



UTILISATION DU SÉQUENÇAGE À HAUT DÉBIT POUR L'IDENTIFICATION D'ORGANISMES PATHOGÈNES DES PLANTES

En partenariat avec l'Université Laval, le Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection du MAPAQ (LEDP) et le laboratoire de phytopathologie du CEROM, nous avons comparé les détections d'organismes pathogènes par approches conventionnelles (CONV) ou par séquençage à haut débit (SHD) sur des prélèvements de tissus végétaux de cultures maraîchères, des grandes cultures et de pommes de terre. Nous avons développé les protocoles de séquençage haut débit sur plateforme MiSeq et MinION. Au total cinq systèmes de détections ont été retenus pour l'évaluation sur MiSeq et deux systèmes pour l'évaluation sur MinION. Nous avons développé un nouvel outil informatique (ASVMaker) qui permet de créer des bases de données de références taxonomiques et spécifiques en regroupant des séquences issues de plusieurs bases de données de référence publiques et filtrées selon le système d'amplification utilisé pour le SHD. Nos résultats montrent un fort potentiel des approches SHD pour identifier les genres pathogéniques ciblés. La plateforme web PhytoSHD a été créée pour permettre au LEDP de facilement traiter des données issues du SHD. Cette interface visuelle permet de traiter, stocker et visualiser les résultats obtenus.



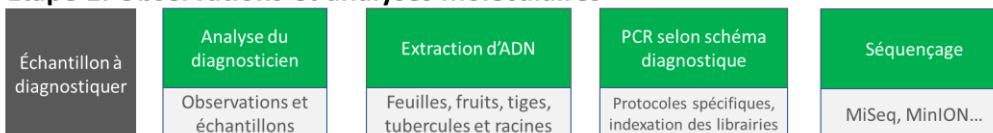
Objectifs

L'objectif général est de démontrer que les méthodes SHD permettent d'identifier simultanément, rapidement et précisément les organismes phytopathogènes responsables des principales maladies des pommes de terre, des plantes en grandes cultures, et en cultures maraîchères. Les objectifs spécifiques sont:

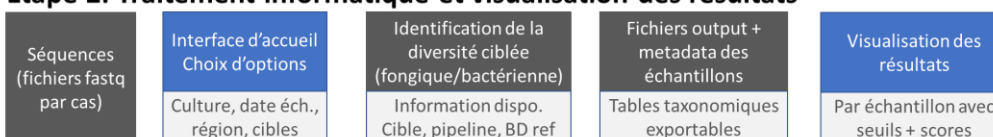
- Faire une évaluation précise par agent pathogène de la capacité d'identification par le SHD comparativement à une approche diagnostique conventionnelle;
- Établir des processus adaptés à des approches de diagnostic ou de détection impliquant l'utilisation du SHD qui permet un traitement rapide, précis et économique;
- Permettre une interprétation rapide des données de SHD par le développement d'une interface web intuitive;
- Faire le transfert et la validation de la stratégie de diagnostic par SHD et l'intégration d'une base de données de référence spécialisée qui permettra d'accroître la vitesse de traitement des données de SHD.

Méthodologie

Étape 1: Observations et analyses moléculaires



Étape 2: Traitement informatique et visualisation des résultats



Résultats

- Près de 80% des cas traités sont conformes entre l'approche conventionnelle et l'approche SHD
- L'approche SHD par NanoMiSeq est adaptée et performante pour des volumes d'échantillons de 12 à 36 échantillons
- L'outil bio-informatique ASVMaker permet de créer des bases de données de référence spécifiques pour traiter des données de SHD
- L'application web PhytoSHD permet de traiter, stocker et visualiser les données issues du SHD. (Figures 2 et 3)
- Les approches SHD par MinION peuvent être utilisées, mais le traitement informatique nécessite plus de ressources matérielles.
- L'outil PhytoSHD peut intégrer et traiter des données issues de plusieurs plateformes SHD (MiSeq, MinION)

