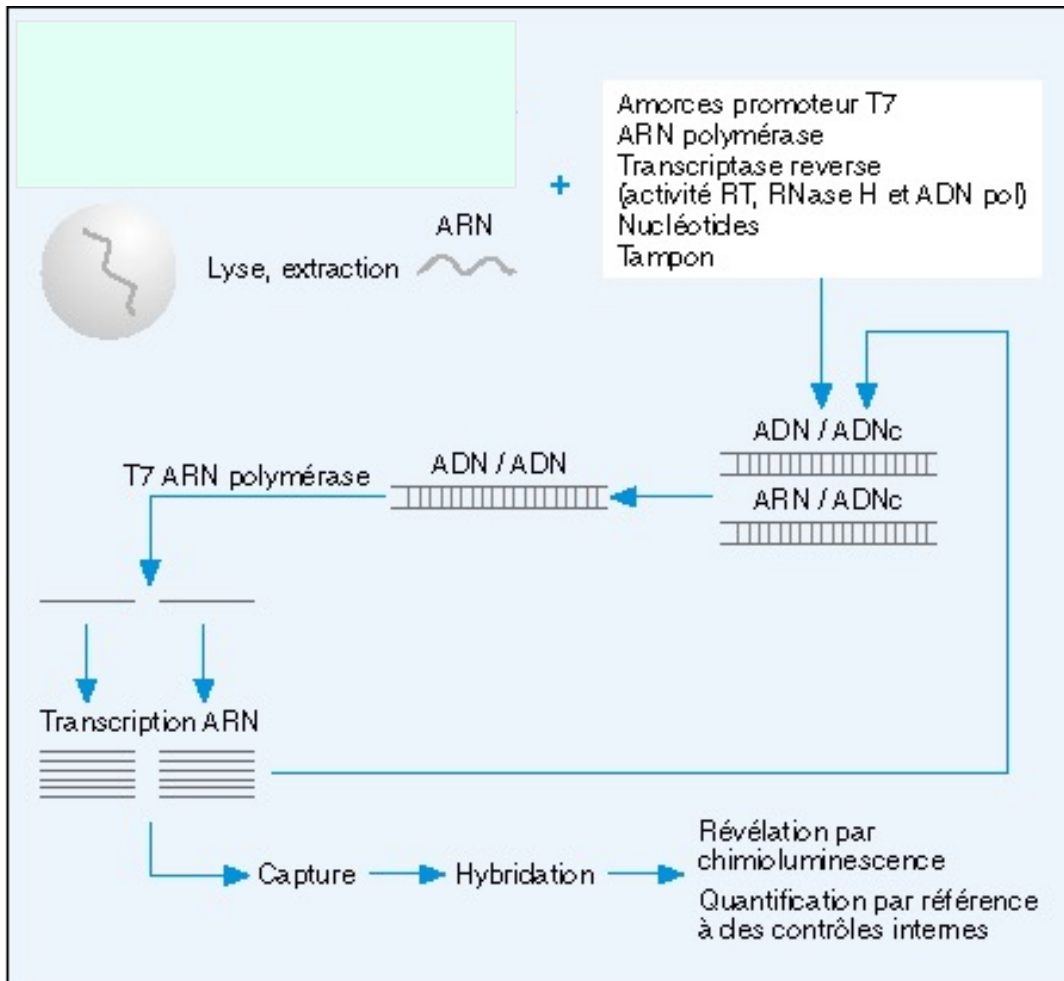
Ce processus aboutit en quelques cycles à une amplification d'environ 100 à 1000 fois la quantité d'ARN présente dans l'échantillon. **Cette méthode peut être rendue quantitative par l'introduction de contrôles internes dans l'échantillon. Le fait qu'elle soit isotherme (généralement utilisation d'une température constante de 41° C) la rend plus rapide et plus économique que la PCR classique**

# NASBA





# Nucleic acid sequence based amplification (NASBA)

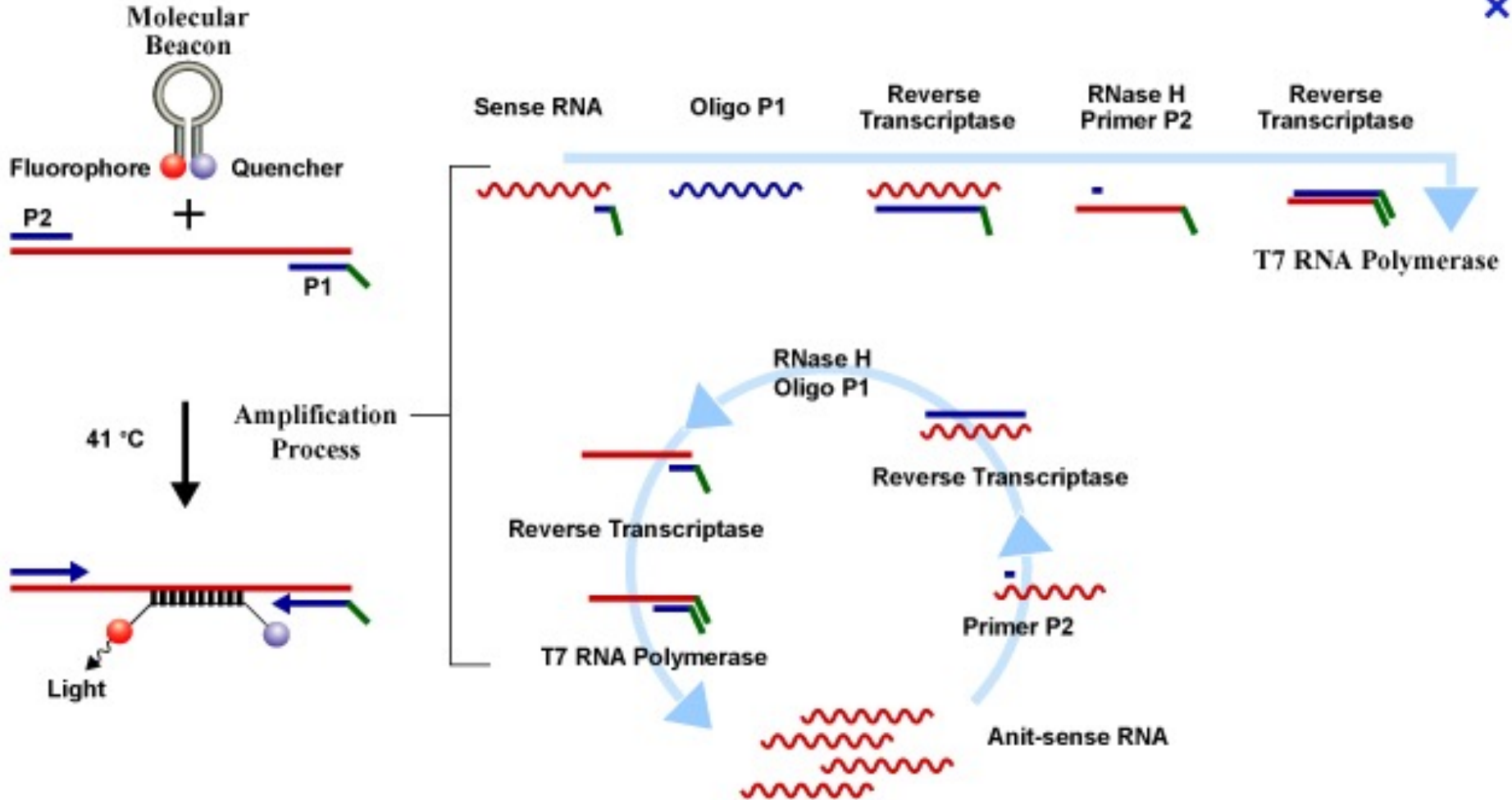


Détection des amplicons :

- Migration sur gel d'agarose + bromure d'éthidium
- Migration puis transfert sur membrane + sondes chimioluminescentes etc...
- Migration et détection ELGA (enzyme linked gel assay)

Contrôle interne (utilisation indispensable de contrôle interne)

# Nucleic acid sequence based amplification (NASBA)



# Nucleic acid sequence based amplification (NASBA)

La technique de NASBA est utilisée :

- pour le diagnostic médical de nombreux virus : VIH-1, Virus de la grippe, SARS etc
- pour la détection d'agents pathogènes dans les aliments et l'eau :  
Campylobacter spp, Cryptosporidium parvum, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Salmonella enterica, Hepatitis A Virus, Rotavirus, Etc ...
- pour la détection de virus de plantes  
Ex: Potato virus Y, NASBA + Northern blot + Molecular beacons (Szemes et al., 2001)

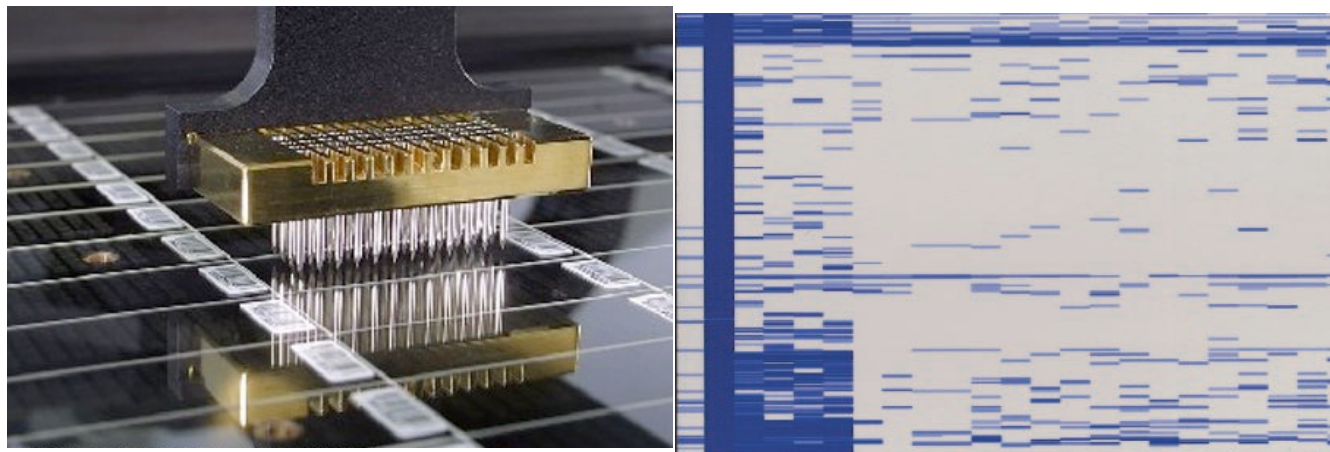
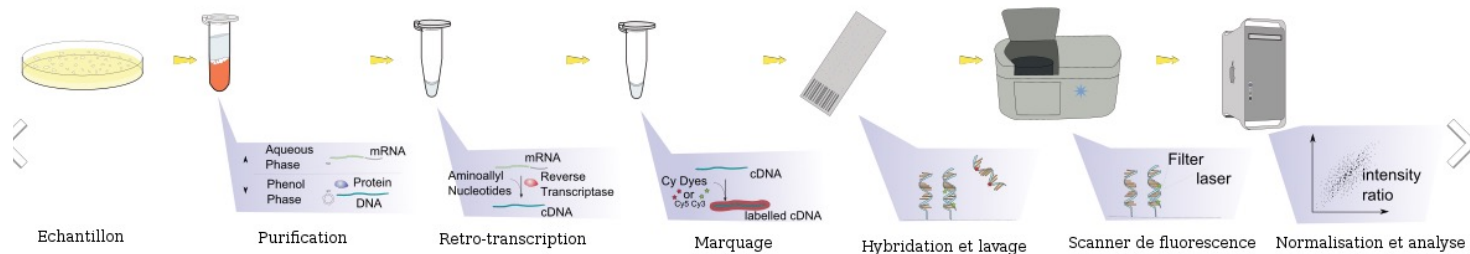
Amplification sans changement de température (T7 ARN pol, RT)  
Rendement supérieur / PCR, mais parfois amplifications parasites

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Détection des génomes viraux par la technique des puces à ADN

#### Microarray-based detection and genotyping of viral pathogens



- Carte contenant des sondes ADN spécifiques des micro-organismes recherchés
- Ajout des acides nucléiques extraits à partir de l'échantillon
- Présence de l'hybridation révélée par lecture informatisée de la puce
- Détection simultanée de plusieurs virus

