

OLIVIER LEMAIRE

I.N.R.A.

Equipe Vection, Lutte intégrée.

28, rue de Herrlisheim

F- 68021 COLMAR CÉDEX

Monique BEUVE¹, Magali MUNSCH¹, Zoran MINIC², Etienne HERRBACH¹, Lise JOUANIN²
and Paul SCHELLENBAUM³

¹ UMR1131 SVQV, INRA ULP, 28 rue de Herrlisheim, BP 50207 68021 Colmar Cedex France

² UR 501, Laboratoire de Biologie Cellulaire, INRA de Versailles Grignon, route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex, France

³ Laboratoire « Vigne, Biotechnologies et Environnement », Université de Haute Alsace, BP 50568, 29 rue de Herrlisheim, 68008 Colmar Cedex, France

Original language: French

ALTERATIONS OF GLYCOSYL-HYDROLASE ACTIVITIES IN BEET WESTERN YELLOW VIRUS-FL1 INFECTED ARABIDOPSIS THALIANA AND VIRUS-INFECTED SUGAR BEET

Abstract:

Poleroviruses, such as Beet mild yellowing (BMV), Beet chlorosis (BChV), Beet western yellows (BWV), Turnip yellows (TuYV) and Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABV), induce severe diseases in major crops (sugar beet, lettuce, oilseed rape, cucurbits ...). We have shown that following infection with a polerovirus, a specific glycosyl-hydrolase (P90) accumulates in *Montia perfoliata* leaves expressing symptoms (Schellenbaum et al., 2003 ; Lemaire et al., submitted). Moreover, Nikus (2003) showed that beta-glucosidases are putatively associated to non-specific plant-pathogens interactions in Poaceae. To further assess the potential role of glycosyl-hydrolases during the viral infection process, enzyme activities of alpha- and beta-glucosidases, and of alpha- and beta-xylosidases have been measured in BWV-FL1 (syn. TuYV) infected or healthy *Arabidopsis thaliana* (biotype col 0) leaves. Beta-xylosidase activities display an increased level of two to three times more for the virus infected plants 3 weeks p.i. The same enzyme activities have been determined in a core collection of *A. thaliana* biotypes with a strong variability of beta-xylosidase activity, with biotypes showing highly increased enzyme activities. Similar results have been obtained for sugar beet infected by various poleroviruses (BWV, BMV, BChV) or a benyvirus (BNYV), where beta-glucosidase activity increased significantly. With BNYV P-type, beta-xylosidase activity increased as well, in addition to the 2 previous activities.

Messenger RNAs (mRNA) of 3 different beta-xylosidases (1, 4 and 7) known to be leaf-located in *A. thaliana* were quantified by real-time RT-PCR, showing differential kinetics of mRNAs especially for beta-xylosidase 1 transcript.

Experimental approaches, as well as hypothetical functions explaining the modification of glycosyl-hydrolase activities and their possible role in virus biology, cycle and interaction with the vector, will be discussed.

LEMAIRE O., MUNSCH M., MINIC Z., BEUVE M., HERRBACH E., JOUANIN L., REINBOLD C., VANTARD M. and SCHELLENBAUM P. Increased alpha-glucosidase activity in *Beet western yellows virus*-FL1-infected *Montia perfoliata* leaves. Submitted.

NIKUS J., beta-glucosidases and hydroxamic acid glucosides – a proposed defense system in rye (*Secale cereale*), PhD, thesis Södertörn University College, Sweden, 2003.

SCHELLENBAUM P., MINIC Z., BEUVE M., HERRBACH E., JOUANIN L., REINBOLD C., VANTARD M. and LEMAIRE O. *Beet western yellows virus* (BWV) induces accumulation of a putative alpha-glucosidase in symptomatic *Montia perfoliata* leaves. AAB conference, Advances in Plant Virology, CIRAD, Montpellier, 29/09 – 01/10/2003.

DÉRÉGULATION D'ACTIVITÉS GLYCOSYL-HYDROLASES CHEZ ARABIDOPSIS THALIANA LORS DE L'INFECTION PAR LE BEET WESTERN YELLOWS VIRUS-FL1 ET CHEZ LA BETTERAVE INFECTÉE PAR POLÉROVIRUS ET BÉNYVIRUS

Abrégé :

Les polérovirus, tels les Beet mild yellowing (BMYV), Beet chlorosis (BChV), Beet western yellows (BWYV), Turnip yellows (TuYV) et Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV), provoquent des maladies importantes chez divers végétaux cultivés (betterave, laitue, colza, cucurbitacées ...). Nous avons montré que ces polérovirus induisent l'accumulation d'une glycosyl-hydrolase (P90) dans les feuilles symptomatiques de *Montia perfoliata* (Schellenbaum et al., 2003 ; Lemaire et al., soumis). Par ailleurs, Nikus (2003) a montré que des beta-glucosidases intervenaient probablement dans des réactions de défense de plantes (Poacées) vis-à-vis d'infections fongiques. Afin d'étudier le rôle potentiel de ces glycosyl-hydrolases lors de l'infection polérovirale, nous avons mesuré les activités enzymatiques des alpha- et beta-glucosidases, et alpha- et beta-xylosidases dans des feuilles d'*Arabidopsis thaliana* (col 0) sains ou infectés par le BWYV-FL1 (syn. TuYV). Les activités globales beta-xylosidasiques sont de 2 à 3 fois supérieures chez les plantes infectées et se différencient de celles des plantes non inoculées au bout de 3 semaines. Les activités enzymatiques ont également été mesurées dans une collection d'écotypes d'*A. thaliana*, montrant une forte variabilité de l'activité beta-xylosidasique et l'existence d'écotypes chez lesquels ces activités sont très élevées lorsqu'ils sont virosés. Chez la betterave infectée par les polérovirus BWYV, BMYV, BChV et le bényvirus BNYVV, l'activité beta-glucosidase est significativement augmentée de même que les alpha- et beta-xylosidases lors de l'infection par le pathotype P du BNYVV.

