

Sans secrets

Une équipe de l'entreprise Alellyx décrit avec précision un virus lié à la mort subite des agrumes

CARLOS FIORAVANTI

Publié en mars 2005

Le premier article scientifique signé par l'équipe de chercheurs de l'entreprise privée de biotechnologie Alellyx Applied Genomics, fondée à partir du Programme Génome de la FAPESP, vient d'être publié dans l'édition du mois de mars de la revue *Journal of Virology*. Cet article décrit les caractéristiques génétiques et moléculaires d'un virus que l'équipe d'Alellyx considère comme responsable probable (ou du moins l'un des responsables) de la mort subite des agrumes, maladie qui atteint déjà près de 2 millions d'orangers dans les états de São Paulo et de Minas Gerais. Selon cette étude, la corrélation établie entre le *Citrus sudden death-associated virus* (CSDaV ou virus lié à la mort subite des agrumes) et le mal capable de tuer un oranger ou un mandarinier en quelques mois s'élève à 99,7%.

Toutefois on ne peut pas affirmer qu'il soit réellement responsable de la mort de ces arbres. Il faut encore démontrer qu'il existe une relation claire de cause à effet en utilisant le postulat de Koch, qui consiste à inoculer le probable agent qui provoque la maladie dans des organismes sains, dans ce cas précis des orangers, afin de vérifier s'ils développent la maladie. C'est un travail lent, dans lequel il faut céder aux caprices du virus dont la période d'incubation peut être de trois ans. Ce n'est qu'à ce moment là qu'apparaîtront les premiers symptômes se traduisant par un ternissement des feuilles et l'obturation des vaisseaux qui conduisent la sève de la cime vers les racines, conduisant à la mort de ces dernières et ensuite de l'arbre.

Les chercheurs d'Alellyx ne possèdent pas encore tous les éléments définitifs et escomptés, mais ils se réjouissent quand même de la publication de cet article qui marque une étape importante de l'histoire de l'entreprise. Cette étude de dix pages, publiée dans une revue internationale de virologie de premier plan *Journal of Virology*, indique qu'il est possible de concilier la mise au point de produits et la recherche de pointe, comme le prétendent les cinq fondateurs de l'entreprise, tous spécialistes en biologie moléculaire et en bioinformatique et qui ont adopté la même rigueur scientifique utilisée dans leurs universités respectives. "Alellyx fait partie d'un contexte d'initiatives fructueuses en génomique", déclare José Fernando Perez, directeur scientifique de la FAPESP. "Le Programme Génome FAPESP a toujours eu pour objectif la formation de ressources humaines hautement qualifiées tant pour la propre recherche que pour la création d'entreprises."

L'article sur le virus a été rédigé par des professionnels de grande valeur, dans une des rares entreprises brésiliennes travaillant sur la génomique des plantes. Parmi les 26 personnes qui ont signé cette étude, se trouvent deux professeurs universitaires, Fernando Reinach, président d'Alellyx et directeur exécutif de l'entreprise Votorantim Novos Negócios, éloigné temporairement de l'Université de São Paulo (USP) et Jésus Aparecido Ferro qui s'est éloigné pour quelques temps des laboratoires de l'Université d'État Pauliste (Unesp) à Jaboticabal pour se consacrer à l'entreprise dont il est associé. Paulo Arruda travaille à l'Université d'État de Campinas (Unicamp), mais il y est moins actif qu'avant, alors qu'Ana Cláudia Rasera da Silva, qui



Fruits des tropiques:
il y a 200 millions d'orangers
dans les états de São Paulo
et de Minas Gerais

devait élever ses deux filles Amanda et Mariana âgées de 5 et 2 ans, a dû choisir et a décidé de quitter l'USP. "Je n'avais plus le temps de tout faire correctement", déclare-t-elle.

L'équipe qui a travaillé sur ce virus pendant deux ans et demi est également constituée de dix docteurs en biologie, de quatre chercheurs ayant leur maîtrise et de 12 étudiants universitaires en biologie. "Ce travail a été entièrement financé par le secteur privé, mais il n'a été rendu possible que grâce à l'université publique qui a formé ce personnel", déclare Reinach. L'équipe comprend également deux virologues qui possèdent une large expérience et qui ont travaillé en tant que consultants. Il s'agit de l'Israélien Moshé Bar-Joseph, qui travaille actuellement au sein de l'Organisation de la Recherche Agricole en Israël et d'Elliot Kitajima de l'École Supérieure d'Agronomie Luiz de Queiroz (Esalq) de l'USP, une des plus grandes autorités brésiliennes en matière de virologie des plantes.

Production limitée - Il est assez rare que des entreprises privées brésiliennes divulguent les résultats de leurs recherches dans des revues scientifiques. Généralement, les techniciens, les biologistes, les ingénieurs agricoles ou les vétérinaires qui travaillent au sein de ces entreprises ont le droit divulguer leurs découvertes dans des revues spécialisées. Toutefois on ne les encourage pas à le faire car s'agissant principalement de recherches concernant un produit qui sera vendu ou breveté, elles doivent dans un premier temps être tenues secrètes.

Les centres de recherches travaillant pour différentes entreprises enrichissent facilement les bases de données des publications scientifiques. C'est le cas du Fonds de Défense de la Culture des Agrumes (Fundecitrus), une association de producteurs d'agrumes et d'entreprises de traitement d'agrumes dont les spécialistes ont déjà publié 51 articles scientifiques (33 nationaux et 18 internationaux) ces cinq dernières années, seuls ou en collaboration avec d'autres centres de recherche. L'équipe du Centre de Technologie de la Canne

à Sucre (CTC) à Piracicaba, contrôlée par la Coopérative des Producteurs de Canne à Sucre et d'Alcool de l'État de São Paulo (Copersucar), a publié un article dans une revue internationale et a participé à six études publiées dans des revues brésiliennes durant ces trois dernières années.

