

EFFORTS RECENTS POUR LA DETECTION ET LA CARACTERISATION DES VIRUS INFECTANT LES IGNAME (DIOSCOREA SPP.) POUR GARANTIR L'ETAT SANITAIRE DU GERMPLASME

Denis FILLLOUX¹, Serge GALZI¹, Genira PEREIRA de ANDRADE², Gilvan PIO RIBEIRO², Séverine GALLET³, Marie UMBER³, Franciane GAMIETTE³

¹ CIRAD, UMR BGPI, TA A-54 / K, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France. Email: filloux@cirad.fr

² UFRPE, Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife-PE, Brazil.

³ INRA, URPV, Domaine de Ducloux, 97170 Petit-Bourg, Guadeloupe, French West Indies.

Les maladies virales sont l'un des plus importants problèmes rencontrés dans les cultures d'ignames (*Dioscorea* spp.) en réduisant fortement le rendement et la qualité des tubercules, et en causant la perte inexorable de variétés intéressantes. La constitution de ressources génétiques saines et l'échange de matériel végétal garanti sain au travers de quarantaine deviennent de plus en plus cruciaux pour éviter l'érosion génétique et pour améliorer l'état sanitaire des plantations d'ignames. Pour cela, le CIRAD, l'INRA (Guadeloupe) et l'UFRPE (Brésil) oeuvrent conjointement depuis quelques années à la connaissance et à la gestion des risques viraux.

Afin de détecter et identifier le plus largement possible les virus des ignames, connus ou inconnus, avec une bonne sensibilité et spécificité, différents outils moléculaires, immunologique et PCR, sont couramment utilisés et continuellement évalués. La caractérisation des virus détectés est également entreprise.



Des ressources végétales accessibles et variées

- Le Centre de Ressources Biologique Ignames (INRA de Guadeloupe) détient 500 accessions appartenant aux 3 espèces principales d'ignames (*D. alata*, *D. cayenensis-rotundata* et *D. trifida*) qu'il souhaite valoriser.
- Le CIRAD, au travers de son activité de quarantaine, a constamment accès à de nombreuses accessions d'origines géographiques très diverses (Afrique de l'Ouest, Amérique du sud, Caraïbes, Madagascar, Océanie) et au statut sanitaire incertain.
- Le Brésil, grand producteur et exportateur d'ignames (*D. alata*, *D. cayenensis-rotundata*), est préoccupé par l'état sanitaire des champs commerciaux.



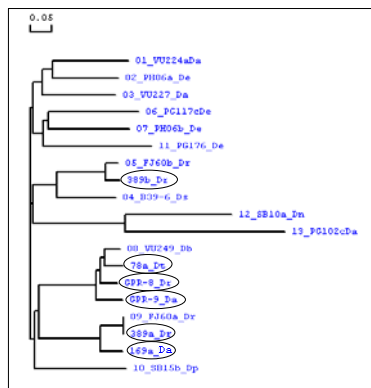
Quelques symptômes de viroses observées chez les ignames

Une exploration systématique de la diversité virale

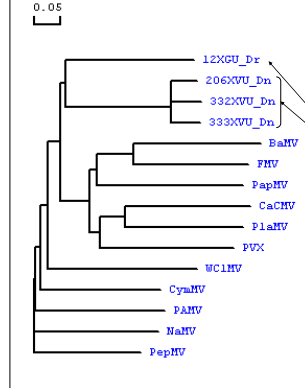
- Peu de tests immunologiques réellement fiables et polyvalents, hormis pour la détection par Elisa du CMV.
- Utilisation d'amorces génériques pour une détection à large spectre des genres viraux.
- Utilisation d'amorces spécifiques pour une caractérisation précise des espèces virales, quand celle-ci est possible.
- Clonage et séquençage des produits PCR amplifiés.
- Comparaison avec les séquences disponibles sur GenBank et analyses phylogénétiques.

Outils mis en œuvre pour la détections des principaux virus infectant les ignames

Genre	Virus	Outils de détection	
		Générique	Spécifique
Badnavirus	DBV	PCR (Yang <i>et al.</i> , 2003)	Non disponible
	autres (?)		-
Cucumovirus	CMV	?	DAS-Elisa (Biorad) IC-RT-PCR (De Blas <i>et al.</i> , 1994)
Potexvirus	DLV	RT-PCR (Van der Vlugt et Berendsen, 2002)	Non disponible
	autres (?)		-
Potyvirus	YMMV	RT-PCR (Marie-Jeanne <i>et al.</i> , 2000) [et/ou Elisa Indirecte (Agdia)]	RT-PCR (Mumford et Seal, 1997)
	YMV		RT-PCR (Bousalem <i>et al.</i> , 2000)
	autres (?)		RT-PCR (Mumford et Seal, 1997)
			-



Classification des badnavirus séquencés (BadnaFP/Badna RP - 528 bp) parmi les 13 groupes de DBV (Kenyon *et al.*, 2008)

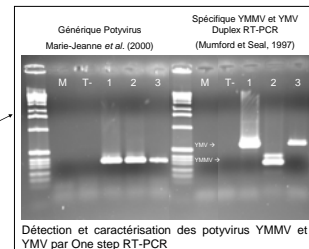


Classification des potexvirus séquencés (Potex2RC/Potex5 - 556 bp) parmi les principaux représentants du genre Potexvirus

Deux nouveaux potexvirus infectant 2 espèces d'ignames distinctes (*D. cayenensis-rotundata* et *D. nummularia*) ont été trouvés.

Pas de nouvelles souches de potyvirus identifiées.

CMV : Cucumber mosaic cucumovirus
DBV : Dioscorea bacilliform virus
DLV : Dioscorea latent potexvirus
YMMV : Yam mild mosaic potyvirus
YMV : Yam mosaic potyvirus



Détection et caractérisation des potyvirus YMMV et YMV par One step RT-PCR

Perspectives et applications

- Développement d'outils PCR de détection spécifiques aux virus des ignames, notamment Badnavirus et Potexvirus.
- Poursuite du screening des ressources génétiques et de champs commerciaux pour d'autres familles ou genres viraux.
- Pilotage de l'élimination de virus par divers traitements (culture de méristèmes, thérapie thermique, chimiothérapie,...) des plantes infectées afin d'obtenir du matériel végétal sain.
- Aide à la mise en place, au Brésil et en Guadeloupe, de filières de production des semences saines pour l'amélioration du rendement et de la qualité des tubercules produits.

Références

Bousalem M., Dallot S., Guyader S., 2000. The use of phylogenetic data to develop molecular tools for the detection and genotyping of Yam mosaic virus. Potential application in molecular epidemiology. *Journal of Virological Methods* 90 : 25-36.
De Blas C., Borja M.J., Saiz M., Romero J., 1994. Broad spectrum detection of Cucumber mosaic virus (CMV) using the polymerase chain reaction. *Journal of Phytopathology* 141: 323-329.
Kenyon L., Lebas B.S.M., Seal S.E., 2008. Yams (*Dioscorea* spp.) from the South Pacific Islands contain many novel badnaviruses: implications for international movement of yam germplasm. *Archives of Virology* 153: 877-889.
Mumford R.A., Seal S.E., 1997. Rapid single-tube immunocapture RT-PCR for the detection of two yam potyviruses. *Journal of Virological Methods* 69: 73-79.
van der Vlugt A.A., Berendsen M., 2002. Development of a general potexvirus detection method. *European Journal of Plant Pathology* 108: 367-371.
Yang J.C., Hahner G.J., Dale J.L., Harding R.M., 2003. Genomic characterisation of taro bacilliform virus. *Archives of Virology* 148: 937-949.

