

Transcription du Cours du Virologie des Plantes, Semaine 5

5.1. (00:10 00:37) Bienvenue à la Cinquième Classe du Cours « Virologie des Plantes », qui traite de la détection, l'identification et contrôle des phytovirus.

Beaucoup de méthodes et de techniques différentes sont utilisés pour la détection et l'identification des phytovirus. Nous en avons besoin pour le diagnostic d'une infection virale dans les champs, au cours de nombreuses situations épidémiologiques et quarantaine, ainsi que la recherche fondamentale des phytovirus.

5.2 (00:37 01:06) L'essai biologique est le test qui consiste à la réponse des plantes indicatrices d'une inoculation (infection artificielle). Le test permet de mesurer l'ineffectivité relative d'un virus pathogène. Un assez long temps est nécessaire pour la plante témoin de répondre à une infection (5 à 20 jours jusqu'à 1 an).

5.3. (01:06 01:34) Les méthodes sérologiques sont basées sur la réaction immunitaire d'un virus (antigène) avec des anticorps spécifiques (gammaglobulines). Il existe de nombreuses techniques sérologiques, mais pour analyser les plantes régulièrement à grande échelle le double anticorps "sandwich" ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) (DAS-ELISA), est le test plus populaire (Voir van Regenmortel, 1982).

5.4. (01:34 01:49) Par les techniques de microscopie électronique, il est possible d'observer directement les particules virales et des corps d'inclusion. Parfois, le genre de virus de plantes peut être identifié de façon préliminaire.

5.5. (01:49 02:17) Les méthodes suivantes de la biologie moléculaire sont utilisés en virologie des plantes: électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE), la réaction en chaîne de la polymérase (PCR), précédé par transcription inverse (RT-PCR), immuno capture PCR précédée par transcription inverse (IC RT-PCR), hybridation à l'aide de Dot Blot (cDNA), Southern Blot (ADN), Northern blot (ARN), Western Blot (protéines) et bien d'autres.

5.6. (02:17 02:43) En règle générale, il est important de prévenir les maladies virales des plantes. Jusqu'ici, il n'y a aucune lutte chimique directe de phytovirus. On a présenté la stratégie de l'utilisation de nombreuses méthodes intégrées pour réduire les pertes de récoltes à des niveaux acceptables.

5.7. (02:43 03:00) La lutte contre les maladies virales des plantes devrait être fondée sur l'utilisation de matériaux obtenus de végétaux sains, provenant de matériel végétal certifié comme exempt de virus (par exemple, après la thermothérapie, la culture de la pointe du méristème ou chimiothérapie dans culture *in vitro*) ou de semence exempt de virus. Les programmes de certification des plantes fournissent producteurs locaux avec de propagules d'haute qualité et sains pour démarrer leurs récoltes.

5.8 (03:00 03:21) L'utilisation de variétés végétales résistantes. La résistance de la plante est la réduction ou l'élimination de l'infection virale des plantes génétiquement déterminée. C'est réduire les risques de maladie causée par ce virus. La résistance qui existe chez les plantes avant l'infection, issu, par exemple, les structures morphologiques des cellules végétales et des tissus, est appelée résistance préexistante.

5.9. (03:21 04:24) Les mécanismes de défense des plantes qui évoluent après infection incluent :

Hypersensibilité -une réponse rapide de la mort de la cellule hôte, associé de défense médiée par les « gènes de résistance R »,

Résistance systémique acquise (SAR), largement médiatisé par le biais de l'acide salicylique, avec une production de protéines associées de pathogénicité (protéines PR),

Résistance systémique induite (ISR) par l'intermédiaire de voies dépendantes de l'acide jasmonique - éthylène,

Mécanismes de silençage génique médiée par l'interférence d'ARN. RNA silencing repose sur ciblant certaines séquences d'ARN et leur dégradation. Les phytovirus codent pour des protéines qui suppriment le RNA silencing de la plante (https://en.wikipedia.org/wiki/Plant_disease_resistance_).