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

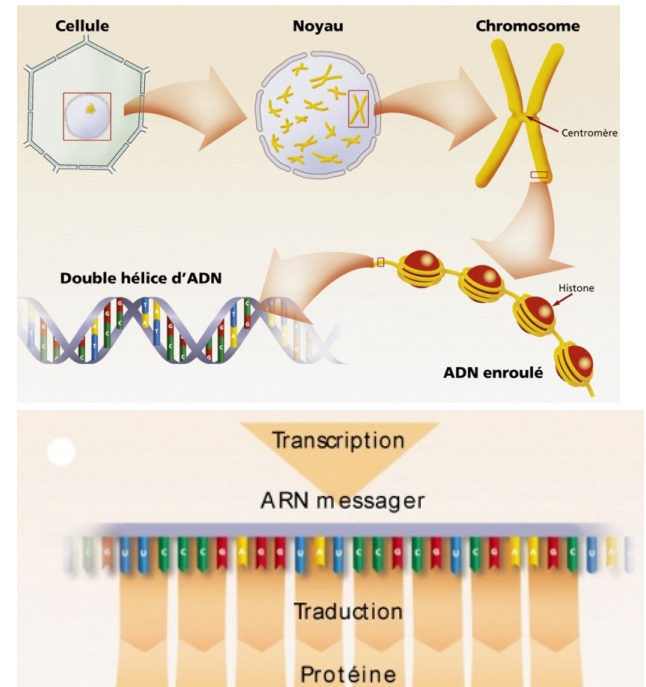
## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Séquençage à haut-débit



Permet de séquencer tous les acides nucléiques d'un échantillon :

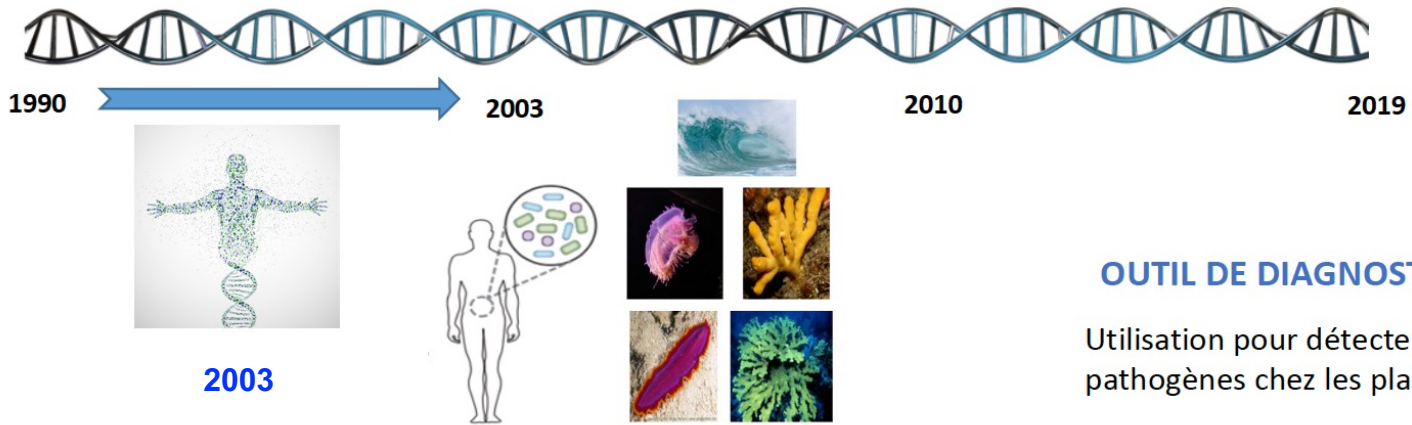
- ADN (information génétique ou génome)
- ARN (expression du génome ou transcriptome)
- toutes autres organismes (micro ou macro) présents au sein de l'échantillon (champignon, bactérie, virus, le reste de l'environnement vigne ...)



# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

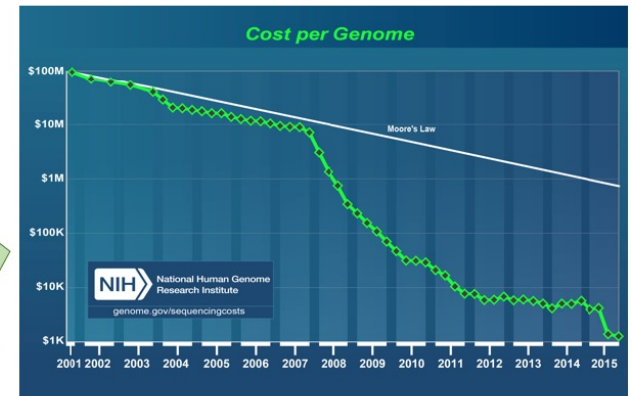
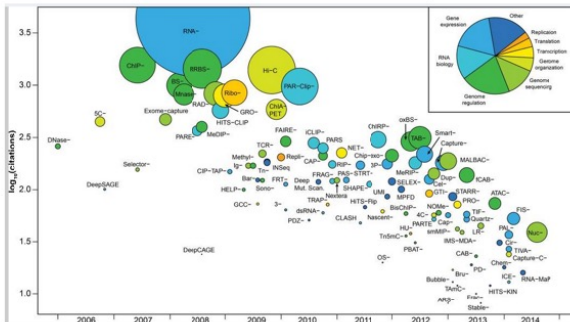
### Séquençage à haut-débit (Next generation sequencing)



#### OUTIL DE DIAGNOSTIC

Utilisation pour détecter des pathogènes chez les plantes

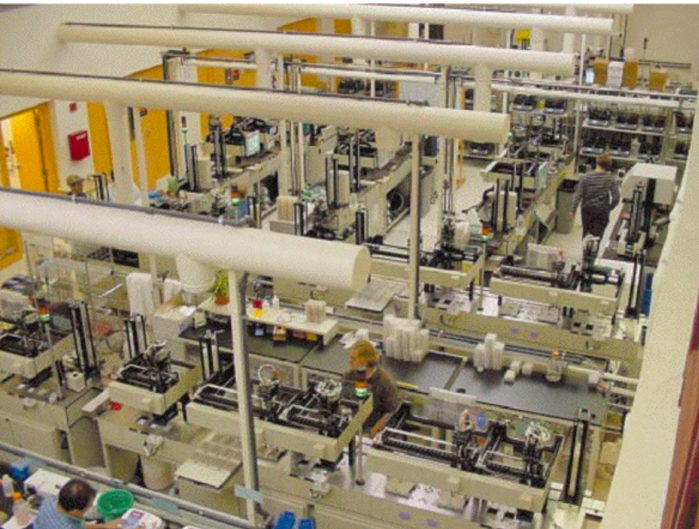
- Transcriptomique
- Métagénomique Environnementale:
  - microbiote humain
  - métagénome marin...



# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3.TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Séquençage à haut-débit (Next generation sequencing)



2001, la ligne de production automatique pour le séquençage du génome humain au Whitehead Institute, Center for Genome Research.

Capacité de séquençage : **environ 1500 nucléotides par poste en quelques jours.**



en 2016, un séquenceur [Illumina](#).

Capacité de séquençage : 5 milliards de lectures x [300 paires de bases] = **1500 milliards de nucléotides en quelques heures.**



Le séquenceur ultra-portable [MinION](#) (Oxford nanopore technology) - dit de [3<sup>e</sup> génération](#) - a été utilisé en temps réel sur le terrain lors de [la crise Ebola](#) de 2015 et de la crise Zika en 2016

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE

## 3. TESTS MOLECULAIRES : détection des génomes viraux

### Séquençage à haut-débit (Next generation sequencing)

Ces techniques permettent le séquençage d'un nombre colossal de nucléotides (jusqu'à  $10^{12}$  nucléotides séquencés par expérience) à un coût nettement moindre qu'avec la méthode de Sanger.

Séquençage en un temps record : ces technologies de séquençage permettent d'amplifier spécifiquement un fragment d'ADN isolé, en évitant les étapes de clonage bactérien particulièrement longues.

Ces méthodes sont parallélisées : des millions de réactions ont lieu en même temps dans des barrettes qui contiennent des puits minuscules en fibre optique.

Les fragments séquencés sont courts : actuellement de 30 à environ 250 paires de base selon la technologie. La petite taille et le nombre très élevé des fragments séquencés induit un travail d'analyse bioinformatique colossal.



# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE & LIMITES

## 1. TEST BIOLOGIQUE : INDEXAGE BIOLOGIQUE

L'indexage biologique permet d'identifier la maladie, mais ne permet pas d'identifier le virus spécifique responsable des symptômes.

**Exemple :** L'enroulement viral peut correspondre à l'infection par l'un des 9 « Grapevine Leafroll associated Virus » or, chacun de ces 9 différents virus entraîne les mêmes symptômes sur la variété indicatrice *Vitis vinifera* cv. Cabernet Franc.

Autres limitations : le temps et l'espace

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE & LIMITES

## 2. TECHNIQUES IMMUNOCHIMIQUES : ELISA / WB

Bien que cette méthode (ELISA) soit reproductible et sensible elle présente certains désavantages :

- Incapacité de détecter le virus lorsque la charge virale est faible (Cf. virémie variant suivant la période de l'année, en fonction de l'échantillon : feuilles, le bois etc.)
- Absence de source d'anticorps spécifiques et difficulté d'en produire.

# VIROSES DE LA VIGNE & DÉPISTAGE & LIMITES

## 3. TESTS MOLECULAIRES

**PCR classique** : 100 à 1000 fois plus sensible que l'ELISA

Il peut toutefois exister des problèmes en particulier liés à la détection sur gel d'agarose

→ Perte de spécificité et efficacité.

**qRT-PCR (temps réel)** : technique permettant de palier les problèmes de la PCR classique. Quantification absolue du nombre de copies d'un génome viral, pas de problème concernant la concentration de virus dans l'échantillon

**Low Density Array** (LDA, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) : Méthode issue de la TaqMan PCR. Utilisation de microplaques de 384 puits. Oligos et sondes déshydratés.

Détection de 13 virus de la vigne différents.



**La préparation des échantillons est cruciale car :  
COMPOSES POLYPHENOLS ET POLYSACCAHRIDES !!!!!!!**

# VIROSES DE LA VIGNE & LUTTE

## 1. SÉLECTION SANITAIRE :

**Stratégie préventive.** Seule méthode permettant de limiter la diffusion des virus et viroses de vigne. **La sélection sanitaire est dans la sélection clonale complémentaire à la sélection génétique.** La sélection clonale a pour but de sélectionner et de propager, pour un cépage donné, les clones les mieux adaptés aux contraintes qualitatives et productives.

**Définition** retenue par l' OIV (Office international de la vigne et du vin) :

« un clone est la descendance végétative conforme à une souche choisie pour son identité indiscutable, ses caractères phénotypiques et son **« état sanitaire »** .

# VIROSES DE LA VIGNE & LUTTE

Certification Réglementaire Française (en application d' une directive européenne 68/193 du 9 avril 1968) :

Prise en compte les viroses : **court-noué** et **enroulement** (pour tous cultivars), **marbrure** (pour les porte-greffes).

