



DETECTION ET QUANTIFICATION D'APHANOMYCES EUTEICHES PAR PCR QUANTITATIVE DANS LES PARCELLES DE POIS PROTEAGINEUX

H.Sauvage^(1,2) K.Laval⁽¹⁾ F.Bois⁽²⁾ S.Barry⁽³⁾

¹ Laboratoire BioSol – Esitpa, Ecole d'Ingénieurs en Agriculture – 13, rue du Nord - 76000 Rouen

² A.BIO.C- Route de Samadet 64410 Arzacq-

³ Laboratoire de Microbiologie du Froid- UFR Sciences, Université de Rouen 76130 Mont Saint Aignan-

Les applications récentes de l'amplification génique (PCR) dans les domaines du clinique, de la sécurité alimentaire, et de l'agronomie nous encouragent à transférer cette approche pour la détection et la quantification d'organismes phytopathogènes dans les sols, et en particulier *Aphanomyces euteiches*. Nos travaux visent à transférer l'outil moléculaire proposé par Vandemark [1, 2] à la problématique suivante : détection et quantification de souches françaises d'*Aphanomyces euteiches* dans les parcelles de pois protéagineux. Les résultats présentés s'inscrivent dans une démarche dont l'objectif vise à proposer un outil de diagnostic. Nous avons tout d'abord validé la spécificité de l'outil moléculaire (couple d'amorces, et sonde TaqMan) sur un ensemble de souches représentatives des régions infestées de la sole française. A contrario nous avons vérifié l'absence d'hybridation croisée avec des espèces potentiellement inféodées à des échantillons de l'environnement. Par ailleurs, il s'agissait de déterminer le nombre de copies du marqueur moléculaire, et de vérifier que ce nombre de copies était constant chez l'espèce, afin d'interpréter des résultats en nombre de génomes et de pouvoir comparer les échantillons entre eux. D'autre part une corrélation linéaire a été établie entre le nombre d'oospores et l'amplification génique, validant d'une part la reproductibilité de la méthode d'extraction et d'autre part confirmant la corrélation entre nombre d'oospores/quantité d'ADN extraite et amplification génique. L'outil a ainsi été transféré à des sols naturellement contaminés afin d'apprécier la pertinence de l'outil en établissant les corrélations entre le nombre de copies de génomes détecté dans le sol par qPCR et la réponse biologique (quantité de symptômes). Enfin il s'agira de déterminer si le seuil de nuisibilité du pathogène (en nombre de copies de génomes) est accessible par l'approche moléculaire.

Ainsi l'utilisation de l'outil moléculaire pourrait être un plus en terme d'aide à la décision pour la profession, et la méthode transférable à de nombreuses problématiques en pathologies végétales afin d'évaluer, diagnostiquer, et anticiper des dégâts importants sur des cultures commercialement incontournables.

1. Vandemark G.J., et al., *A PCR-based assay by sequence-characterized DNA markers for the identification and detection of aphanomyces euteiches*. Phytopathology, 2000. **90**(10): p.1137-1144.
2. Vandemark G.J., Barker B.M., and Gritsenko M.A., *Quantifying aphanomyces euteiches in alfalfa with a fluorescent polymerase chain reaction assay*. The American phytopathological society, 2002. **92**(3): p. 265-272.