



# Laboratoire de Virologie et de Biologie Moléculaire

## Offre de prestation - volet 1

### Liste des analyses et tarifs 2017

L'offre de prestation du laboratoire de virologie et de biologie moléculaire (« LVBM ») du centre technique interprofessionnel des fruits et légumes (Ctifl) comprend la liste des analyses réalisées au laboratoire et leur tarification (volet 1) et les recommandations auprès des demandeurs pour l'échantillonnage et l'envoi des échantillons (volet 2). Les prestations proposées s'appliquent dans le cadre des conditions contractuelles de vente du LVBM.

#### Résumé des principales prestations

#### Diagnostic sanitaire

*Bilan sanitaire de cultivars fruitiers, Inscription listes certification, inscription catalogue FR/UE, export, ...*

> Indexage biologique, Tests sérologiques, Tests moléculaires p4

Prunus	184€
Malus, Pyrus, Cydonia	275€
Castanea	114€
Indexage rapide Prunus / Malus	53€



#### Thermothérapie

*Régénération de cultivars fruitiers virosés en 3 à 4 ans : Pêcher, Cerisier, Abricotier, Amandier, Prunier, Pommier, Poirier, Cognassier, Châtaignier, Framboisier*

p8

Traitement thermothérapie, le cultivar 2 435 €

#### Détection virus, viroïdes, phytoplasmes

*Recherche spécifique d'un ou plusieurs pathogènes réglementés ou de qualité.*

> Tests sérologiques et moléculaires spécifiques p5 - 6



Test ELISA 1 virus	9 € l'échantillon + 36€ prise en charge du lot
Détection du Plum Pox Virus (PPV) selon méthode officielle, sous accréditation	9 € l'échantillon + 46€ prise en charge du lot
Test PCR 1 virus ou famille de virus	31 € l'échantillon + 46€ prise en charge du lot
Test PCR Phytoplasmes des fruitiers selon méthode officielle, sous accréditation	67 € l'échantillon + 46€ prise en charge du lot

#### Identification variétale

*Pêcher, Cerisier, Abricotier, Prunier, Pommier, Châtaignier, Noyer*

> Génotypage de cultivars fruitiers p7

Le test 46 € l'échantillon + 46€ prise en charge du lot

#### Détermination compatibilité pollinique

*Cerisier*

> Détermination d'allèles de compatibilité, complément séquençage si nécessaire (cas allèle S4') – p7

Le test 46 € l'échantillon + 46€ prise en charge du lot  
30€ supplémentaire si séquençage

Les maladies de dégénérescence sont des maladies insidieuses dont l'expression peut être souvent liée à la variété ou au cultivar. Ces maladies peuvent être associées à une réduction de vigueur, une modification de la coloration des fruits, un drageonnement excessif, une chute des bourgeons à fruits, une prolifération anarchique des rameaux, etc... Associées à des virus, viroïdes, phytoplasmes ou autres agents infectieux, leur diagnostic par une simple observation en verger est souvent difficile et elles peuvent être aisément confondues avec des problèmes purement agronomiques. Leur mise en évidence et leur caractérisation font appel à différentes techniques dites biologiques (indexage sur hôtes ligneux ou herbacés sensibles en serre, en pépinière), sérologiques (test ELISA) ou moléculaires (hybridation, amplification génique PCR,...).

Le LVBM du Ctif propose dans le cadre de ses prestations ce contrôle sanitaire et si nécessaire la régénération des cultivars fruitiers, à la demande de tout professionnel ou organisme désireux de disposer d'un matériel sain : pieds-mères producteurs de semences, boutures, marcottes, greffons, introductions récentes ou anciennes variétés.

### DIAGNOSTIC SANITAIRE

- ↳ Le diagnostic partiel consiste en un indexage biologique réalisé en serre complété par des tests au laboratoire pour la détection de certains virus non mis en évidence en serre. Cet examen peut être réalisé toute l'année sur une durée de 4 à 6 mois à partir de la date d'indexage. Il permet de détecter la majorité des affections connues sur fruits à noyaux ou fruits à pépins. Par sa polyvalence, il permet aussi un diagnostic de maladies rares ou dans certains cas de maladies inconnues, ou d'agents pathogènes en mélange (cas d'infections mixtes).
- ↳ Le diagnostic complet, consiste en un examen partiel complété par un indexage biologique en pépinière. L'indexage en pépinière est réalisé annuellement en septembre. Les résultats complets sont disponibles au bout de 3 ans. Ce complément de l'examen partiel en serre permet de mettre en évidence certaines affections rares se manifestant uniquement sur fruits ou bois. Il permet également de mettre en évidence la présence d'agents pathogènes de type viral mais dont la caractérisation n'est pas réalisée, ou d'agents pathogènes en mélange (cas d'infections mixtes).
- ↳ L'indexage rapide consiste en un indexage biologique réalisé en serre pour la détection du *Plum Pox virus* sur le matériel *Prunus* sur une durée de 2 mois, de l'*Apple stem pitting virus*, l'*Apple chlorotic leaf spot virus* et du *Pear vein yellows* sur le matériel *Malus* ou *Pyrus* sur une durée de 4 à 5 mois. Cet examen peut être réalisé toute l'année.

