

**MASTER 2 EN SCIENCES, TECHNOLOGIE ET SANTÉ**

**DISCIPLINE : BIOLOGIE – SANTÉ**

**Parcours « Santé en Milieu Tropical »**

**Optimisation du test de détection LAMP et application à la détection de spores de *Colletotrichum alatae* dans l’environnement**

**Mémoire présenté par :**

**PESTON-COMMINGES Aurélie**

**Tuteur :** Dr Sébastien GUYADER

Chargé de Recherches

Institut National de Recherche en Agriculture, Alimentation et Environnement

**Tuteur académique :** Dr Olivier GROS

Professeur, Responsable du C3MAG

UFR des Sciences Exactes et Naturelles

Département de Biologie, Université des Antilles

**Unité de Recherche sur les Agrosystèmes Tropicaux,**

**Institut National de Recherche en Agriculture, Alimentation et Environnement**

*Domaine de Duclos, Petit-Bourg, Guadeloupe*

**Université des Antilles**

**Faculté des Sciences Exactes et Naturelles**

*Pointe-à-Pitre, Guadeloupe*

**Soutenance en Juin 2020**

***Remerciements***

**Tables des matières**

Remerciements…………………………………………………………………………………3

Table des matières……………………………………………………………………………...4

Liste des abréviations…………………………………………………………………………..

Abstract………………………………………………………………………………………...

Résumé…………………………………………………………………………………………

**INTRODUCTION**…………………………………………………………………

1. Présentation du CRB-PT et de l’Unité ASTRO-Ouest………………………

1.1. Le CRB-PT……………………………………………………………

1.2. L’Unité ASTRO-Ouest……………………………………………….

1.3. Le financement du stage……………………………………………………..

2. L’igname…………………………………………………………………….

Dioscorea spp. et dioscorea alata

2.1. Taxonomie de la plante

2.2. Description botanique

2.3. Composition nutritionnelle

2.4. Agriculture mondiale et locale

3. Les pathogènes de l’igname

3.1. Le complexe d’espèces *Colletotrichum gloeosporioides*

3.2. L’espèce *Colletotrichum alatae*

3.2.1. Taxonomie ? Phylogénie ?

3.2.2. Morphologie ? Structure

3.2.3. Processus infectieux

4. L’anthracnose de l’igname

4.1. Symptômes de l’antrachnose

4.2. Cycle épidémiologique

1. **MATÉRIELS ET MÉTHODE**………………………………………………….
2. **RÉSULTATS**…………………………………………………………………….
3. **DISCUSSION**…………………………………………………………………..
4. **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**………………………………………….
5. **BIBLIOGRAPHIE**……………………………………………………………….

**Liste des abréviations**

ADN Acide DésoxyriboNucléique

ASTRO AgroSystèmes Tropicaux

CIRAD Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le

Développement

CRB-PT Centre de Ressources Biologiques Plantes Tropicales

INRA Institut National de la Recherche Agronomique

ITS *Internal Transcribed Spacer* ou …

LAMP *Loop-mediated isothermal Amplification* ou amplification isotherme médiée par

boucle

PCR *Polymérase Chain Reaction* ou réaction en chaîne par polymérase

…..

**Abstract**

Abstract (en anglais)

***Keywords : Dioscorea alata, LAMP, Colletotrichum alatae***

Optimisation du test de détection LAMP et application à la détection de spores de *Colletotrichum alatae* dans l’environnement

Résumé (en français)

Mots clefs :

1. **INTRODUCTION**

Dans les régions tropicales, les plantes à racines et tubercules (manioc, patate douce, pomme de terre et igname) constituent des cultures alimentaires importantes. Leur volume total de production était d’environ 866 millions de tonnes en 2017 (FAOSTAT, 2019). Parmi ces plantes à racines et tubercules, l’igname (*Dioscorea* spp.), avec une production de 71 millions de tonnes en 2017, constitue la base la plus importante de l’alimentation de plus de 500 millions de personnes dans certains pays tropicaux d’Afrique, des Caraïbes, d’Océanie et d’Amérique Latine (FAOSTAT 2019).

