

Amélioration génétique du tabac assistée par les biotechnologies : Application à la résistance au PVY (Potato virus Y).

Genetic improvement of Tobacco by biotechnologies: Application to the resistance to PVY (Potato virus Y).

Valérie Nicaise, François Dorlhac de Borne, Christophe Rothan, Sylvie Germain Retana and Olivier Le Gall.

- 1) IBVM, INRA Bordeaux, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex
- 2) Altadis - Institut du Tabac, Domaine de la Tour, 24100 Bergerac

Résumé

Parce qu'elle constitue une alternative forte à la transgénèse, la technique de Tilling (Targeting Induced Local Lesions IN Genome) est très prometteuse pour l'amélioration génétique assistée par les biotechnologies. La méthode est basée sur une première étape de mutagenèse aléatoire, suivie de la recherche de plantes portant une mutation au niveau d'un gène d'intérêt, préalablement identifié. Notre projet consiste à développer cette approche sur le tabac et de l'appliquer au gène *va* qui confère une résistance au virus Y de la pomme de terre (PVY, genre Potyvirus). Pour identifier le gène *va*, une approche "gène candidat" est utilisée, sur la base des résultats obtenus pour d'autres potyvirus, qui démontrent l'implication du facteur de traduction eIF4E dans le cycle viral. Pour cela, les allèles d'eIF4E présents dans des variétés quasi-isogéniques ont donc été séquencés. Aucune corrélation n'ayant été démontrée entre la séquence d'eIF4E et le statut de résistance du tabac au PVY, des expériences de purifications protéiques et des études de mutants d'insertions chez *Arabidopsis thaliana* sont donc réalisées afin d'identifier de nouveaux candidats possibles pour représenter le gène *va*. Enfin, un système de validation fonctionnelle est en cours de mise au point chez *Nicotiana benthamiana* par extinction génique du gène impliqué dans cette résistance.

Mots clefs: Tilling, résistance récessive, PVY, eIF4E

Abstract

As an alternative to transgenic plants, the method of Tilling (Targeting Induced Local Lesions IN Genome) is a new very promising technique for plant improvement. It consists of a classical mutagenesis step and the search for plants carrying a mutation in the gene of interest, previously characterised. Our project aims to develop the Tilling method in tobacco and to increase its resistance in fields to the Potato virus Y (PVY, genus Potyvirus), characterising the *va* recessive resistance gene. Also, a candidate gene strategy is based on many recent results which demonstrate that several recessive resistance genes are coding for proteins belonging to the eIF4E factors family. In order to study the implication of tobacco eIF4E isoforms in the resistance to PVY, alleles have been sequenced in quasi-isogenic varieties, carrying or not the *va* gene. However, no correlation between the eIF4E sequence and the resistance status has been found. Therefore, we are searching new candidates for the *va* gene using the TAP-tag purification (study without a priori) and the study of knock-out mutants of *Arabidopsis thaliana* (bibliographic study). Furthermore, we are developing a validation test in *Nicotiana benthamiana* based on the silencing mechanism.

Keywords: Tilling, recessive resistance, PVY, eIF4E