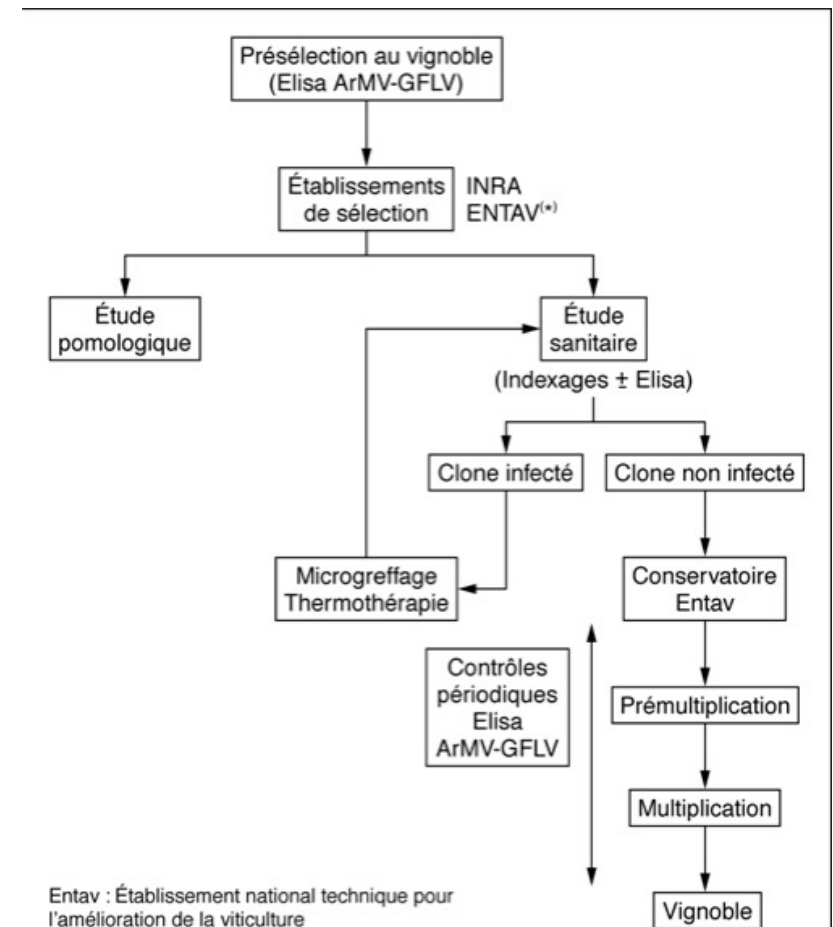
Depuis peu, prise en compte des résultats pour le **complexe du bois strié** (rupestris stem pitting, Kober stem grooving et corky bark)

La sélection clonale des variétés de porte-greffes est uniquement sanitaire puisque ces variétés sont d' origine récente et monoclonale (issues pour la plupart d' un semis unique)

# VIROSES DE LA VIGNE & LUTTE

Pour les cépages de *Vitis vinifera* : sélection sanitaire et génétique

- 1) Repérage au vignoble des souches intéressantes dites « têtes de clones »
- 1) Étude sanitaire et pomologique de chaque clone en vue de son agrément  
(indexage biologique obligatoire + éventuellement ELISA)
- 3) Expérimentation des clones agréés
- 4) Conservation et multiplication (ELISA)



**Sélection clonale de la vigne en France**

# VIROSES DE LA VIGNE & LUTTE

## 2. THERMOTHERAPIE

Croissance des plantes à des températures croissantes (35 à 38° C)

Technique efficace en particulier pour les virus localisés dans les tissus paranchymatiques (tissus constitués de cellules vivantes à paroi pecto-cellulosique perforée par des plasmodèmes permettant la communication intra-cellulaire, Nepovirus) : RNA silencing induction ?

## 3. CHIMIOETHERAPIE

Administration *in vitro* de composants chimiques possédants une activité anti-virale

Ex : Ribavirine

Mécanisme : réplication du virus ? Pb toxicité pour la plante

## 4. CRYOTHERAPIE

Congélation des cellules, tissus ou organes dans du nitrogène liquide (-196° C)

GVA (Grapevine virus A, Bois strié)

## 5. ELECTRO-THERAPIE

Application d'un courant électrique continu sur les tissus des plantes GLRaV1, GLRaV3 (Closteroviridae, enroulement), GVA (Grapevine virus A, Bois strié).

# VIROSES DE LA VIGNE & LUTTE

## 6. RÉSISTANCES NATURELLES chez les Vitaceae à des virus et leurs vecteurs.

- *Vitis* américains et leurs hybrides multiplient moins les *closterovirus* que les *Vitis vinifera*
- Espèces américaines de *Vitis* immunes aux *nepovirus* américains ( PRMV, TRSV, ToRSV)
- Résistance au GFLV pour le cultivar *Muscadinia rotundifolia* (hybride *V.vinifera* x *M. rotundifolia* et un *V.vinifera* du Moyent- Orient)

+/- abandonné !

## 7. PROTECTION INDUITE PAR PRÉMUNITION

Utilisation d'isolats hypovirulents d'un virus. Inoculation à la plante = protection vis à vis d' une surinfection par des isolats hypervirulents du même virus.



# VIROSES DE LA VIGNE & LUTTE

## 8. PROTECTION INDUITE PAR TRANSFERTS DE GÈNES VIRAUX

Démonstration de la protection pour un grand nombre de couples virus-plantes

**Transfert de gènes** d' ArMV, GFLV, GCMV, ToRSV, GVA, GVB, GLRaV-2, GLRaV-3 dans des hôtes herbacés de ces virus.

- *Nicotiana tabacum Xanthi nc* transgéniques : expression de la protéine de capsid de d' ArMV = diminution des symptômes et de la réplication virale

- *Nicotiana benthamania* transgéniques : expression de la protéine de capsid du GFLV = infection retardée, diminuée voir absente

Cépages de *Vitis vinifera* et porte-greffes transgéniques : gènes codant pour la capsid intacte ou modifiée du GFLV, de l' ArMV ou du GCMV = ? Pas de résistances

Autres essais ...

# VIROSES DE LA VIGNE & LUTTE

## 9. LA LUTTE CONTRE LES VECTEURS DE VIRUS

Traitement nématocides (attention contrat « EcoPhyto2018 »!!)

Lutte contre les cochenilles vectrices des virus : traitements spécifiques contre les cochenilles de la vigne sont rares. Application en cas exceptionnels de pullulation.

Utilisation de bactérie (*rhizobacteria*) pour contrôler les nématodes (*X. index*)

Utilisation des *Cryptoloemus montrozieri* Mulsant pour contrôler les cochenilles

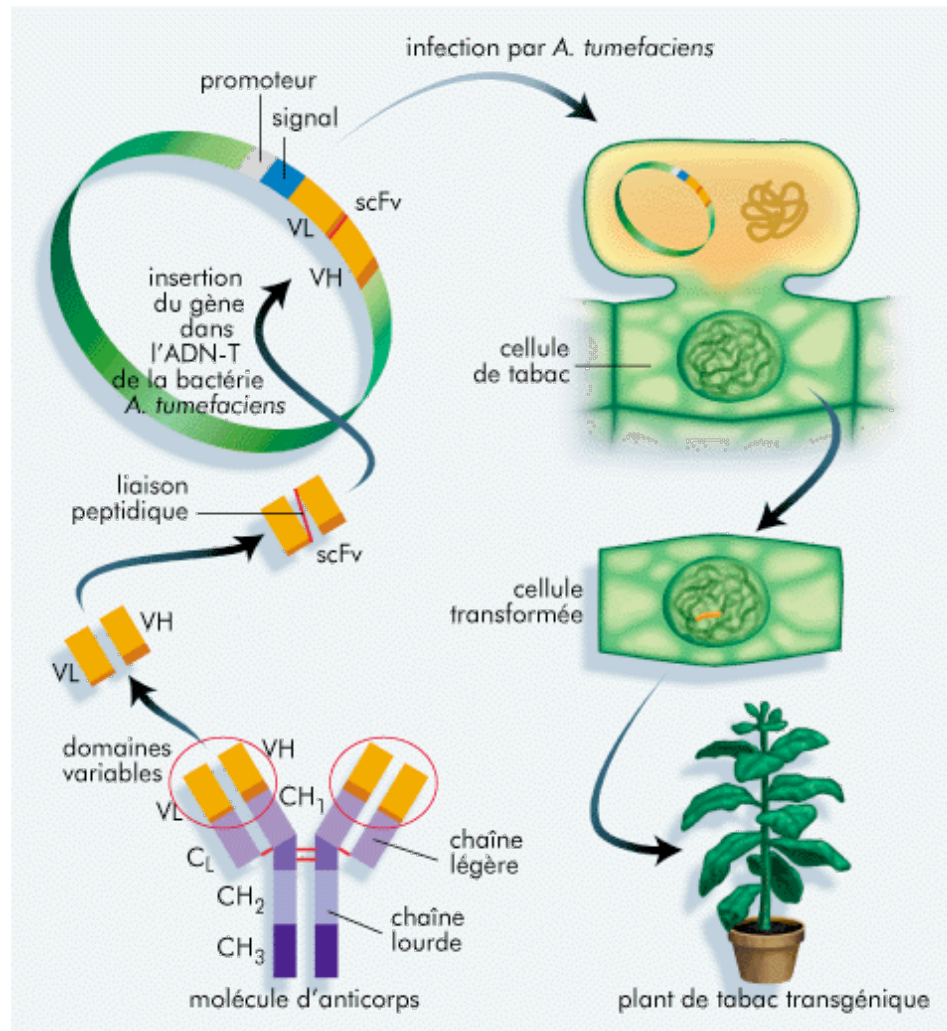
## 10. PLANTICORPS

Cf. Schéma diapositive suivante

## 11. RNA SILENCING

Mécanisme permettant d'induire les défenses innées de la plante : activation du RNA silencing.

# Planticorps



Exemple : production de plantes transgéniques de pomme de terre exprimant un fragment d'anticorps recombinant dirigé contre une protéine du PVY

# VIROSES DE LA VIGNE & LUTTE

## 12. PLANTES TRANSGENIQUES

### Porte-greffe transgénique de vigne



L'Inra a obtenu, le 28 juin 2005, l'autorisation du Ministre de l'Agriculture d'implanter un essai de porte-greffe transgénique de vigne à Colmar. Cet essai, qui avait obtenu l'avis favorable de la Commission du génie biomoléculaire en mai 2004, a pour objectif d'acquérir des connaissances sur le phénomène de résistance de la vigne au virus du court-noué, maladie mortelle pour la vigne et sans traitement

# VIROSES DE LA VIGNE & LUTTE

## 12. PLANTES TRANSGENIQUES

### **Vandalisme - Des porte-greffes transgéniques saccagés à l'INRA de Colmar**

(Publié le 08/09/2009 à 09h10 <http://www.viti-net.com/>)

Un ou plusieurs inconnus ont coupé en fin de semaine 70 porte-greffes transgéniques dans l'unité de Colmar de l'Institut national de recherche agronomique (Inra) qui a annoncé lundi un dépôt de plainte.



Des porte-greffes détruits (© Terre-net Média)

L'INRA souligne que l'expérimentation « a fait l'objet d'une démarche participative associant chercheurs, vigneron, syndicats agricoles, enseignants, élus et associations ».

Le court-noué est une maladie virale présente dans la quasi-totalité des régions viticoles du monde où elle provoque la mort des vignes et rend les terres impropres à la viticulture. Le virus est transmis de cep à cep par un nématode (ver du sol) qui s'alimente au niveau des racines. Les méthodes de lutte actuelles font appel à des produits chimiques très polluants et inefficaces.

# COURT-NOUÉ



# COURT-NOUÉ

Longtemps « maladie poubelle » : toutes les affections d'origine inconnue étaient rassemblées sous ce nom

## **Une des premières viroses dans le monde & symptômes sévères**

Savoir différencier entre une carence en bore, aux gelées, à l'influence de l'humidité etc... de ce qui fait la part de vrais symptômes de viroses

Les conséquences sont importantes : diminution de la vigueur, de la fertilité et de la production et la dégénérescence pouvant conduire à la mortalité.

# COURT-NOUÉ & SYMPTÔMES



## Sarments :

- Raccourcissements et déformation entre nœuds

- Double nœuds

*Jaunissement*

*Marbrure*

*Entre-nœuds courts*

- Fasciations



## Feuilles :

- Déformation et réduction

- Nervures primaires rapprochées aspect d'éventail (cf. »Fanleaf «)

- Limbe asymétrique avec dentelure acérée

- Couleur de la limbe modifiée : jaunissement total ou tâches

## Grappes :

- Diminution du nombre et de la taille

- Coulure

- Retard à la maturation



**Racines :** racines noires développées



# COURT-NOUÉ & SYMPTÔMES



**Panachure sur Chardonnay**



**Millerandage sur Gamay**



**Déformation de feuilles sur Chasselas.**



**Bifurcation anormale**



**Déformation foliaire  
sur indicateur *V. rupestris*  
St-George**



**Entre-noeuds courts (court-noué)**

# COURT-NOUÉ



Symptômes de panachure et de dépérissement caractéristiques du court-noué dans un vignoble de Chardonnay

# COURT-NOUÉ & SYMPTÔMES

Nature & intensité de symptômes en fonction :

- Cépage
- Isolats viraux
- Conditions climatiques
- Porte-greffe



*Cramant, Champagne, France*

Les ceps atteints se répartissent « en ronds » si la contamination s'est faite de proche en proche dans la parcelle par les nématodes.