En Guadeloupe, l’igname est la première culture vivrière, cultivée par un agriculteur sur huit selon le dernier recensement général agricole (DAAF, 2011) avec une production s’élevant à 3364 tonnes en 2017 (FAOSTAT, 2019).

Cependant, le rendement de certaines cultures a fortement diminué depuis le passage de l’ouragan Maria au cours du dernier trimestre de l’année, en septembre 2017. En effet, les fortes pluies provenant de cet ouragan ont entraîné le développement et la prolifération du champignon responsable de l’anthracnose, l’espèce fongique *Colletotrichum gloeosporioides*. Près de 42% des parcelles du réseau sont concernées par la maladie et touchées avec un niveau de sévérité assez élevé (Bulletin de Santé du Végétal, 2017). ?????

L’analyse de séquence au niveau de plusieurs régions génomiques pour un grand nombre de souches appartenant au complexe d’espèces *C. gloeosporioides* a révélé que la plupart des souches pouvaient appartenir à plusieurs espèces décrites du genre *Colletotrichum* spp. Des recherches préalablement effectuées au sein de l’INRA ont pu mettre en évidence que les souches présentes en Guadeloupe sont apparentées à l’espèce *C. alatae*.

L’objectif des travaux de recherche présentés dans ce mémoire est dans un premier temps, d’obtenir de nouvelles séquences pour les locus ApMat et ITS, afin de confirmer le statut de l’espèce des souches en Guadeloupe. Dans un second temps, il s’agira ensuite d’améliorer le protocole de la technique d’amplification isothermale (LAMP) mise en place récemment au sein de l’équipe et d’en tester la fiabilité et la sensibilité. Et pour finir, détecter la présence de spores de C. alatae dans l’air environnant les parcelles d’ignames.

Au cours de cette introduction, les principales caractéristiques de l’ignames et de son

**I.1. Présentation du CRB-PT et de l’Unité ASTRO**

**I.1.1. Le CRB-PT**

Le Centre de Ressources Biologiques Plantes Tropicales (CRB-PT) recense cinq collections de ressources génétiques patrimoniales (banane, canne à sucre, igname, mangue et ananas) conservés à long terme et mis à disposition pour les utilisateurs par le Cirad et l’Inra aux Antilles françaises (Guadeloupe et Martinique). Le CRB-PT est identifié comme un outil commun au service de la recherche et du développement agricole ([umr-agap.cirad.fr](https://umr-agap.cirad.fr/recherche/projets-de-recherche/crb-pt), consulté le 07/01/2020). Ces collections comportent des espèces cultivées et apparentées pour lesquelles on dénombre 585 variétés d’ananas, 450 variétés de bananiers, 1400 variétés de canne à sucre, 120 variétés de manguiers et 500 variétés d’ignames, ainsi qu’un herbier référencé au niveau international sous le nom de GUAD et qui compte plus de 10 000 spécimens provenant des petites Antilles. Cette biodiversité naturelle ou collectée constitue une base pour des programmes de diversification, de création variétales, ou d’analyse de la diversité et les accessions sons fournies sous forme de plants, greffons ou semences ([collections.antilles.inra.fr](http://collections.antilles.inra.fr/index.jsp), consulté le 08/01/2020).

**I.1.2. L’Unité ASTRO-Ouest**

L’Unité de recherche AgroSystèmes Tropicaux (ASTRO) développe des recherches pluridisciplinaires en sciences du végétal, environnement, phytopathologie, agronomie et économie afin de concevoir des systèmes de cultures innovants à faibles niveaux d’intrants répondant aux besoins de développement durable du territoire, aux attentes des consommateurs, et présentant les meilleures chances d’adoption par les agriculteurs en respectant les milieux tropicaux fragiles. ([Annuaire des Laboratoires et des Recherches](http://annuaire.inra.fr/afficherStructure.action?code=1321&type=SO), consulté le 07/01/2020).