Les différents diagnostics sanitaires listés à partir de la page 4 sont présentés en fonction de l'espèce végétale visée : matériel fruitier à noyaux ou à pépins.

### ANALYSES AU LABORATOIRE

Ces analyses peuvent être pratiquées tout au long de l'année.

- ↳ Le test sérologique ELISA est utilisé pour détecter spécifiquement certains virus épidémiques bien identifiés, dont les anticorps sont commercialisés. Réalisé à partir de matériel végétal frais (feuilles, semences, jeunes plants), il permet d'évaluer de manière rapide l'étendue d'une épidémie pour un pathogène donné (ex : *Plum pox virus*, agent responsable de la Sharka).
- ↳ Les tests moléculaires, sont pratiqués pour la détection spécifique de pathogènes ou groupes de pathogènes identifiés. Ils permettent un diagnostic rapide et fiable à partir de rameaux greffons pour les maladies à phytoplasme (Enroulement chlorotique de l'abricotier, Dépérissement du poirier, Prolifération du pommier,...) ou à partir de feuilles pour la détection de virus et viroïdes (ex : Mosaïque latente du pêcher).

### THERMOTHERAPIE

La guérison d'un cultivar malade est réalisée par un traitement par la chaleur en enceinte régulée, la thermothérapie. Ce traitement est efficace dans la plupart des cas et permet au propriétaire d'une variété de disposer en peu de temps d'un matériel sain et identique phénologiquement au cultivar initial malade. Le matériel virosé est pris en charge par le laboratoire sous forme de greffons ou de plants racinés en container. Les plants à traiter sont placés dans une enceinte régulée pour un traitement de deux mois minimum à la chaleur (35-36°C). A l'issue de ce traitement des jeunes plants sont obtenus par micro-greffage des apex sur porte-greffes sains. Les jeunes plants sont placés en élevage pendant 6 mois à 1 an afin de permettre leur développement et de confirmer l'assainissement. Une fois l'état sanitaire confirmé, une pré-multiplication est réalisée par greffage pour implantation en verger.

Le matériel régénéré (quelques rameaux greffons issus de plants implantés en verger) est transmis au demandeur dès que disponible, autour de 3 ans après fourniture du matériel de départ. En cas d'échec pour divers motifs, le traitement peut être repris une nouvelle fois sans majoration des frais. Toutefois le Ctif se réserve le droit d'abandonner les traitements en cours.

**CALENDRIER ANNUEL DE REALISATION DES ANALYSES**

**Indexage biologique serre *Prunus*, pépins, châtaignier et indexages rapides : toute l'année**

Indexage biologique pour attestation : **avant juin**

Jan	fév	mars	avril	mai	juin	juil	août	sept	oct	nov	déc
-----	-----	------	-------	-----	------	------	------	------	-----	-----	-----

**Tests sérologiques** sur feuilles – dont PPV : de avril à novembre

**Tests moléculaires** sur feuilles, rameaux – dont Phytoplasmes : **toute l'année**

**NB : Analyses pour dépôts dossiers CTPS, OCVV (émission d'attestations) -> transmettre les échantillons avant le mois de juin de l'année.**

**Depuis 2015 : Analyses sanitaires sur cultivar fruitier destiné à une mise en certification (pré-repérage) :**

- Pré-repérage à réaliser l'année N pour une mise en certification l'année N+1
- Facturation directe par le service sélection conservatrice du Ctifl (A. Bechti [bechti@ctifl.fr](mailto:bechti@ctifl.fr)).