# COURT-NOUÉ & SYMPTÔMES

## **Perturbation du métabolisme de la plante :**

- Photosynthèse
- Processus respiratoires
- Activités enzymatiques
- Transport à longue distance par le phloème
- Equilibres hormonaux
- Nutrition minérale

# COURT-NOUÉ & DÉGÂTS

## Pertes provoquées par GFLV « Grapevine Fanleaf Virus »

### Pertes de récoltes

77% Muscat à petits grains (Boubals *et al.*, 1964)

75% Chardonnay (Legin, 1970)

40 à 94% Traminer (Rüdel, 1984)

78% Chasselas (Bovey, 1970)

87% Merlot (Bovey, 1970)

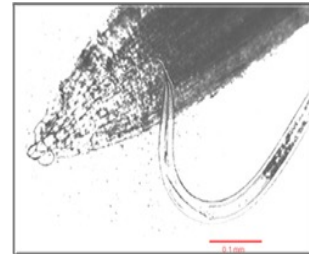
98% Pinot noir (Bovey, 1970)

### Altérations de la qualité des vins

# COURT-NOUÉ & VIRUS IMPLIQUÉS

Les virus responsables appartiennent au genre *Nepovirus*

- ++++ « Grapevine Fanleaf *Nepovirus* » (GFLV) :  
Sous -famille Comovirinae, Genre *nepovirus*  
Présent dans tous les vignobles du monde  
Transmis par un nématode « *Xiphinema index* »



En France, en plus du GFLV on trouve également :

« Arabis Mosaic Virus » (ArMV)

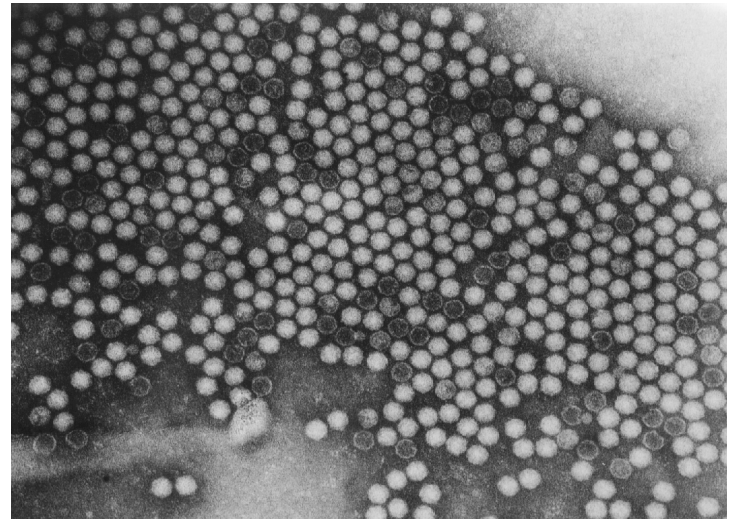
Sous-famille Comovirinae, Genre *nepovirus*

•Autres : AILV, GBLV, RRV, SLRSV, TBRV (Europe), BBLMV (USA) 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)

# COURT-NOUÉ & GFLV

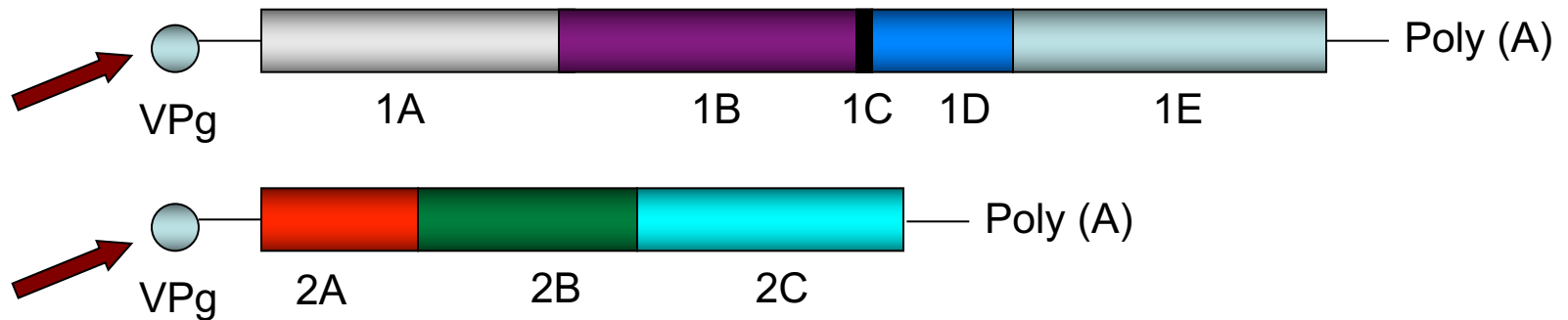
## GFLV :

- Particule virale icosaédrique, 28 nm de diamètre
- 60 sous-unités de protéine de capside
- Génome segmenté : 2 molécules d'ARN de polarité positive  
ARN1 = 7342 nt & ARN2 = 3774 nt
- Chacune des deux molécules est traduite en polyprotéines qui sont ensuite maturées :
  - P1 (253 kDa) : polyprotéine clivée en 5 protéines
  - P2 (122 kDa) : polyprotéine clivée en 3 protéines



# COURT-NOUÉ & GFLV

## Organisation génomique du GFLV



1A : 46kDa fonction inconnue

1B : 88 kDa hélicase putative

1C : VPg « viral genome linked protein »

1D : 24 kDa protéinase

1E : 903 kDa ARN polymérase ARN dépendante putative

2A : 28 kDa fonction inconnue (formation du complexe viral ?)

2B : 38 kDa protéine de mouvement

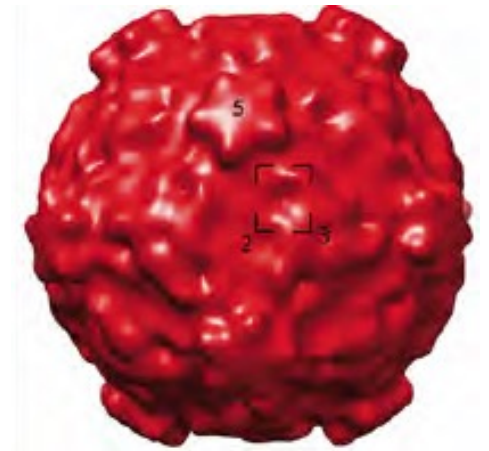
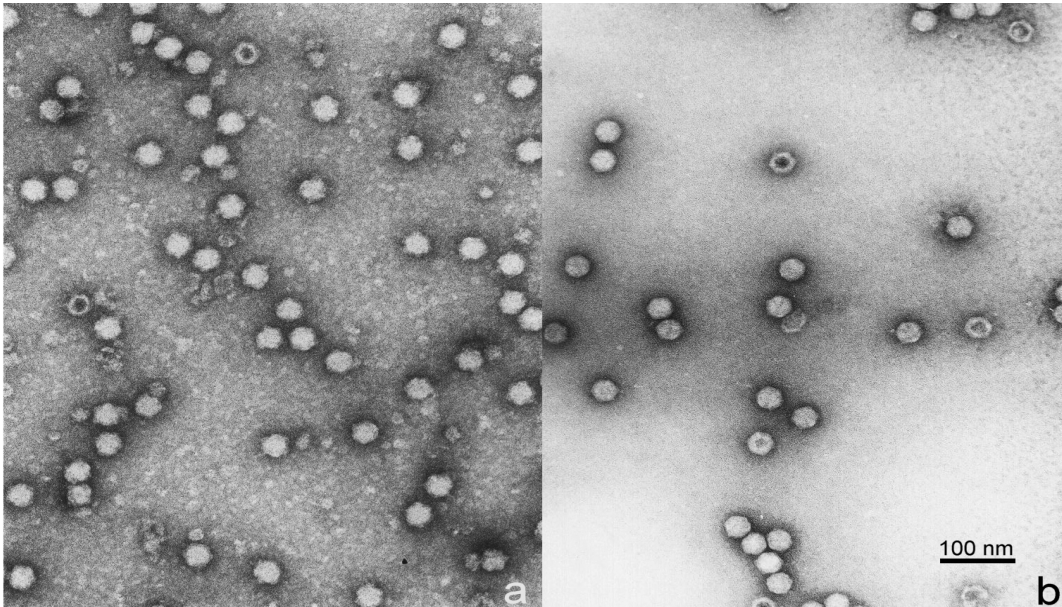
2C : 56 kDa protéine de capside



# COURT-NOUÉ & ArMV

## ArMV :

- Génome également entièrement séquencé
- Organisation génétique identique à celle du GFLV
- Fortes homologues de séquences avec GFLV



Structure tridimensionnelle de la particule d'ArMV. Les axes de symétrie sont indiqués (2, 3 et 5). La zone encadrée pourrait correspondre au site d'interaction avec le nématode (INRA Colmar).

# COURT-NOUÉ & ÉPIDEMIOLOGIE

## Transmission :

- soit par matériel (boutures de greffons, porte-greffes)
- soit par des nématodes à stylet (*Xiphinema index* pour GFLV, *Xiphinema diversicaudatum* pour l' ArMV)



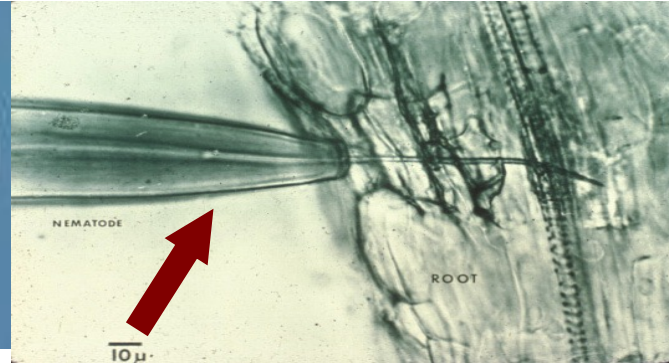
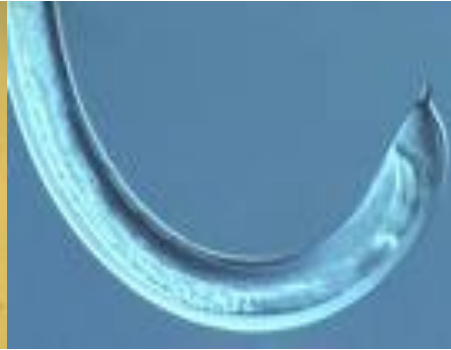
# COURT-NOUÉ & ÉPIDÉMIOLOGIE

*Xiphinema index* ne transmet que le GFLV et le GFLV n'est transmis que par *Xiphinema index* :

- Très présent en Provence, Languedoc-Roussillon, basse et moyenne vallée du Rhône
- Présence fréquente : Champagne, Bourgogne et Alsace
- Et aussi : dans le Sud-Ouest, Vallée de la Loire, Jura, Corse



1 à 3 mm de longueur pour 50 µm de diamètre.