5.10. (04:24 05:04) Le niveau de résistance de la plante à l'inoculation du virus dans présenté sur la figure. Quatre variétés de plante ont été inoculées avec la même souche de phytovirus.

La variété de plante résistante a la capacité intrinsèque de surmonter ou de retarder l'infection par le pathogène (virus). Une plante peut être légèrement, modérément ou très résistante. Les plantes qui appartiennent au groupe taxonomique qui ne relèvent pas de la plage de l'hôte de l'agent pathogène (virus) sont appelées « plantes immunitaires ». Ils sont appelées aussi « résistance non de l'hôte ».

5.11. (05:04 05:25) La variété végétale sensible est incapable de résister à l'infection par le pathogène (virus). La variété sensible toujours réagit à l'infection avec des symptômes sévères de la maladie. Il y a aussi des variétés tolérantes, dont caractères génétiques leur permettent de réduire la maladie potentielle et sont capables de produire de bonnes récoltes même lorsqu'ils sont infectés.

5.12. (05:25 06:12) La sélection pour la résistance incluent :

Les méthodes classiques d'amélioration, comme la sélection, croisement avec les plantes contenant des gènes de résistance naturelle (Rx1-pomme de terre, N - tabac, Tm1, Tm2-tomate)-la théorie du « gène par gène », et

Techniques de génie génétique pour la transformation génétique des cellules végétales pour la résistance aux maladies. La transformation des plantes avec les séquences codant des protéines de la capsid (par exemple, l'expression de la protéine de la capsid du TMV dans plants de tabac protège le plant contre le virus de la mosaïque du tabac (résistance provenant de l'agent pathogène, PDR).

Autres méthodes incluent l'expression dans les plantes d'ARN satellites virales, l'application du gène règlement anti-sens, ribozymes ou l'expression des gènes d'interféron humain chez les plantes (Gagnon et al., 1990).

5.13. (06:12 06:44) Autres règlements pour la protection des plantes contre les virus incluent : lutte chimique contre les insectes, nématodes et champignons vecteurs de phytovirus, lutte chimique contre les mauvaises herbes (hôtes naturels du virus), l'élimination des sources d'infection et de l'utilisation de d'autres méthodes agritechnical utiles pour le protection del végétaux et conformément aux règlements de quarantaine. **Protection croisée** est un phénomène qui survient lorsqu'une infection par le virus légère empêche ou supprime les effets néfastes d'une infection ultérieure par un virus associé grave.

5.14. (06:44 07:05) La thermothérapie et la culture de la pointe du méristème utilisée pour l'élimination de virus végétaux. Plantes dans une chambre de croissance. Pour la thermothérapie, les plantes sont traitées à l'air chaud (28-42°C) pendant 4 à 6 semaines. Le

traitement thermique réduit la concentration de virus dans les plantes et les nouveaux bourgeons sont exempts de virus.

5.15. (07:05 07:20) La majorité des phytovirus n'ont aucune capacité d'envahir les tissus méristématiques. Les méristèmes apicaux peuvent être coupés et aseptiquement cultivés «*in vitro*» sur un milieu artificiel. Diagramme du méristème (sommet en croissance) avec la ligne de découpe de l'explant.

5.16. (07:20 07:28) Culture de pointe de méristème. Pointe des explants dans les ponts de filtre immergés au milieu de M/S.

5.17. (07:28 07:34) Culture de pointe de méristème. Croissance des explants.

5.18. (07:34 07:43) Plantes régénérées de culture de pointe de méristème prêt pour le transfert à des substrats stériles de perlite ou vermiculite (prêts à mettre en pot).

5.19. (07:43 08:00) Régime d'éradication du virus à partir de matériel de multiplication des plantes à l'aide de thermothérapie, suivie par la culture de pointe de méristème.

5.20. (08:00 08:04) Je vous remercie pour votre attention.