**PRISE EN CHARGE SELON LE TYPE DE CONTRÔLE SANITAIRE VISE**

**Diagnostic sanitaire /  
Recherche spécifique  
virus, viroïde,  
phytoplasme**

*Selon demande ou  
symptomatologie observée :*  
Indexage biologique / tests  
laboratoire spécifiques

**Inscription catalogue FR, UE  
Dossier OCVV**

Diagnostic sanitaire partiel :  
indexage biologique / tests  
laboratoire spécifiques  
*Selon liste des pathogènes à  
contrôler.*

*Émission « attestation  
absence de pathogène »  
possible par cultivar sur  
demande.*

**Inscription liste certification FR**

Prérepérage

Diagnostic sanitaire partiel :  
indexage biologique serre / tests  
laboratoire spécifiques



Statut « en cours de certification »

Diagnostic sanitaire partiel :  
indexage biologique serre / tests  
laboratoire spécifiques



Statut « certifié »

Diagnostic sanitaire complet :  
indexage biologique serre +  
pépinière 3 ans / tests laboratoire  
spécifiques



**Prise en charge et facturation :**  
**Laboratoire de Virologie et Biologie Moléculaire**  
Y. Brans [brans@ctifl.fr](mailto:brans@ctifl.fr) ; [lvbm@ctifl.fr](mailto:lvbm@ctifl.fr)



**Prise en charge et facturation :**  
**Sélection Conservatrice**  
A. Bechti [bechti@ctifl.fr](mailto:bechti@ctifl.fr)

## DIAGNOSTIC SANITAIRE DE MATERIELS FRUITIERS

Nature de la prestation	Matériel végétal	Principales maladies recherchées	Méthode utilisée*	Tarif HT	Délais de transmission du rapport d'analyses
				Le test :	
<u>Diagnostic partiel :</u> <b>Prunus</b> Abricotier, Amandier, Cerisier, Pêcher, Prunier	Rameaux greffons, 4 rameaux / arbre	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sharka (<i>Plum Pox Virus</i> - PPV)</li> <li>• Mosaïque latente du pêcher (<i>Peach latent mosaic viroid</i> - PLMVd)</li> <li>• Court-noué (Nepovirus : SLRV, CLRV, ...)</li> <li>• Maladies des taches annulaires (Ilarvirus : PDV, PNRSV,...)</li> <li>• Fausse Sharka (ACLSV,...)</li> <li>• Enroulement chlorotique de l'abricotier (European stone fruit yellows ESFY).</li> </ul> <p style="text-align: center;"><i>Liste disponible sur demande</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Indexage biologique</b> sur semis de pêcher GF305 en serre.</li> <li>• <b>Tests sérologiques</b></li> <li>• <b>Tests moléculaires</b> hybridation (pêcher)</li> </ul>	<b>184 €</b>	4 à 5 mois
<u>Diagnostic partiel :</u> <b>Malus, Pyrus, Cydonia</b> Pommier, Poirier, Cognassier, Nashi	Rameaux greffons, 4 rameaux / arbre	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maladie du bois rayé (<i>Apple stem pitting virus</i> - ASPV)</li> <li>• Maladie du bois strié (<i>Apple stem grooving virus</i> - ASGV)</li> <li>• Taches chlorotiques (<i>Apple chlorotic leaf spot virus</i> - ACLSV)</li> <li>• Jaunisse des nervures (Pear vein yellows - ASPV)</li> <li>• Maladie du bois souple (Rubbery wood - ARW)</li> <li>• Mosaïque du pommier (ApMV)</li> </ul> <p style="text-align: center;"><i>Liste disponible sur demande</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Indexage biologique</b> sur 3 indicateurs spécifiques en serre :               <ul style="list-style-type: none"> <li>– <i>Pyronia veitchii</i></li> <li>– <i>Virginia Crab</i></li> <li>– Merisier</li> </ul> </li> </ul>	<b>275 €</b>	5 à 6 mois
<u>Diagnostic complet :</u> <b>Prunus, Malus, Pyrus, Cydonia</b>	Rameaux greffons, 9 à 10 rameaux / arbre	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Cf. diagnostic partiel +</b></li> <li>• Autres viroses spécifiques à expression lente,</li> <li>• Dépérissements associés à des virus ou phytoplasmes,</li> <li>• Chancre sur écorces,</li> <li>• Nécroses et déformations sur fruits et feuilles,</li> <li>• Viroses latentes.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><i>Liste disponible sur demande</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Examen partiel +</li> <li>• Indexage biologique sur un minimum de 2 indicateurs spécifiques en pépinière.</li> </ul>	<b>184 €</b> ( <i>Prunus</i> ) ou <b>275€</b> ( <i>pépins</i> ) + <b>297 €</b> <u>Tarif indicatif.</u> <u>Nous contacter</u>	Résultats du diagnostic partiel : 4 à 5 mois Résultats du diagnostic complet : 3 ans
<u>Indexage rapide :</u> <b>Prunus</b> Abricotier, Amandier, Pêcher, Prunier  <b>Malus, Pyrus, Cydonia</b> Pommier, Poirier, Cognassier, Nashi	Rameaux greffons, 3 rameaux / arbre, 2 arbres par test.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sharka (<i>Plum Pox Virus</i> - PPV)</li> <li>• Maladie du bois rayé (<i>Apple stem pitting virus</i> - ASPV)</li> <li>• Taches chlorotiques (<i>Apple chlorotic leaf spot virus</i> - ACLSV)</li> <li>• Jaunisse des nervures du poirier (Pear vein yellows - ASPV)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Indexage biologique</b> sur semis de pêcher GF305 en serre.</li> <li>• <b>Indexage biologique</b> indicateur spécifique <i>Pyronia veitchii</i> en serre.</li> </ul>	<b>53 €</b>	2 mois ( <i>Prunus</i> )  4 à 5 mois ( <i>Malus / Pyrus, Cydonia</i> )
<u>Indexage Châtaignier</u> <b>Castanea</b>	Rameaux greffons, 3 rameaux / arbre	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mosaïque du châtaignier (<i>Chestnut mosaic</i> - ChMV)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Indexage biologique sur Maraval CA74 en serre.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><i>NB : analyses réalisées à partir du mois d'avril.</i></p>	<b>114 €</b>	4 mois