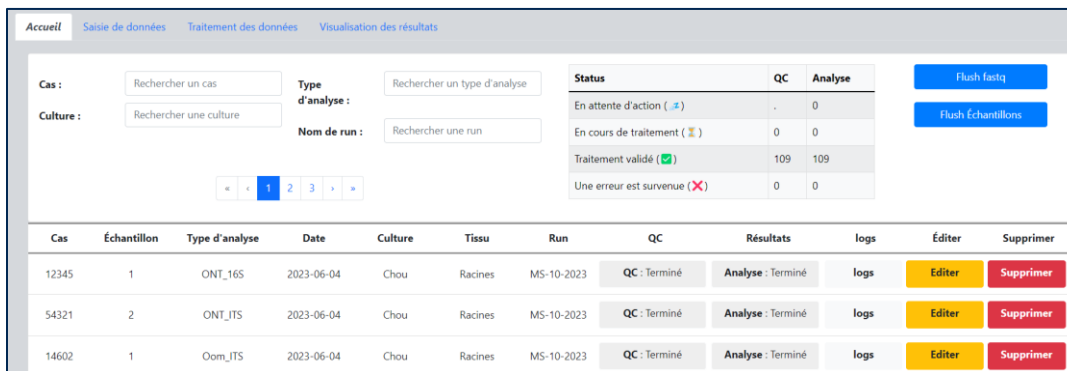
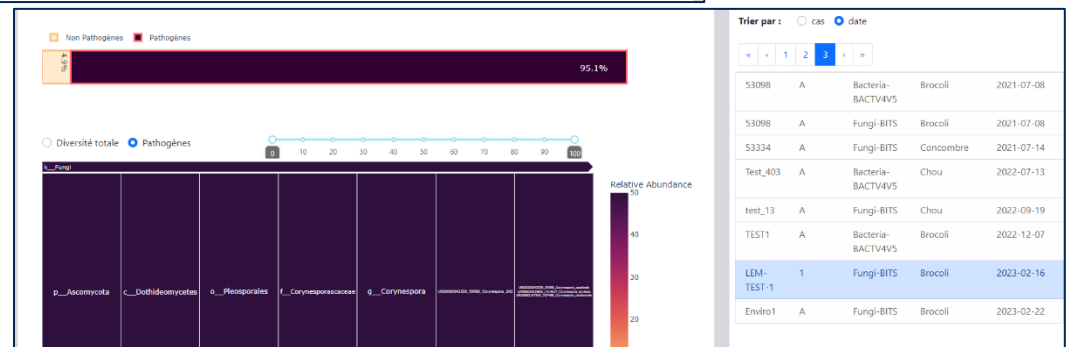


Figure 2. Accueil de la plateforme PhytoSHD

Figure 3. Menu visualisation de la plateforme PhytoSHD



Impacts et retombées du projet

Ce projet avait pour objectif d'évaluer le potentiel des nouvelles approches de séquençage à haut débit pour l'identification des organismes pathogènes affectant les plantes. Nous avons réussi à démontrer que ces méthodes moléculaires innovantes peuvent considérablement renforcer les capacités d'identification d'un laboratoire de diagnostic. Ainsi, les phytopathologistes disposeront de nouveaux outils pour approfondir leur compréhension des diagnostics, réduisant ainsi leur dépendance à l'égard des

techniques conventionnelles, notamment microscopiques, dans l'établissement de leurs conclusions. Les perspectives d'application de PhytoSHD, la plateforme conçue pour le traitement et la visualisation des résultats de séquençage à haut débit, sont prometteuses. Cette plateforme a été créée pour évoluer facilement et intégrer de nouveaux processus d'analyse ainsi que de nouvelles bases de données de référence spécifiques. Elle n'est pas restreinte à une seule technologie de séquençage, ce qui permettra de s'adapter aux futurs besoins du laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection du MAPAQ.

Partenaire financier



Partenaires de réalisation



Équipe de réalisation :

Richard Hogue, IRDA
Thomas Jeanne, IRDA
Arnaud Droit, CRCHUL
Émeric Texeraud, CRCHUL
Antoine Dionne, MAPAQ
Tanya Copley, CEROM
Wen Chen, AAC

Début et fin du projet

02/2019 au 12/2023

Pour information

richard.hogue@irda.qc.ca
thomas.jeanne@irda.qc.ca