**I.2. Le financement du stage**

Le financement est assuré par le projet MALIN (FEDER et Région Guadeloupe). Ce projet collaboratif MALIN vise à améliorer le contrôle des maladies infectieuses humaines, animales et végétale en Guadeloupe et dans la Caraïbe. Il associe l’ensemble des institutions guadeloupéennes impliquées dans la compréhension, le suivi et le contrôle de ces maladies. MALIN s’appuie sur une recherche pluridisciplinaire associant microbiologie, épidémiologie, entomologie et socio-économie (<https://www.projet-malin.fr/>, consulté le 06/01/2020)

**I.3. L’igname**

**I.3.1. Agriculture mondiale et locale**

Cette production se concentre principalement (plus de 93 % de la production mondiale) dans les savanes entourant le Golfe de Guinée, formant une « ceinture de l’igname » ; elle y joue un rôle très important dans la sécurité alimentaire d’au moins 60 millions de personnes (Adeniji *et al.*, 2012 ; Cornet, 2015 ; Sanginga et Mbabu, 2015). Le Nigeria est, de loin, le premier pays producteur d’igname au monde, avec plus de 48 millions de tonnes, soit plus de 70 % de la production mondiale, évaluée à 73 Mt en 2017 (FAOstat, 2019).

La production mondiale d’igname a presque triplé au cours des trois dernières décennies, en particulier au Nigeria, au Bénin et au Ghana ; le potentiel de l’igname laisse à penser qu’elle pourrait être, dans un proche avenir, un recours pour répondre aux besoins alimentaires grandissants des populations ([Asiedu et Sartie, 2010](https://www.cahiersagricultures.fr/articles/cagri/full_html/2019/01/cagri190011/cagri190011.html" \l "R4)). En Afrique, bien que la zone de production d’igname se concentre dans les pays côtiers du Golfe de Guinée ([Vernier et Dansi, 2006](https://www.cahiersagricultures.fr/articles/cagri/full_html/2019/01/cagri190011/cagri190011.html" \l "R55) ; [Olufemi](https://www.cahiersagricultures.fr/articles/cagri/full_html/2019/01/cagri190011/cagri190011.html" \l "R42) *et al.*, 2016), sa culture s’étend ces dernières décennies vers les zones tropicales humides d’Afrique centrale (Cameroun, République Centre-africaine, Tchad, Gabon) ainsi qu’à Madagascar. Le Brésil, la Colombie, la Jamaïque, Haïti, la Dominique, la Papouasie-Nouvelle Guinée et Sao-Tomé sont aussi des pays producteurs d’igname ([FAOSTAT, 2019](https://www.cahiersagricultures.fr/articles/cagri/full_html/2019/01/cagri190011/cagri190011.html" \l "R24))

est cultivée sur 4,6 millions d''hectares dans le monde et 52 millions de tonnes ont été récoltées en 2007 (FAOStat, 2009). C'est la quatrième plante à tubercule dans le monde après la pomme-de-terre, le manioc et la patate douce. Les deux principales espèces cultivées sont *D. cayenensis-rotundata*, et *D. alata*.

La production d'igname en Guadeloupe représente 6000 tonnes par an. Environ un quart des agriculteurs guadeloupéens cultivent l'igname. En terme de surface, c'est la troisième plante d'importance pour la Guadeloupe après la canne à sucre et la banane. Par ailleurs, c'est la première culture vivrière de Guadeloupe et elle constitue donc un enjeu majeur en terme d'autosuffisance alimentaire.

Outre des contraintes d'ordre agronomique, l'igname D. alata (la plus cultivée) est affectée par l'anthracnose, qui peut causer des pertes de rendement de 50% à 90% (Fournet et al., 1974 ; Mignucci et al., 1988). ([INRAE.fr, Igname - Anthracnose](https://www6.inrae.fr/epiarch/Pathosystemes/Igname-Anthracnose), consulté le 08/01/2020)

**I.3.2. Taxonomie de l’igname**

Le terme igname (ziyanm en créole ; iñame en espagnol ou encore yam) provient du vocabulaire africain « nyam » signifiant manger ou nourriture (Frézal, 2005) et correspond au nom vernaculaire de la plante. Les ignames sont classées dans le genre *Dioscorea*, genre le plus important de la famille des *Dioscoreaceae*. Bien que proches des Dicotylédones par certaines caractéristiques, ces plantes sont classées parmi les Monocotylédones (Orkwor *et al.*, 1998). L’igname *Dioscorea* spp. est l’une des Angiospermes les plus primitives et comprend plus de 600 espèces, parmi lesquelles une dizaine sont considérées comme comestibles (O’Hair, 1990).

