



## Développement d'une approche combinée RMN/LC-MS en métabolomique : application à l'identification de biomarqueurs du virus de la Sharka chez les pêcheurs

**Mots clés :** chimie environnementale, LC-MS, RMN, métabolomique

### Résumé :

La Sharka est une maladie virale des *Prunus*, causée par l'agent *Plum pox virus* (PPV). Elle s'est répandue dans presque tout le monde et provoque la déformation des fruits, jusqu'à les rendre impropres à la commercialisation et la consommation. La transmission se fait, au verger *via* des pucerons vecteurs, et par l'Homme, par le biais de plants ou greffons contaminés. C'est une problématique très importante au niveau régional. En 2018, 110 Ha de pêcheurs contaminés par la Sharka ont été arrachés dans les Pyrénées-Orientales, représentant une perte de 3300 tonnes de pêches. A l'heure actuelle, aucun moyen de lutte n'existe contre ce virus, seules des méthodes prophylactiques peuvent être employées, comme l'utilisation de plants sains, la surveillance au verger ou encore l'utilisation de variétés résistantes.

**Deux méthodes officielles sont publiées par l'ANSES pour détecter le virus de la Sharka après prélèvement sur arbre suspecté de développer la maladie.** Une technique ELISA (MOA021) en première intention, et en cas de doute ou de limite de détection trop faible, une méthode par amplification génétique (RT-PCR en temps réel, MA043). Ces méthodes utilisées permettent de valider **la présence du virus dans des arbres ou des parties d'arbre présentant des signes visuels de la maladie. Cependant, ces méthodes ne permettent pas de discriminer des arbres asymptomatiques sains ou contaminés.**

Ce constat nous a poussé à travailler sur le développement d'une autre méthode de détection du virus. **Il s'agit, non pas, de détecter la présence du virus directement mais de mettre en évidence une réponse du végétal à la contamination virale par approche métabolomique.** Détecter le virus de la Sharka de façon précoce en étudiant la réponse systémique de la plante permettrait d'éliminer les arbres contaminés le plus tôt possible et ainsi éviter la transmission *via* les pucerons.

**Le but de ce projet est donc de développer un workflow métabolomique en combinant les plateformes RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) et LC-MS (Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse) dans le but d'aider à l'identification de composés discriminants.** La RMN et la LC-MS sont 2 techniques complémentaires. En effet, bien que la RMN soit une technique moins sensible que la LC-MS, elle peut permettre la détection de composés qui ne seraient pas détectés en LC-MS (non ionisés ou non retenus sur la colonne chromatographique). En contrepartie, la LC-MS permettra de détecter des composés présents dans les échantillons à très faibles concentrations (en dessous de la limite de détection obtenue en RMN). Egalement, la RMN facilitera l'étape de déréplication réalisée en LC-MS en corrélant les signaux *mz* (obtenus en LC-MS) et les déplacements chimiques ( $\delta$ , RMN / information sur la structure des composés) afin d'identifier les composés marqueurs de la maladie.



## **PROPOSITION DE STAGE DE MASTER 2 (2021)**

### Cadre du projet :

**Le stage de M2 se déroulera de début février 2021 à fin juillet 2021 (6 mois).** Il sera rémunéré.

Le stagiaire viendra en soutien à 2 doctorants impliqués dans le projet.

Le projet de M2 sera divisé en deux axes principaux :

**Axe 1)** L'extraction d'échantillons (feuilles de pêchers) et l'analyse de ces extraits par LC-MS et RMN

**Axe 2)** Traitement de données métabolomique de l'ensemble des données (couplage RMN + LC-MS)

### Compétences :

Connaissances en chimie analytique (RMN, LC-MS). Des compétences dans l'utilisation d'outils chimométriques (PCA, PLSDA, MANOVA) seraient appréciables.

### Contexte :

Ce projet de recherche est mené dans l'équipe "chimie" du CRIOBE au sein de l'université de Perpignan (UPVD). Les analyses chimiques seront réalisées sur la plateforme Bio2mar.

### Contact :

Les étudiants intéressés par cette proposition de stage pourront me contacter par mail, et nous fixerons un rendez-vous pour discuter du sujet.

○ Marie-Virginie Salvia, [marievirginie.salvia@univ-perp.fr](mailto:marievirginie.salvia@univ-perp.fr), 04 30 19 23 09