

Face à une virose, ou tout autre maladie, donner un nom à l'agent pathogène responsable des dommages observés sur une culture de pomme de terre nécessite de pouvoir identifier le ou les virus qui en sont la cause ainsi que de le/les détecter. Ce diagnostic, primordial pour suivre et garantir la qualité sanitaire des semences est tributaire d'outils qui soient spécifique et sensible. L'amélioration de la performance de ces outils est basée sur l'avancée des connaissances acquises sur l'agent pathogène et également l'évolution des innovations technologiques.

Objectifs

- Acquérir des connaissances nouvelles (pouvoir pathogène, diversité sérologique et moléculaire) sur le PVY afin d'améliorer la fiabilité de détection des souches nécrotiques et non nécrotiques du PVY.
- Réaliser une veille technologique afin d'identifier un/des nouveaux outils susceptibles d'être utilisés à l'avenir en diagnostic, permettant un contrôle de la qualité sanitaire des semences de pomme de terre plus rapide et plus précoce en culture.

Acquisition de connaissances ...

1 Identification de nouveaux déterminants moléculaires liés au pouvoir pathogène du PVY

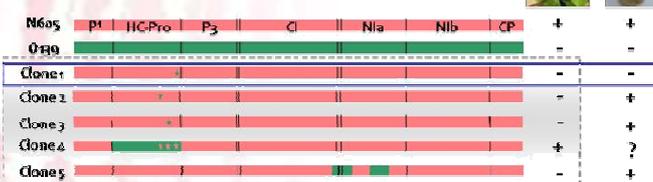


Figure 1 : Représentation schématique du génome d'isolats PVY (N605, O139) et de constructions chimériques (clones 1-5) . P1 à CP : protéines codées par le PVY. Séquence nucléotidique de type-N (■) ou de type-O (■).

- Mise en évidence, par génétique inverse, d'au moins trois marqueurs associés à la capacité nécrotique sur tabac du PVY.
- Ces marqueurs ont fait l'objet d'un dépôt de brevet international (brevet INPI N° 0503610 en 2005).
- Découverte du premier déterminant moléculaire impliqué dans le processus de nécrose sur tubercule (PTNRD).

2 Importante diversité sérologique du PVY

- Historiquement, le PVY est classé en deux groupes sérologiques : sérotype-O (PVY^O, PVY^{N-W}) et sérotype-N (PVY^N, PVY^{NTN}).

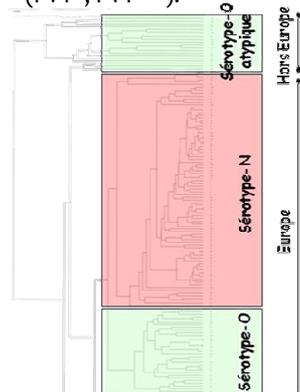


Figure 2 : Dendrogramme représentant la diversité sérologique du PVY

- Mais au sein de chacun de ces groupes, une variabilité sérologique importante a été mise en évidence au laboratoire.

- Tous les anticorps monoclonaux ne présentent pas la même spécificité.

- Constitution d'une banque d'anticorps monoclonaux représentative de la diversité sérologique connue aujourd'hui du PVY.

... pour améliorer encore le diagnostic

1 Tests plus précoces : à partir du tubercule

- L'exploitation des marqueurs moléculaires du pouvoir pathogène du virus (différenciation des isolats nécrotiques / non nécrotiques) combinée à la sensibilité de la technique PCR temps réel (PCRq) permettrait de développer un outil spécifique et sensible applicable directement sur extrait tuberculaire.

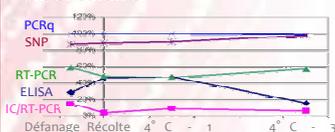


Figure 3 : Comparaison en conditions contrôlées du taux de détection sur extrait tuberculaire de cinq techniques à 4 stades physiologiques du tubercule.

- En conditions contrôlées, seule la technique PCRq permet de détecter 100% des tubercules infectés avant défanage.

- Une telle sensibilité permettrait dans certains cas de s'affranchir des tests de préculture.

2 Tests plus fiables : réaliser des cocktails de réactifs sérologiques

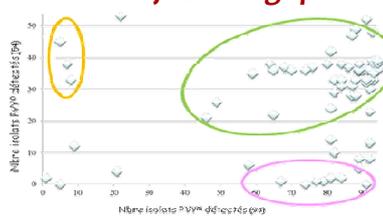


Figure 4 : Représentation graphique de la spécificité de reconnaissance de la banque d'anticorps monoclonaux. — : anticorps anti-PVY^O, — : anticorps anti-PVY^N et — : anticorps anti-PVY.

- La large collection d'anticorps monoclonaux à notre disposition, nous permettra d'être opérationnel dès l'émergence de nouvelles populations de PVY.

- Avenir : associer des anticorps monoclonaux de spécificité différente afin de développer des kits de diagnostic des différentes populations de PVY (O, N).

Et demain ?

- L'enjeu pour la filière française de plant est de gagner en rapidité d'exécution du diagnostic ; l'une des pistes est le multiplexage des réactifs moléculaires et/ou sérologiques en prenant en considération les autres virus contrôlés.