\*Indexage biologique en serre et pépinière réalisés selon les recommandations de *l'International working group on fruit tree viruses*, Jelkmann et al., Acta Hort.,2003. 657: 575-596.

## TESTS SEROLOGIQUES

Pêcher, Cerisier, Abricotier, Amandier, Prunier, Noyer, Framboisier

Matériel végétal : feuilles

Nature de la prestation	Principales maladies recherchées	Méthode utilisée	Tarif HT	Délais de transmission du rapport d'analyses
<p><u>Test sérologique</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Virus divers</li> </ul> <p><u>Liste des virus testés : nous contacter</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Prunus necrotic ringspot virus</i> (PNRSV)</li> <li><i>Prune dwarf virus</i> (PDV)</li> <li><i>Cherry leaf roll virus</i> (CLRV)</li> <li><i>Raspberry bushy dwarf virus</i> (RBDV)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prise en charge des échantillons</li> <li>Préparation des échantillons</li> <li>Test ELISA</li> </ul>	Prise en charge par lot : <b>36 €</b>  Et Le test dans un lot : <b>9 €</b>	3 semaines
<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Plum pox virus</i> (PPV)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Plum pox virus</i> (PPV)</li> </ul> <p><a href="#">Selon méthode MA021 version 2 (1)</a></p> <p><b>Accréditation Cofrac N°1-5886</b>            Portée disponible sur <a href="http://www.cofrac.fr">www.cofrac.fr</a></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prise en charge des échantillons</li> <li>Préparation des échantillons</li> <li>Test ELISA</li> </ul>	Prise en charge par lot : <b>46 €</b>  Et Le test dans un lot : <b>9 €</b>	3 semaines

<sup>(1)</sup> Méthode officielle publiée par le Ministère de l'agriculture

## TESTS MOLECULAIRES – DETECTION DE VIRUS, VIROIDES, PHYTOPLASMES

Pêcher, Cerisier, Abricotier, Amandier, Prunier, Pommier, Poirier, Cognassier  
 Matériel végétal : rameaux greffons (phytoplasmes) ou feuilles (virus et viroïdes)

Nature de la prestation	Principales maladies recherchées	Méthode utilisée	Tarif HT	Délais de transmission du rapport d'analyses
Test moléculaires : <ul style="list-style-type: none"> <li>Phytoplasmes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Enroulement chlorotique de l'abricotier</li> <li>Dépérissement du poirier</li> <li>Prolifération du pommier</li> </ul> <p><u><a href="#">Selon méthode MOA004 version 1b (2) et références internes.</a></u></p> <p><u><a href="#">Accréditation Cofrac N°1-5886</a></u>  <u>Portée disponible sur <a href="http://www.cofrac.fr">www.cofrac.fr</a></u></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prise en charge des échantillons</li> <li>Préparation des échantillons</li> <li>Test PCR</li> </ul>	Prise en charge par lot : <b>46 €</b> Et Le test dans un lot : <b>67€</b>	1 mois
<ul style="list-style-type: none"> <li>Virus divers</li> </ul> <p><u><a href="#">Liste des virus testés : nous contacter</a></u></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Plum pox virus</i> (PPV - Sharka)</li> <li>Test moléculaire polyvalent (PDO) : détection des virus des genres <i>Trichovirus</i>, <i>Capillovirus</i>, <i>Foveavirus</i> :</li> <li><i>Apple chlorotic leaf spot virus</i> (ACLSV)</li> <li><i>Apple stem pitting virus</i> (ASPV)</li> <li><i>Apple stem grooving virus</i> (ASGV)</li> <li>Virus latents du cerisier</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prise en charge des échantillons</li> <li>Préparation des échantillons</li> <li>Test PCR</li> </ul>	Prise en charge par lot : <b>46 €</b> Et Le test dans un lot : <b>31€</b>	1 mois
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation moléculaire (viroïdes)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Viroïde de la mosaïque latente du pêcher (PLMVd)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prise en charge des échantillons</li> <li>Préparation des échantillons</li> <li>Test d'hybridation moléculaire</li> </ul>	Prise en charge par lot : <b>46 €</b> Et Le test dans un lot : <b>11€</b>	3 semaines

