



UNIVERSITY OF  
TEHRAN

# THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE / UNIVERSITY OF TEHRAN

ECOLE DOCTORALE N° 642

*Ecole doctorale Végétal, Animal, Aliment, Mer, Environnement*

Spécialité : Biologie et physiologie végétales et animales

Par

**Nariman ZAINALI**

## **Combinatorial host-induced gene silencing in broomrape parasite**

Thèse présentée et soutenue à Karaj, le 25 Novembre 2025

Unité de recherche : Unité en Sciences Biologiques et Biotechnologies (US2B)

### **Rapporteurs avant soutenance :**

Jean-Philippe COMBIER

Directeur de recherche, Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales (LRSV),  
CNRS, Castanet-Tolosan, France

Alireza SEIFI

Associate Professor, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

### **Composition du Jury :**

Président :

Examineurs :

Jean-Philippe COMBIER

Sciences Végétales (LRSV), CNRS, Castanet-Tolosan, France

Alireza SEIFI

Mashhad, Iran

Directeur de recherche, Laboratoire de Recherche en

Associate Professor, Ferdowsi University of Mashhad,

Dir. de thèse :

Co-dir. de thèse :

Philippe DELAVault

Houshang ALIZADEH

Professeur, Nantes Université, Nantes, France

Associate Professor, University of Tehran, Karaj, Iran

**Titre :** Résistance induite par l'hôte contre les plantes parasites du genre *Phelipanche* par extinction de gène

**Mots clés :** amiRNA, orobanche, ARNdb, extinction génique, HIGS, ARNi, miARN, nucléotides

**Résumé :** Les orobanches sont des holoparasites obligatoires qui causent des dommages dévastateurs chez de nombreuses espèces cultivées et sont difficiles à contrôler par des méthodes conventionnelles. L'utilisation d'outils biotechnologiques telle que l'inhibition de l'ARN a toutefois été suggérée comme une stratégie prometteuse pour atténuer l'effet des plantes parasites. En outre, au cours des dernières années, l'administration topique d'ARNdb a suscité beaucoup d'attention en raison de son applicabilité et de son efficacité contre divers parasites de plantes. Ici, pour la première fois, une construction amiRNA multiplex et une construction combinatoire hpRNA ont été utilisées pour éteindre l'expression de trois gènes chez *Phelipanche aegyptiaca* par le biais d'un essai transitoire médié par *Agrobacterium*. Une réduction significative des niveaux de transcription des gènes cibles n'a été enregistrée que pour le système amiRNA et uniquement pour le gène SUSY. Cependant, aucune différence dans la croissance et le développement des parasites n'a été observée.

En parallèle, pour tester l'efficacité des ARNdb appliqués par voie topique, des ARNdb ciblant les mêmes gènes ainsi qu'un ARNdb multiplex ciblant tous les gènes ont été appliqués sur les plantes hôtes par injection à deux concentrations de 5 et 25 µg. Aucune modification significative des niveaux de transcription des gènes cibles et aucun défaut morphologique n'ont été enregistrés chez les parasites après le traitement par les ARNdb. Enfin, l'application exogène de miR172b et d'un ARNdb ciblant le gène *CYP707A1* (dsCYP7) a été étudiée. Alors que l'application de miR172b jusqu'à 1 µM n'a pas eu d'effet inhibiteur sur la germination des graines, l'application de 12 µM de dsCYP7 a complètement inhibé la germination des graines. Cependant, deux ARNdb non spécifiques de la germination et des rNTP ont également provoqué des inhibitions similaires, ce qui suggère que l'effet inhibiteur des ARNdb est dû à leur nature azotée. Ces divers résultats indiquent que le phénomène de mouvement des petits ARN entre l'orobanche et ses hôtes et l'application de molécules de silençage exogènes sur les parasites doivent encore faire l'objet d'études et d'améliorations.

**Title:** Combinatorial gene silencing and host-induced resistance against parasitic broomrape

**Keywords:** amiRNA, broomrape, dsRNA, gene silencing, HIGS, RNAi, miRNA, nucleotides

**Abstract:** Broomrapes are obligate holoparasites that cause devastating damage to many crop species and are difficult to control with conventional methods. The application of biotechnological tools such RNA silencing, however, has been suggested as a promising strategy to alleviate the effect of parasitic plants. Moreover, during the last few years, the topical delivery of dsRNAs has lured many attentions due its applicability and effectiveness against plant pests. Here, for the first time, a multiplex amiRNA construct alongside a combinatorial hpRNA construct were used to silence three genes in *Phelipanche aegyptiaca* via *Agrobacterium*-mediated transient assay. Significant reduction in the transcript levels of the target genes was only recorded for the amiRNA system and only for the SUSY gene. However, no differences in the normal growth and development of the parasites were observed. Additionally, to test the effectiveness of topically applied dsRNAs, dsRNAs targeting the same genes alongside a multiplex dsRNA targeting all genes were applied on the host plants via injection in two concentrations of 5 and 25 µg.

No significant changes on the transcript levels of the target genes and no morphological defects were recorded in parasites following dsRNA treatment. Finally, the exogenous application of miR172b and a dsRNA targeting *CYP707A1* gene (dsCYP7) were studied. While the application of miR172b up to 1 µM had no inhibitory effect on the seeds germination, application of 12 µM dsCYP7 completely inhibited seed germination. On the other hand, two non-germination-specific dsRNAs and rNTPs were also caused similar inhibitions suggesting that the inhibitory effect of dsRNAs has arisen from the nitrogenous nature thereof. These results may indicate that the phenomenon of small RNAs movement between broomrape and their hosts and the application of exogenous silencing molecules on parasites still requires further investigations and improvements.