Stylet

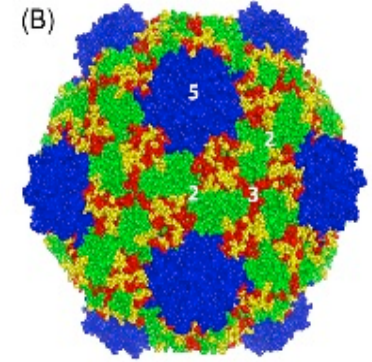
*Xiphinema diversicaudatum* pour l' ArMV



## A Stretch of 11 Amino Acids in the $\beta$ B- $\beta$ C Loop of the Coat Protein of *Grapevine Fanleaf Virus* Is Essential for Transmission by the Nematode *Xiphinema index*<sup>†</sup>

Pascale Schellenberger,<sup>1,2</sup> Peggy Andret-Link,<sup>1</sup> Corinne Schmitt-Keichinger,<sup>2</sup> Marc Bergdoll,<sup>2</sup> Aurélie Marmonier,<sup>1</sup> Emmanuelle Vigne,<sup>1</sup> Olivier Lemaire,<sup>1</sup> Marc Fuchs,<sup>3</sup> Gérard Demangeat,<sup>1</sup> and Christophe Ritzenthaler<sup>2\*</sup>

*Institut National de la Recherche Agronomique, UMR 1131 INRA/Université de Strasbourg, 28 Rue de Herrlisheim, 68021 Colmar, France<sup>1</sup>; Institut de Biologie Moléculaire des Plantes du CNRS, Université de Strasbourg, 12 Rue du Général Zimmer, 67084 Strasbourg, France<sup>2</sup>; and Department of Plant Pathology, Cornell University, New York State Agricultural Experiment Station, Geneva, New York 14456<sup>3</sup>*



Journal of  
Virology

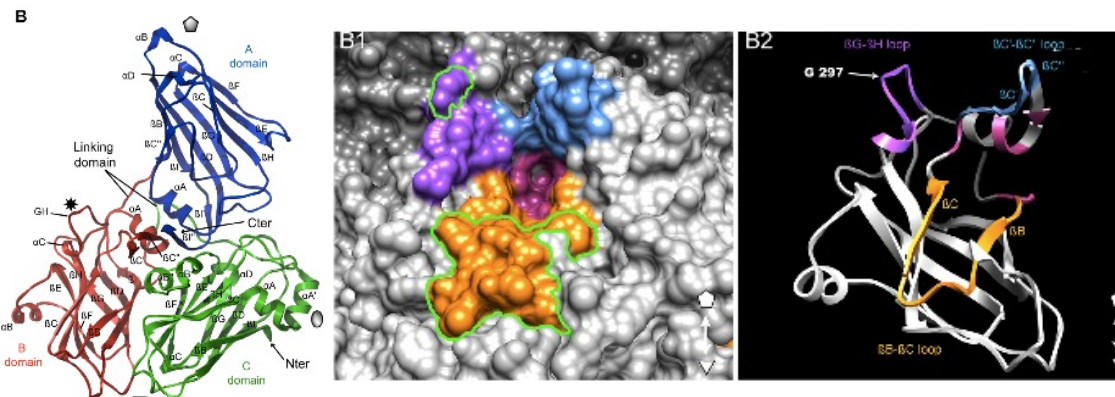
OPEN ACCESS Freely available online

PLOS PATHOGENS

## Structural Insights into Viral Determinants of Nematode Mediated *Grapevine fanleaf virus* Transmission

Pascale Schellenberger<sup>1,2\*</sup>, Claude Sauter<sup>3\*</sup>, Bernard Lorber<sup>3</sup>, Patrick Bron<sup>4</sup>, Stefano Trapani<sup>4,5</sup>, Marc Bergdoll<sup>2</sup>, Aurélie Marmonier<sup>1</sup>, Corinne Schmitt-Keichinger<sup>2</sup>, Olivier Lemaire<sup>1</sup>, Gérard Demangeat<sup>1†\*</sup>, Christophe Ritzenthaler<sup>2†\*</sup>

**1** Institut National de la Recherche Agronomique, INRA/UDS UMR 1131, Colmar, France, **2** Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, CNRS/UDS UPR2357, Strasbourg, France, **3** Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS/UDS UPR 9002, Strasbourg, France, **4** Université de Montpellier 1, Université de Montpellier 2, CNRS UMR 5048, Centre de Biochimie Structurale, Montpellier, France, **5** INSERM, Unité 554, Centre de Biochimie Structurale, Montpellier, France



# COURT-NOUÉ & ÉPIDEMIOLOGIE

## Transmission :

- soit par matériel (boutures de greffons, portes-greffes)
- soit par des nématodes à stylet (*Xiphinema index* pour GFLV, *Xiphinema diversicaudatum* pour l' ArMV)

La contamination a lieu si :

- Les nématodes sont présents au moment de la plantation
- Les nématodes sont apportés ultérieurement (eaux de ruissellement, inondation, ravinement)

Contamination de jeunes plantes très rapide

Ex: replants de Pinot noir sur des parcelles infectées

44% sont contaminés après 1 an

100% sont contaminés après 3 ans

# COURT-NOUÉ & DÉPISTAGE

## 1. Indexage :

Greffage sur *Vitis rupestris* St George = indicateur pour tous les *nepovirus* européen (sauf GCMV, utiliser dans ce cas Pinot noir Jubileum 75)

## 2. Inoculation mécanique herbacés (Utilisé pour GFLV et ArMV):

Extrait de GFLV et ArMV:

- broyat de feuilles dans un mortier dans un milieu contenant de la nicotine
- broyat de radicelles dans un mortier contenant des sels de phosphate

Hôtes utilisés pour GFLV:

- *Chenopodium amaranticolor* et *C. quinoa*
- *Gomphrena globosa*
- *Nicotiana benthamiana*

# COURT-NOUÉ & DÉPISTAGE

## 3. Immunologie :

ELISA GFLV et ArMV (bourgeons, racines, feuilles, bois)

Feuilles = le mieux ! jeunes feuilles prélevées au printemps!

Bois = copeaux obtenus en raclant avec un scalpel après avoir détaché l'écorce des sarments récoltés ou conservés au froid

Toujours effectuer plusieurs prélèvements

## 4. Hybridation moléculaire :

Existence de sondes pour GFLV = Northern Blot

RT-PCR

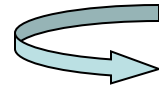


# RT-PCR en temps réel

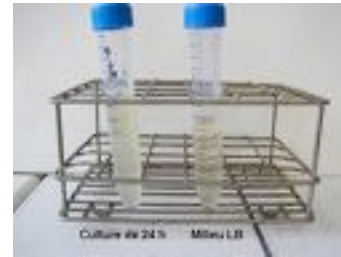
Source : plante



+ Tampon d' extraction



Centrifugation 8000g 10min 4° C

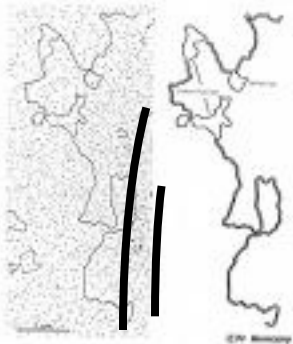


Extrait clarifié



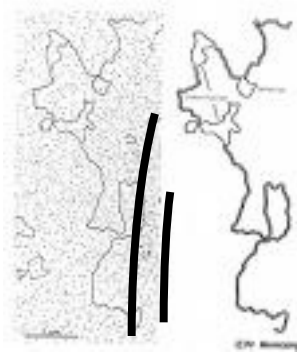
Sur l'extrait clarifié

Traitement Triton X100 1%  
65° C 5 min



ARN  
(ARN Viral)





ARN  
(ARN Viral)

**Pour minimiser l'impact des  
composés  
polyphénols et  
polysaccharides**

**Capture ARN**

Membrane de nylon

Membrane de nylon

Membrane de nylon

**RT-PCR en temps réel directe**

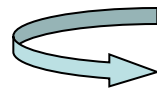
**RNA Oligoprobe Capture + RT- PCR**

# Immunocapture RT-PCR

Source : plante

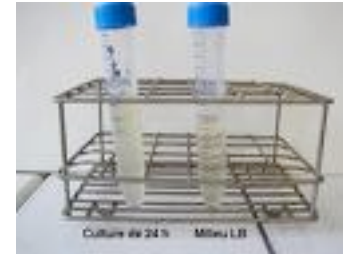


+ Tampon d' extraction

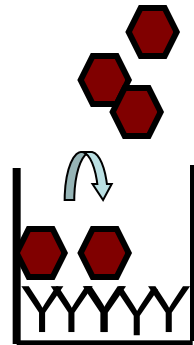
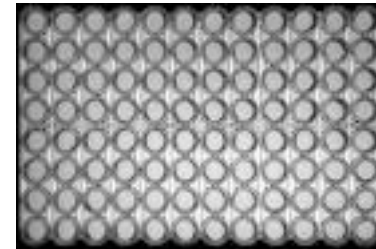


Centrifugation 8000g 15min 4° C

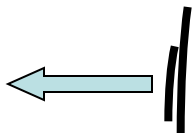
**Pour minimiser l'impact des  
composés  
polyphénols et  
polysaccharides**



Surnageant



**IC-RT-PCR**



ARN Viral

Triton X100 1%  
10 min à 65° c

Anti-GFLV □ □ -globulines

# COURT-NOUÉ & LUTTE

## 1. Sélection sanitaire

## 2. Contrôle des populations de nématodes

**Repos du sol** après 5 à 7 ans disparition voir 10 ans !

**Désinfection chimique** : très coûteux, risque de pollution  
ne permet pas d'éradiquer mais de retarder  
(1.3 Dichloropropène, Aldicarbe, Métam sodium)

Existence d'espèces américaines de *vitis* résistantes aux *nepovirus* américains (PRMV, TRSV, ToRSV)

Résistance au GFLV sur un cultivar hybride : Moyen-Orient

# COURT-NOUÉ & LUTTE

## 3. Porte-greffe résistants par hybridation

1948, en Californie : hybrides de *Vitis vinifera* x *Muscadinia rotundifolia* semblaient prometteurs : laissant passer le virus dans le greffon mais avec des effets limités sur le taux de nouaison et de rendement

Mais !!!! défauts culturels au niveau de l' enracinement notamment.

En France, travail sur les hybrides de *Vitis vinifera* x *Muscadinia rotundifolia* un génotype Mpt 3146-I-87 obtenu en 1987

Croissance vigoureuse, développement normal (except: quelques rameaux anticipés)

Greffé avec du Cabernet sauvignon en 1999 et planté dans une parcelle très infectée par l' agent responsable du court-noué : retard significatif de la contamination, le taux de contamination est de 12% 4 ans après plantation contre 86% pour le témoin.

# COURT-NOUÉ & LUTTE

## 4. Prémunition ou protection croisée

Une « sorte de vaccination » : inoculation à une souche hypo-virulente ou avirulente de virus dans une vigne :

Développement d'une résistance vis-à-vis des souches sévères de la même espèce virale ou d'espèces voisines

Expérimentations réalisées en France en utilisant des souches ArMV ou de GFLV « faibles » : retard semble t'il de quelques années

Approche peu satisfaisante ?

### Risques et doutes :

Possibilités d'hétéro-encapsidation, de recombinaisons génétiques

Problème pour l'agrément des plants virosés, certification

# COURT-NOUÉ & LUTTE

Certains professionnels, comme Antoine Stoffel, soutiennent sans réserve l'expérience de *l'Inra*. *«J'ai 75 ares touchés par le court-noué, précise-t-il. Ils ne produisent plus que 15 hectolitres, contre 60 s'ils n'étaient pas malades. Il est actuellement impossible de lutter efficacement contre ce fléau. Alors, pourquoi pas le transgénique?»* L' Express 15/09/2005

# COURT-NOUÉ & LUTTE

## 5. Transgénèse sur porte-greffes ou protection dérivée du GFLV

Transférer des gènes dérivés du virus (capside virale du GFLV) dans le génome des cellule du porte-greffe pour générer un porte-greffe susceptible de résistance au GFLV

Les résultats de l' équipe de Virologie de l' INRA de Colmar démontrent que la transgénèse est très prometteuse :

3 lignées transgéniques exprimant le gène de la capsid virale ne multiplient pas le virus après 3 ans d' essais en conditions naturelles d' infection au vignoble