Les ARN messagers de 3 beta-xylosidases (1, 4 et 7) s'exprimant dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* ont été quantifiés par RT-PCR en temps réel chez des plantes saines ou infectées et montrent des cinétiques différentes, notamment pour la beta-xylosidase 1.

Les approches expérimentales, ainsi que les implications de cette dérégulation des activités glycosyl-hydrolases dans la biologie du virus en relation avec la plante et le vecteur, seront discutées.

LEMAIRE O., MUNSCH M., MINIC Z., BEUVE M., HERRBACH E., JOUANIN L., REINBOLD C., VANTARD M. and SCHELLENBAUM P. Increased alpha-glucosidase activity in Beet western yellows virus-FL1-infected *Montia perfoliata* leaves. Soumis.

NIKUS J., beta-glucosidases and hydroxamic acid glucosides – a proposed defense system in rye (*Secale cereale*), thesis Södertörn University College, Sweden, 2003.

SCHELLENBAUM P., MINIC Z., BEUVE M., HERRBACH E., JOUANIN L., REINBOLD C., VANTARD M. and LEMAIRES O. *Beet western yellows virus* (BWYV) induces accumulation of a putative alpha-glucosidase in symptomatic *Montia perfoliata* leaves. *Advances in Plant Virology*, CIRAD, Montpellier, 29/09 – 01/10 2003.

VERÄNDERUNGEN DER GLYCOSYL-HYDROLASE AKTIVITÄT IN MIT DEM WESTLICHEN VERGILBUNGSVIRUS FL1 INFIZIERTEN ARABIDOPSIS THALIANA UND VIRUSINFIZIERTEN ZUCKERRÜBEN

Kurzfassung:

Polyviren, wie das milde Vergilbungsvirus (BNYV) *Beet Chlorose* (BChV), das *westliche Vergilbungsvirus* (BWYV), *Turnip yellows* (TuYV) und das *Cucurbit aphid-borne yellows virus* (CABYV), induzieren schwere Krankheiten in den wichtigsten Fruchtarten (Zuckerrübe, Salat, Rapps). Wir konnten nachweisen, dass in Folge einer Polyvirusinfektion eine spezifische Glykosylhydrolase (P90) in den Blättern von *Montia Perfoliata* akkumuliert wird

und entsprechende Symptome hervorruft (Schellenbaum et al., 2003 ; Lemaire). Darüber hinaus zeigte Nikus (2003) das Beta-Glucosidasen mit nichtspezifischen Pflanzen-Pathogen-Interaktionen in *Poa* assoziiert werden können. Um die weitere potenzielle Rolle der Glykosylhydrolasen bei viralen Infektionen bestimmen zu können, wurden enzymatische Aktivitäten von Alpha- und Beta-glucosidasen und Alpha- und Beta-xylosidasen in BVYV/FL1 (Syn. TuYV) infizierten oder gesunden *Arabidopsis thaliana* Blättern (Biotyp Col 0), gemessen. Beta-Xylosidaseaktivitäten zeigen ein zwei bis dreimal höheres Niveau bei infizierten Pflanzen etwa drei Wochen nach der Infektion. Die gleichen enzymatischen Aktivitäten wurden in einer Kollektion von *A. Thaliana* Biotypen mit starker Variabilität mit Beta-xylosidaseaktivität bestimmt. Diese Biotypen zeigten eine erhöhte enzymatische Aktivität. Vergleichbare Resultate wurden für mit Polyoviren (BWYV, BMYV, BCHV), oder einem Beny-Virus (BNYVV) infizierten Zuckerrüben gefunden, wo die Beta-glucosidaseaktivität signifikant anstieg. Mit dem BNYVV-P Typ stieg die Beta-xylosidaseaktivität zusätzlich zu den zwei vorangegangenen Aktivitäten stark an. Boten-RNA (mRNA) von drei verschiedenen Beta-xylosidasen (1,4 und 7) die bei *A. Thaliana* in den Blättern vorkommen, wurden durch Echtzeit RT-PCR quantifiziert und zeigten unterschiedliche Kinesen für mRNAs, insbesondere für das Beta-Xylosidase 1 Transkript. Versuchsansätze aber auch hypotetische Funktionen erklären die Veränderung von Glycosyl-Hydrolase Aktivitäten und ihre mögliche Rolle in der Virusbiologie, dem Lebenszyklus und Interaktionen mit dem Vektor.