**I.3.3. Origine et distribution**

La famille des *Dioscoreaceae* figure probablement parmi les plus anciennes familles des Angiospermes et serait originaire du sud-est asiatique (Burkill, 1960). À la fin du Crétacé, les ignames de l’Ancien et du Nouveau monde se seraient retrouvées séparées par la formation de l’Océan Atlantique (Coursey, 1976a).

En Guadeloupe, trois espèces sont majoritairement cultivées. L’igname *D. alata*, originaire du Sud-Est Asiatique, est l’espèce la plus produite ; le complexe d’espèces D. *cayenensis-rotundata* provient du Centre-Ouest Africain ; et l’igname D. trifida trouve son centre d’origine en Amérique du Sud.

notamment l’espèce endémique de la Guadeloupe *D.* *alata* (« igname blanche[[1]](#footnote-2) » ou « water yam » ou encore « great yam ») qui est très appréciée d’un point de vue gustatif par les consommateurs. Ainsi nous nous intéresserons particulièrement à l’espèce *Dioscorea alata*.

**I.3.3. L’igname Dioscorea alata**

**I.3.3. Description botanique**

L’igname *D. alata* est une plante grimpante….

**I.4. Les pathogènes de l’igname**

**I.5. L’anthracnose de l’igname**

L’anthracnose, maladie fongique causée par les espèces appartenant au genre *Colletotrichum* spp., est particulièrement dommageable (Bailey and Jeger, 1992 ; Dickman, 2000) et constitue un facteur limitant les rendements des cultures.

L’anthracnose de l’igname est causée par le champignon *Colletotrichum gloeosporioides*. Cette maladie constitue souvent un problème majeur dans les régions tropicales où les ignames *Dioscorea spp.* sont abondamment cultivées. Toutefois, on pense que la grande igname *D.alata* est plus sensible à l’anthracnose que d’autres ignames (G.V.H Jackson, 2002).

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Mise en culture des souches de champignon….

Extraction d’ADN…

1. RÉSULTATS
2. DISCUSSION
3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES
4. BIBLIOGRAPHIE

***Bibliographie***

1. Frézal, L., 2005, Étude la diversité génétique de *Colletotrichum gloeosporioides*, responsable de l’anthracnose de l’igname *alata (Dioscorea alata*), en Guadeloupe, Thèse de doctorat en sciences, sous la direction de Neema C., Paris, Université Paris XI Orsay, 113p.
2. Dentika, P., 2015, Diversité génétique et structuration géographique du pathogène de l’igname Colletotrichum gloeosporiodes, Mémoire de Master en Sciences Technologies et Santé, sous les directions de Penet L. et Guyader S., Pointe-à-Pitre, Université des Antilles, 30p.
3. Guyader, S., 1999, Nouvelles données épidémiologiques sur les *Potyvirus* de l’igname (*Dioscorea* spp.) aux Antilles et en Guyane. Caractérisation moléculaire de populations du *Yam mosaic virus*, Mémoire de DEA de Génétique, Adaptation et Production végétales, sous la direction de Bousalem M., Rennes, Université de Rennes I, 25p.
4. Nopoly, M., 2019, Mise au point d’outils de diagnostic performants pour la détection des bioagresseurs de l’igname, Mémoire de Master en Sciences Technologies et Santé, sous les directions de Umber M. et Guyader S., Pointe-à-Pitre, Université des Antilles, 29p.
5. Orkwor, G.C. et al., 1998, The importance of yams. *In* Food yams : Advances in Research, IITA-NRCRI, Ibadan, Nigeria, p. 1-12

1. Nom générique des *D. alata* souvent employé en Guadeloupe. Ne pas confondre avec le « white yam » des anglophones désignant *D. cayenensis-rotundata*. (INRA, 2005) [↑](#footnote-ref-2)