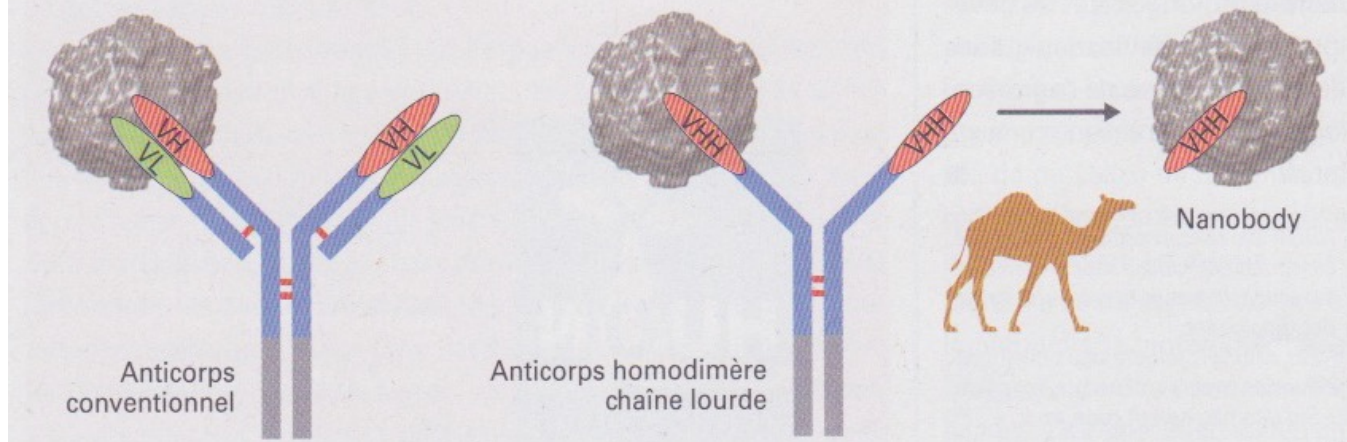
Méthodes de lutte		Références connues	Essais existants	Bilan
<b>Repos du sol</b>		7 à 10 ans nécessaires	Etude de rétention du pouvoir infectieux par nématodes	Repos seul peu efficace sur de faibles durées (inf à 4 ans) choix économique
<b>Lutte chimique</b>	Molécules homologuées  Nouvelles molécules	Oui  Molécules à l'étude	Aucun en vigne	Aldicarbe disparaît fin 2007; 1.3 D en cours de révision A évaluer
<b>Lutte culturale et biologique</b>	Plantes nématicides Bio-désinfection	Aucunes en viticulture contre <i>X.index</i>	Projets : Bordelais, Sud-Est, Espagne, Chili	
<b>Prémunition</b>		Caractérisation d'isolats GFLV et ArMV hypovirulents sur vigne	Essais : Alsace, Champagne, Bourgogne, Vallée du Rhône, Roussillon	Retard de la contamination des pieds prémunis de quelques années Commercialisation de plants virosés difficile
<b>Porte-greffes résistants par hybridation classique</b>		Travaux de recherche effectués en France et en Californie	2 essais attestant un retard de contamination en sol contaminé avec un port-greffe résistant	Voie assez avancée Perspectives vers l'obtention d'une gamme diversifiée de porte-greffe résistants
<b>Porte-greffes résistants par transgénèse</b>		Référence en serre Aucune référence solide en plein champ	Plantation d'un essai de porte-greffe transgénique en Alsace pour 4 ans en plein champ (Sept 2005)	Alternative scientifiquement prometteuse. Perception sociale difficile Faible implication de la filière à ce jour



# COURT-NOUÉ & LUTTE

## Nanobodies et Court-noué

■ **Figure 2:** Représentation schématique des anticorps chez les vertébrés supérieurs. En plus des anticorps conventionnels composés de deux chaînes différentes peptidiques, il existe chez les camélidés des anticorps composés d'un seul type de chaîne peptidique. En comparaison des anticorps conventionnels pour lesquels l'association des domaines VL et VH est indispensable à la reconnaissance de l'antigène (ici représenté par une particule virale), un domaine unique, appelé VHH, permet la reconnaissance de l'antigène. Grâce aux outils de biotechnologie, il est possible d'isoler, de cloner et de produire en grande quantité ce domaine VHH encore appelé nanobody, que ce soit en système bactérien ou en plante.



(1) Utilisation des nanobodies pour développer un diagnostic avec une efficacité et une sensibilité supérieure / tests actuels.

De part, leur facilité de production et leur performance dans les tests : possibilité de développer des trousse de diagnostic rapide sur le terrain

(2) Effet démontré sur le porte-greffe ou *Nicotiana Benthamiana*, blocage de la multiplication des virus  
Activité antivirale *in Planta*

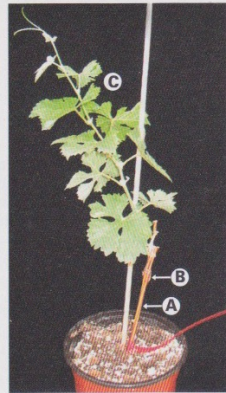
# COURT-NOUÉ & LUTTE

## Nanobodies et Court-noué et vigne transgénique

■ **Encadré 1 :** Seul le porte-greffe est transformé génétiquement.

La quasi-totalité des vignes en exploitation sont greffées sur des vignes d'origine américaine, encore appelées porte-greffe. Cette pratique a été adoptée dès les années 1890, pour lutter contre le phylloxera. Le porte-greffe (photo 1 A) constitue la partie enterrée du pied de vigne et sert de support au greffon (photo 1 C) qui produit les raisins. Lors de la plantation, le point de greffe (photo 1 B) affleure au niveau du sol. Le porte-greffe ne produit aucun rameau et par conséquent ne produit ni fleurs, ni raisin. Dans le cadre des travaux cités dans cet article, seul le porte-greffe a été modifié génétiquement

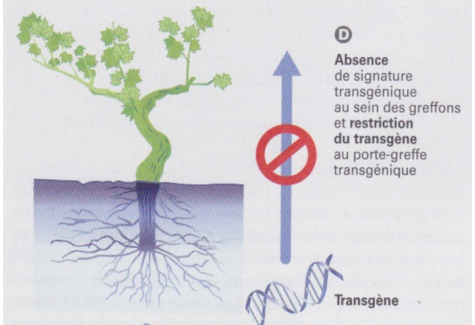
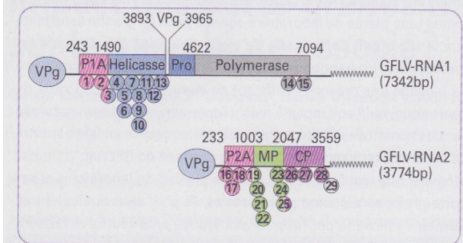
■ **Photo 1 :** A) Porte-greffe. C) Greffon. B) Le point de greffe est indiqué par une flèche blanche.



Transformation génétique du porte-greffe  
Transgène : une partie de la séquence du génome de GFLV  
Marqueur de Transgénèse : gène de résistance à un antibiotique

■ **Figure 3 :** Représentation schématique de l'impact de la culture de vignes transgéniques (ici seul le porte-greffe est génétiquement modifié, en bleu) sur son environnement local : A et B les bactéries associées du sol, C les virus et D le greffon.

C De nombreux points de recombinaisons détectés au sein du génome du GFLV, aucun n'impliquant la séquence transgénique



A Pas de transfert du transgène aux bactéries du sol

B Absence de sélection particulière dans la communauté bactérienne provenant de l'environnement racinaire de porte-greffes

D Absence de signature transgénique au sein des greffons et restriction du transgène au porte-greffe transgénique

- 1- Aucun transfert horizontal (la séquence transgénique du porte-greffe vers les bactéries non ciblées présentes dans le sol)
- 2- Au bout de 6 ans, pas d'acquisition de résistance à l'antibiotique et la communauté bactérienne autour des racines n'est pas perturbée
- 3- Après 9 ans, de nombreux recombinants de GFLV trouvés, mais aucun avec le transgène
- 4- Expression du transgène uniquement dans les tissus porteurs du transgène

# COURT-NOUÉ & LUTTE

## Découverte d'une résistance naturelle au virus du court-noué chez la vigne : un espoir pour la viticulture

**28 Mai 2021.** Après plus de dix ans de recherches, les chercheurs de l'INRAE de Colmar ont découvert que le riesling possède une résistance naturelle au virus du court-noué. Une méthode curative va donc pouvoir être mise au point pour venir à bout de ce virus dévastateur pour les vignes

A ce jour, les viticulteurs, dont les plantes étaient malades, devaient remplacer la totalité des parcelles de vignes, ce qui représente une perte énorme de rendement. On estime que les baisses de production résultant d'infections par cet agent pathogène sont responsables, en France, de pertes économiques d'au moins 400 millions d'euros par an selon l'INRAE.

Les chercheurs ont procédé à des analyses sur le plan génétique et se sont rendus compte qu'il y a *"un gène, un facteur génétique unique chez le riesling qui provoque une résistance au virus. »*

Baptisé *rgflv1*, et localisé sur le chromosome 1 du génome de la vigne. En plus de conférer une résistance au court-noué, *rgflv1* pourrait être plus largement un facteur de résistance aux virus, qui serait probablement distinct de ceux déjà découverts chez d'autres espèces végétales.

# ENROULEMENT VIRAL



# ENROULEMENT VIRAL

Infection la plus courante dans le monde

*01-01-2007* L'enroulement viral est de retour dans les vignobles californiens. La maladie qui touchait 23% de la surface viticole en 2002 atteint 66% en 2006. Cette maladie a pour conséquence de ralentir la maturation du raisin et de réduire la taille et la coloration des grappes.

Coût entre 25 000 à 40 000\$ par hectare

Virose ayant de graves conséquences pouvant entraîner des pertes qualitatives (chute de la teneur en sucres et en anthocyanes) et quantitatives.

# ENROULEMENT VIRAL & SYMPTÔMES



*Symptômes d'enroulement sur Pinot noir : enroulement et rougissement des feuilles âgées.*



*Enroulement et jaunisse sur Chasselas.*



*Retard à la maturation  
Sucres ↘  
Pigmentation des baies ↘  
Rendement ↘ (60 %)*



# ENROULEMENT VIRAL & SYMPTÔMES

## Enroulement vers le bas des bords des limbes

- Sur cépages rouges de *V. vinifera* apparition de tâches rouges  
En juin-juillet puis extension à l'ensemble de la limbe  
A l'automne les feuilles les plus atteintes brunissent + nécroses
- Sur cépages blancs : jaunissement +/-

Raisins mûrissent tardivement, de manière irrégulière (2 à 3 semaines de retard)

## Confusions possibles !!!!

- Cépages rouges : dégâts de cicadelles, acariens, carences en magnésium ou potassium
- Cépages blancs : carences minérales

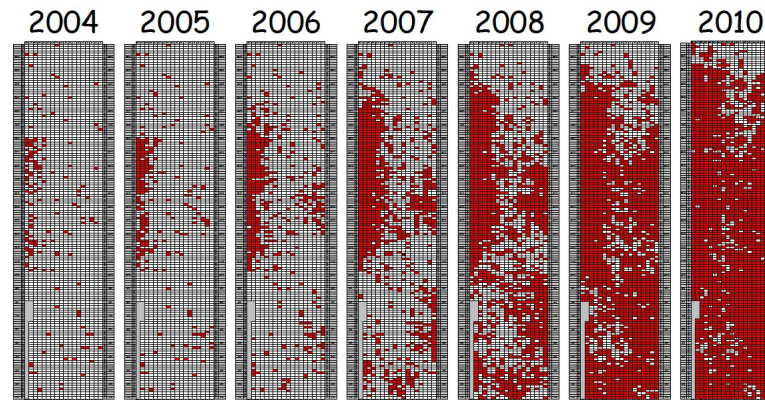
# ENROULEMENT VIRAL



Symptômes d' enrroulement et de rougissement des feuilles  
sur *Vitis vinifera* Pinot noir



# ENROULEMENT VIRAL & DÉGÂTS



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

Baisse de la quantité de raisins

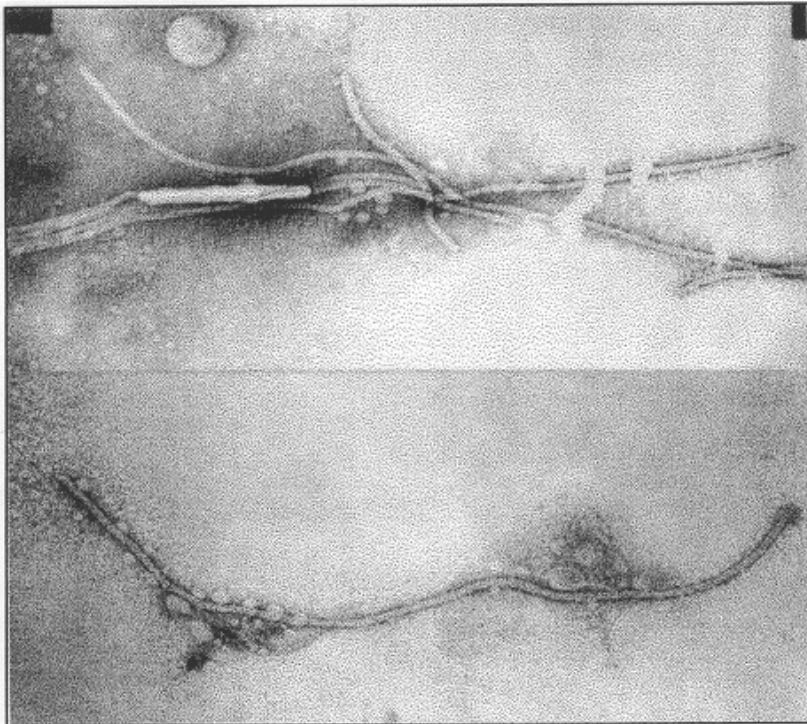
Baisse de la teneur en sucre du moût

Parfois effets faibles : cf. Riesling Californie

Infection de variétés américaines et de leurs hybrides : infection en général à l'état latent