<sup>(2)</sup> Méthode officielle publiée par le Ministère de l'agriculture

## TESTS MOLECULAIRES – IDENTIFICATION VARIETALE

Pêcher, Cerisier, Abricotier, Prunier, Pommier, Châtaignier, Noyer

Matériel végétal : feuilles, matériel à œil dormant

Nature de la prestation	Méthode utilisée	Tarif HT	Délais de transmission du rapport d'analyses
<p><u>Test moléculaires :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Identification variétale de matériel fruitier par marqueurs moléculaires microsatellites (SSR)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prise en charge des échantillons</li> <li>• Préparation des échantillons</li> <li>• Amplification PCR de l'ADN extrait</li> <li>• Génotypage par électrophorèse capillaire (type ABI)</li> <li>• Diagnostic à partir de marqueurs microsatellites discriminants. Comparaison deux à deux des profils alléliques avec interface informatique</li> </ul>	<p>Prise en charge par lot : <b>46 €</b></p> <p>Et Le test dans un lot : <b>46€</b></p>	<p>1,5 mois</p>

## TESTS MOLECULAIRES DETERMINATION D'ALLELES DE COMPATIBILITE POLLINIQUE

Cerisier

Matériel végétal : feuilles

Nature de la prestation	Méthode utilisée	Tarif HT	Délais de transmission du rapport d'analyses
<p><u>Test moléculaires :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Détermination d'allèles de compatibilité pollinique sur matériel fruitier.</li> </ul> <p>Espèces prises en charge : - <b>Cerisier</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prise en charge des échantillons</li> <li>• Préparation des échantillons</li> <li>• Amplification PCR de l'ADN extrait</li> <li>• Génotypage par électrophorèse capillaire (type ABI)</li> <li>• Détermination d'allèles de compatibilité</li> <li>• Cas particulier de l'allèle S4 : distinction des allèles S4/S4' par séquençage</li> </ul>	<p>Prise en charge par lot : <b>46 €</b></p> <p>Et Le test dans un lot : <b>46€</b></p> <p>Si allèle S4 identifié, le séquençage par échantillon : <b>30€</b></p>	<p>1,5 mois</p> <p><i>Délais à confirmer selon le nombre d'échantillons à traiter</i></p>

## REGENERATION PAR THERMOTHERAPIE

Pêcher, Cerisier, Abricotier, Amandier, Prunier, Pommier, Poirier, Cognassier, Châtaignier, Framboisier

Nature de la prestation	Principaux pathogènes traités	Tarif HT	Délais de fourniture de matériel assaini
<p><u>Thermothérapie :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Greffage et indexage partiel sur indicateurs spécifiques en serre</li> <li>• Traitement par thermothérapie</li> <li>• Régénération par micro-greffage</li> <li>• Contrôle sanitaire par indexage sur indicateurs biologiques en serre et/ou tests laboratoires</li> <li>• Fourniture de greffons (20 à 50 minimum)</li> </ul>	<p><u>Tous agents pathogènes de type :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Virus</i> : <i>Prunus necrotic ringspot virus</i> (PNRSV), <i>Prune dwarf virus</i> (PDV), <i>Apple stem pitting virus</i> (ASPV), <i>Apple stem grooving Virus</i> (ASGV), <i>Apple chlorotic leaf spot virus</i> (ACLSV), ...</li> <li>• <i>Phytoplasmes</i> : Enroulement chlorotique de l'abricotier, Prolifération du pommier, Pear decline, ...</li> <li>• <i>Viroïdes</i> : Mosaïque latente du pêcher (PLMVd), Maladie de l'épiderme balafré de la pomme (<i>Apple scar skin viroid</i>), ...</li> </ul>	<p>Le cultivar :</p> <p><b>2 435 €</b></p> <p><i>Possibilité de facturation étalée sur 3 ans.</i></p>	<p>3 ans</p>