# ENROULEMENT VIRAL & VIRUS

- Virus appartenant à la Famille Closteroviridae
- Virus filamenteux, symétrie hélicoïdale
- Longueur 1400 à 2200 nm /12 nm de largeur
- Génome : 1 ARN simple brin de polarité positive (16 à 20 kb)
- GLRaV-1, 3 et 7 : implication certaine dans l'enroulement viral



**Tableau 3.** Closterovirus liés à l'enroulement et vitivirus liés au complexe du bois strié et leurs vecteurs

Maladies	Virus	Cochenilles vectrices*
Enroulement	GLRaV-1	<i>Neopulvinaria innumerabilis</i> , <i>Parthenolecanium corni</i>
	GLRaV-3	<i>Planococcus ficus</i> , <i>Pseudococcus affinis</i> , <i>Ps. caecolaria</i> , <i>Ps. longispinus</i> , <i>Pulvinaria vitis</i>
	GLRaV-4	inc.
	GLRaV-5	inc.
	GLRaV-6	inc.
	GLRaV-7	inc.
	Enroulement et incompatibilité au greffage	GLRaV-2
Complexe du bois strié		
a. Cannelures sur <i>Vitis rupestris</i> ( <i>stem pitting</i> )	RSPaV ?	inc.
b. Cannelures sur Kober 5BB ( <i>stem grooving</i> )	GVA	<i>Pl. citri</i> , <i>Pl. ficus</i> , <i>Ps. affinis</i> , <i>Ps. longispinus</i>
c. Écorce liégeuse	GVB ?	<i>Pl. ficus</i> , <i>Ps. affinis</i> <i>Ps. longispinus</i>
d. Cannelures sur LN33	inc.	inc.

\* En conditions expérimentales.

# ENROULEMENT VIRAL & VIRUS

« Grapevine leafroll associated virus » :

- GLRaV-1, 3 : Closteroviridae, genre *ampelovirus* groupe I  
(sur tous les continents, cochenilles)

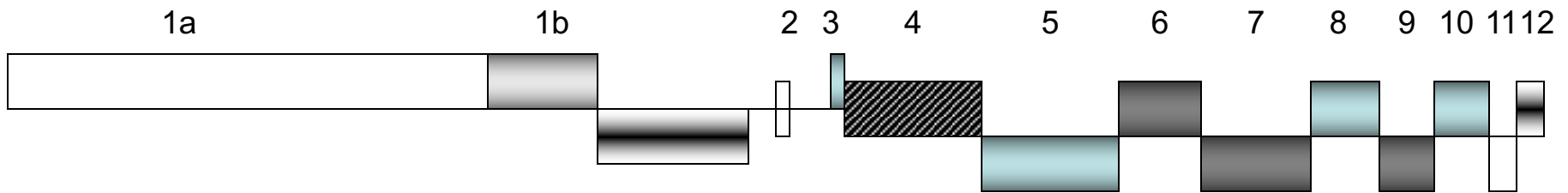
- GLRaV-4 : Closteroviridae, genre *ampelovirus* groupe II  
(Europe, pays de l'Est, Nord et Sud de l'Amérique, cochenilles)

- GLRaV-2 : Closteroviridae, *closterovirus*  
(sur tous les continents, vecteur inconnu)

-GLRaV-7 : Closteroviridae , *velarivirus*  
(Europe, pays de l'Est, Nord et Sud de l'Amérique, Chine, vecteur inconnu)

# ENROULEMENT VIRAL & VIRUS

## Organisation génomique du GLRaV-3 (12 cadres de lecture)



1a : 77 kDa hélicase

1b : 61 kDa réplicase putative

2 : 6 kDa fonction inconnue

3 : 5 kDa protéine transmembranaire

4 : 59 kDa protéine de type HSP 70

5 : 55 kDa protéine de type HSP 90

6 : 35 kDa protéine de capside

7 : 53 kDa copie divergente de la protéine de capside

8 à 12 : fonction inconnue

# ENROULEMENT VIRAL & ÉPIDÉMIOLOGIE

## Transmission dans le monde

En France, 2 virus majoritairement retrouvés :

- GLRaV-1
- GLRaV-2

GLRaV-3 retrouvé dans les climats plus chauds

## Transmission par la propagation végétative et le greffage

**Mais aussi**, par différentes espèces de cochenilles peuvent transmettre le GLRaV (cochenilles probablement le réservoir) :

GLRaV-1: *Heliococcus bohemicus*  
*Neopulvinaria innurabilis* ....

GLRaV-3: *Planococcus citri*



# ENROULEMENT VIRAL & DÉPISTAGE

## 1. Indexage :

La plus part des cépages rouges : bons indicateurs  
Cabernet franc, Merlot, Cabernet sauvignon, Pinot noir

Des symptômes identiques apparaissent sur l'indicateur

## 2. ELISA

Kit ELISA pour les 8 GLRaV

Le choix du tissu pour le diagnostic est très important : feuilles âgées, bois dormants

GLRaV-1 : feuilles adultes, bois dormants

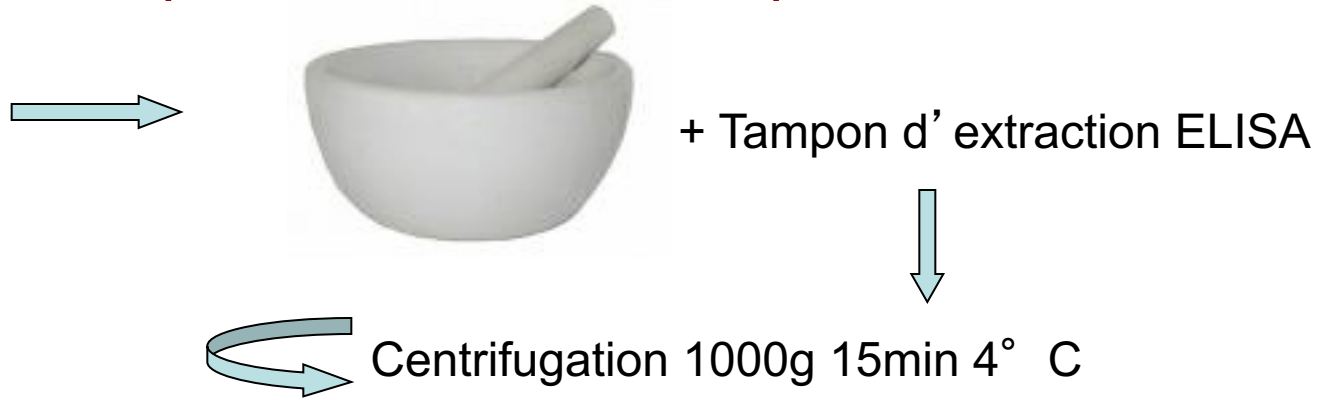
GLRaV-2 : concentration par ultracentrifugation

GLRaV-3 : feuilles, sarments herbacés, pétioles de feuilles matures

# Double Antibody Sandwich ELISA (Détection de GLRaV3)

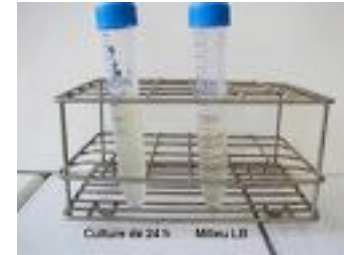
Sources :

- Pétiole
- Ecorce des tiges



**Pour minimiser l'impact des  
composés  
polyphénols et  
polysaccharides**

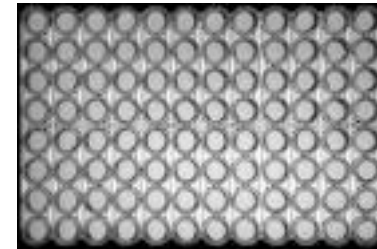
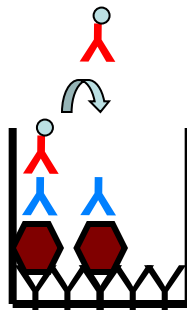
- + Anticorps anti-GLRaV3
- + Anticorps anti-anticorps conjugués à la phosphatase alcaline



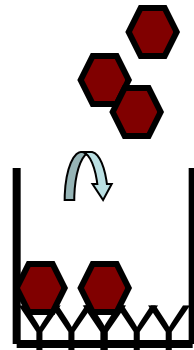
Surnageant



+ Substrat



Anticorps polyclonaux



# ENROULEMENT VIRAL & DÉPISTAGE

## 3. RT-PCR :

Jus de pétioles - membrane nylon-solution - PCR

Amorces homologues pour GLRaV-4 et GLRaV-5



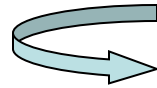
# RT-PCR en temps réel

Sources :

- Pétiole
- Ecorce des tiges

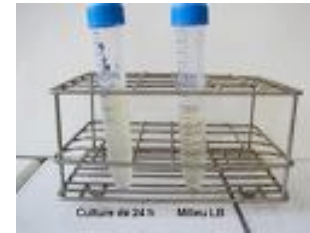


+ Tampon d' extraction ARN



Centrifugation 8000g 10min 4° C

**Pour minimiser l'impact des  
composés  
polyphénols et  
polysaccharides**



Extrait clarifié



Sur l' extrait clarifié

Traitement Triton X100 1%  
65° C 5 min



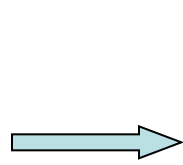
ARN  
(ARN Viral)

**RT-PCR  
en temps réel**

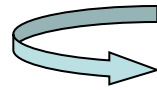
# Immunocapture RT-PCR en temps réel

Sources :

- Pétioles
- Ecorce des tiges

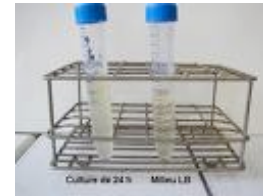


+ Tampon d'extraction

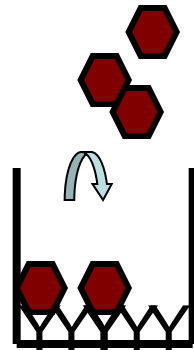
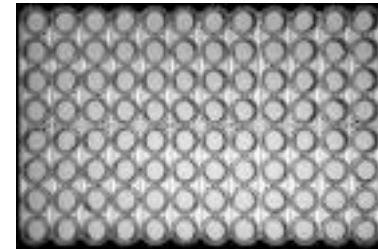


Centrifugation 8000g 10min 4° C

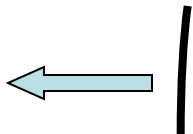
**Pour minimiser l'impact des  
composés  
polyphénols et  
polysaccharides**



Surnageant



**IC-RT-PCR**



ARN Viral

Triton X100 1%  
10 min à 65° c

Polyclonal Anti-GLRaV3

# **ENROULEMENT VIRAL & LUTTE**

**1. Sélection sanitaire**

**2. Traitement insecticides**

# COMPLEXE DU BOIS STRIÉ & SYMPTÔMES

1. Dans la plus part des cas : pas de manifestations (cépages européens, exception porte greffes américains)

2. Symptômes graves rapportés sur Vinifera francs de pied

- Réduction de taille et de vigueur
- Dépérissement
- Symptômes caractéristiques en dessous de l' écorce : cannelures

3. Cépages avec symptômes : Italia, Regina....

4. Généralement pas de symptômes pour les porte-greffes et greffons

Non greffés : développement après greffage « maladie d' assemblage »

Striures

Aspect liégeux et spongieux pour le « corky rugose wood »

# COMPLEXE DU BOIS STRIÉ & SYMPTÔMES

Baisse des rendements de raisins

Développement des racines

Les vignes infectées peuvent dépérir et mourir en quelques années

4 maladies distinguées:

- cannelures sur vitis rupestris = «Rupestris stem pitting »
- cannelures sur Kober 5BB = « Kober stem grooving »
- écorce liégeuse CB = « Corky bark »
- cannelures LN33

**Confusion possible !!!!** en présence d' un symptôme liégeux :  
Carence en bore ou nécrose bactérienne

# COMPLEXE DU BOIS STRIÉ & DÉGATS



***Grapevine rupestris stem pitting disease.*** (Photo courtesy Canadian Food Inspection Agency)

***Grapevine corky bark disease foliar symptoms on LN33***

*indicator* (Photo courtesy Canadian Food Inspection Agency)



# COMPLEXE DU BOIS STRIÉ & VIRUS

## 1. Grapevine rugose wood complex : Rupestris stem pitting

« Grapevine Rupestris Stem Pitting associated virus » = GRSPaV

GRSPaV : Famille Flexiviridae, genre *foveavirus* (*sur tous les continents*)

Particules virales filamenteuses de structure hélicoïdale, 800nm de long

ARN simple brin de polarité positive

2 variants moléculaires majeurs :

- l'un possède 5 cadres de lecture ( protéine associée à la réplication virale, protéine de mouvement « triple gene block », protéine de capsid)
- l'autre 6 cadres de lecture (une protéine de 14kDa fonction inconnue)

# COMPLEXE DU BOIS STRIÉ & VIRUS

## 2. Kober Stem Grooving : « Grapevine Virus A » = GVA

Ecorce Liégeuse : « GVB » (transmissible par inoculation mécanique, Corky Bark syndrome ? Et GVD aussi ?)

GVA, GVB, GVD : Famille Flexiviridae, genre *vitivirus* (sur tous les continents)

Particules virales filamenteuses, symétrie hélicoïdale

Longueur 800nm / 12nm de largeur

Génome : 1 ARN simple brin de polarité positive 7600 nucléotides

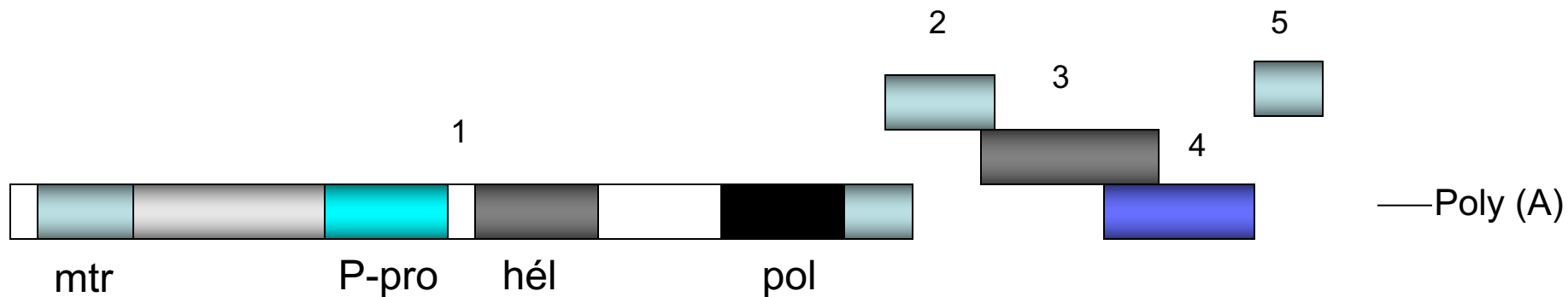
5 cadres de lecture :

- Réplicase 196 kDa
- Protéine inconnue 20 kDa
- Protéine de mouvement 31-36 kDa
- Protéine de capsid 21-23 kDa
- Protéines interagissant avec les nucléotides 10-14 kDa



# COMPLEXE DU BOIS STRIÉ & VIRUS

Organisation génomique du GVA : ARN monocaténaire de 7600 nucléotides



- 1: Hélicase putative mt « methyl-transferase, p-pro « protéase », hél « hélicase, pol « polymerase »
- 2: 20 kDa fonction inconnue
- 3: 30 kDa protéine putative du mouvement
- 4 : 21,5 kDa protéine de capside
- 5 : 10-14 kDa fonction inconnue

# COMPLEXE DU BOIS STRIÉ & ÉPIDEMIOLOGIE

Transmission par la propagation végétative et le greffage

Mais aussi, GVA, GVB : cochenilles

GRSPaV, GVD : pépins de vigne, vecteur aérien ?

# COMPLEXE DU BOIS STRIÉ & VIRUS

## 3. LN33 Stem Grooving :

Aucune information sur la nature du virus responsable !

## 4. Corky Bark : Ecorce Liégeuse

Grapevine Corky Bark associated virus

# COMPLEXE DU BOIS STRIÉ & DEPISTAGE

## 1. Indexage

## 2. ELISA :

GVA et GVB : les tests développés sont insuffisants, il faut compléter le résultat par un indexage ou un test moléculaire

GVA amélioration du kit (utilisation d'anticorps monoclonaux)

Pétioles de feuilles adultes, Bois.

## 3. RT-PCR en temps réel :

GVA et GVB : jus de pétiole - membrane nylan- RT-PCR

RSPaV : RT-PCR

# **COMPLEXE DU BOIS STRIÉ & LUTTE**

**1. Sélection sanitaire**

**2. Identification des insectes vecteurs : développement de moyens de lutte**

# MARBRURE & SYMPTÔMES

A l'état latent dans de nombreux cépages : *v.vinifera* et portes greffes

Sur *v.rupestris* (« lot » et « Saint George ») :

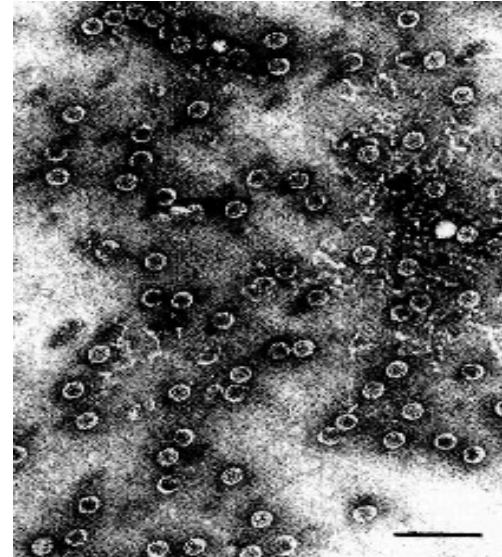
Éclaircissement des nervures tertiaires + repliement de la limbe vers la face supérieure

**Confusion possible !!!**

notamment certains cépages chasselas et anomalie génétique

# MARBRURE & SYMPTÔMES

Eclaircissement des nervures tertiaires avec repliement du limbe vers la face supérieure formant une gouttière.



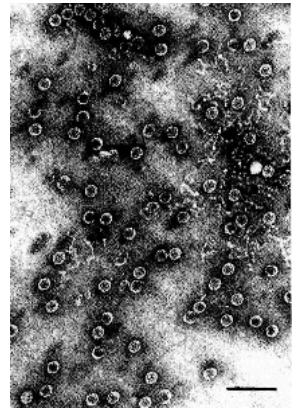
# MARBRURE & DÉGATS

Souvent à l' état latent sur *v.vinifera*

Sur *v. rupestris* : chute de la rhizogenèse



# MARBRURE & VIRUS



« Grapevine Fleck Virus » = GFkV

Famille des Tymoviridae, genre *maculavirus*

Particules virales de 30 nm de diamètre, symétrie icosaédrique

Génome : 1 ARN simple brin de polarité positive 7500 à 8800 nucléotides

5 cadres de lecture:

ORF1 = méthyltransférase, hélicase et ARN polymérase ARN dépendante

ORF2= homologie avec la protéine de mouvement des Tymovirus

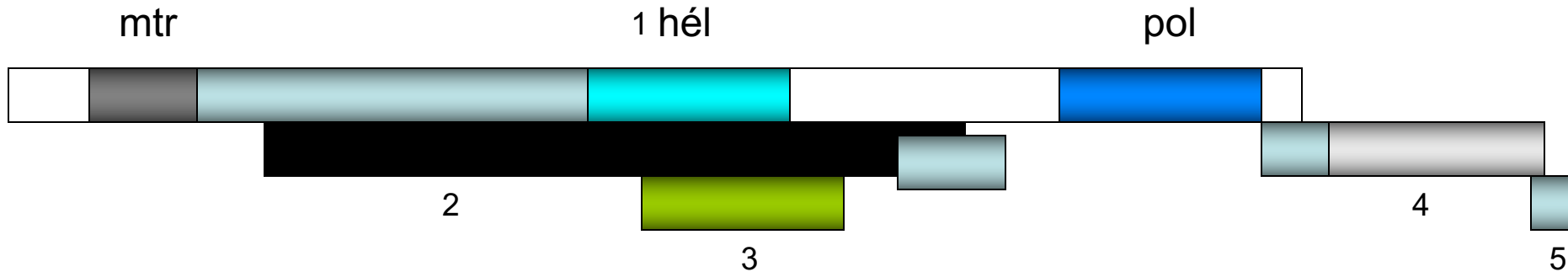
ORF3= protéine riche en proline

ORF4= protéine de capsid

ORF5= protéine de fonction inconnue

# MARBRURE & VIRUS

Organisation génomique du GFkV : ARN de 8800nt



- 1: Réplicase putative, mtr « methyl transferase », hél « hélicase », Pol « ARN polymérase ARN dépendante
- 2: Protéine putative du mouvement
- 3: Fonction inconnue
- 4: Protéine de capsid
- 5: Fonction inconnue

# MARBRURE & ÉPIDEMIOLOGIE

Transmission par le matériel végétal

Pas d'informations sur la transmission du GFV par des insectes

Prise en compte pour la certification française des clones porte-greffe

# MARBRURE & DÉPISTAGE

**1. Indexage** par greffage sur *Vitis Rupestris* « Saint-George » ou « Lot »

- en champs plein : symptômes apparaissant sur l'indicateur au printemps

de la 2<sup>ème</sup> année suivant le greffage, atténuation puis réapparition à l'automne

- en conditions contrôlées de chambre climatique: symptômes se développant dans les 4 semaines à 22° C sous éclairage constant ou 7 semaines à 14° C de nuit.

## 2. ELISA

Sources : feuilles (attention pas de prélèvement lors des mois chauds!),  
copeaux de bois, radicelles)

Anticorps polyclonaux et monoclonaux disponibles

## 3. RT-PCR en temps réel

**Lutte** restreinte aux variétés porte-greffe puisque cette virose est prise en compte pour la certification des porte-greffes mais pas des cépages de *v.vinifera*

# QRT-PCR Multiplex (Détection simultanée de 9 virus)

Methods Mol Biol. 2015;1236:39-47. doi: 10.1007/978-1-4939-1743-3\_4.

## Multiplex RT-PCR method for the simultaneous detection of nine grapevine viruses.

Gambino G<sup>1</sup>.

### ⊕ Author information

#### Abstract

Viral diseases are a serious pathological problem for grapevines, and in recent years the need for increasingly specific and rapid diagnostic methods for the selection of propagation materials has grown. Arabis mosaic virus, Grapevine fanleaf virus, Grapevine virus A, Grapevine virus B, Grapevine rupestris stem pitting-associated virus, Grapevine fleck virus, and Grapevine leafroll-associated viruses 1, 2, and 3 are nine of the most widespread viruses that naturally infect grapevines. A multiplex RT-PCR was developed for simultaneous detection of these nine grapevine viruses, in combination with a plant RNA internal control used as an indicator of the effectiveness of the reaction. One to ten fragments specific for the viruses and an internal control were simultaneously amplified from infected samples and identified by their specific molecular sizes in agarose gel. The protocol reported is an update of previously published protocols for RNA extraction and multiplex diagnosis of viruses. After several years of use and hundreds of samples tested, and following validation in several laboratories, this multiplex RT-PCR provides a reliable and rapid method for detecting grapevine viruses from a large number of samples.

## Identification et séquençage des virus de vigne Identification de nouveaux virus de la vigne (nouvelle technologie)

Séquençage à haut débit (**HTS** pour *high-throughput sequencing*) :

séquencer des centaines de milliers de fragments simultanément.



**FIN**