L

es articles scientifiques signés par des chercheurs d'entreprises sont encore rares. Lors d'une recherche non exhaustive sur le PubMed, banque d'articles

contrôlée par les Instituts Nationaux de la Santé (NIH) nord-américains, on ne trouve qu'un seul article provenant d'une entreprise brésilienne, signé par l'équipe de l'entreprise *Natura Inovação e Tecnologia de Produtos* (Nature, Innovation et Technologie de Produits), outre celui d'Allelyx. Cet article qui a été publié l'année dernière dans la revue *Journal of Cosmetic Science*, présente une méthode alternative pour calculer les dommages causés aux cheveux par l'utilisation continue de brosses à cheveux. La situation est identique dans la banque de données du Scielo qui regroupe les meilleurs articles scientifiques publiés au Brésil. L'entreprise Vallée de l'état de Minas Gerais, qui fabrique des médicaments à usage vétérinaire, a publié deux articles dont l'un écrit en collaboration avec l'USP et l'Institut Pasteur de São Paulo. L'entreprise Biobrás, achetée en 2002 par l'entreprise danoise Novo Nordisk et qui est l'unique producteur brésilien d'insuline, a également publié deux travaux réalisés en collaboration avec d'autres groupes de recherche.

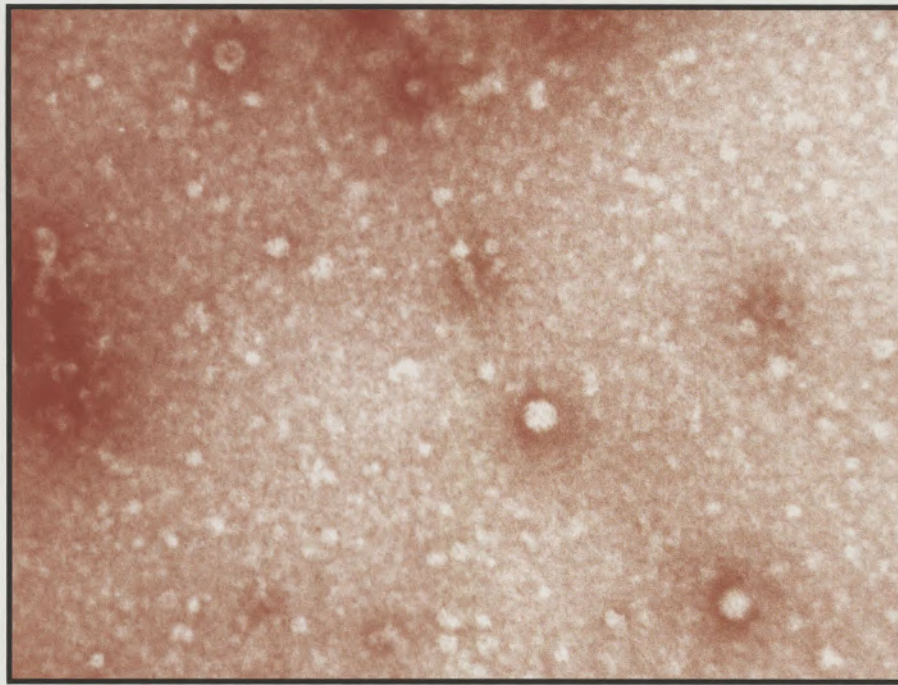
Brevets - La publication de cet article sur le virus est une étape de plus dans la stratégie élaborée par Reinach. Ce dernier avait déjà participé à la coordination du séquençement et à l'analyse de génomes de bactéries qui attaquent les plantes et parrainés par la FAPESP, avant d'obtenir près de 30 millions de réaux de l'entreprise Votorantim afin de créer

l'entreprise Allelyx en mars 2002. Dès le début, Reinach a exigé que les découvertes faites par son équipe débouchent tout d'abord sur des brevets, essentiels pour le développement de produits innovateurs et qu'ensuite ces résultats soient publiés afin de renforcer la crédibilité de l'entreprise auprès d'une communauté scientifique exigeante.

Les séquences du génome du virus ont fait l'objet de trois brevets concédés en septembre 2003 par le gouvernement nord-américain à Walter Maccheroni et Ana Claudia Rasera da Silva qui sont les deux principaux auteurs de l'article publié dans la revue *Journal of Virology*. Ces séquences de gènes ont permis d'identifier le virus CSDaV grâce à deux types de tests, un moléculaire et l'autre avec des anticorps, en utilisant également les molécules de revêtement du virus sur des plantes résistantes à la mort subite. "Comme ces découvertes sont protégées par des brevets, plus personne ne peut réaliser de tests diagnostics basés sur ces séquences d'ici vingt ans", déclare Reinach.

L'entreprise Allelyx réalise déjà des centaines de tests par jour, principalement pour contrôler la santé des arbres fruitiers des nouveaux vergers. "Nous offrons déjà nos services aux grands producteurs d'agrumes qui cultivent un quart du total des orangers de l'état de São Paulo", déclare Reinach. Ces tests de diagnostic, développés tout d'abord pour répondre aux besoins des chercheurs de l'entreprise, peuvent même indiquer l'endroit où la maladie pourrait apparaître car ils détectent également des signaux du virus CSDaV dans les insectes vecteurs, comme les variétés de pucerons *Aphis spiraeicola* et *Aphis gossypii*. C'est ainsi que ce type de test, développé actuellement par d'autres centres de recherche, peut compléter des mesures préventives comme l'élimination des plantes infectées avant que les autres ne soient contaminées.

Pour l'entreprise Allelyx, conquérir le marché de ce type de test afin de couvrir les investissements réalisés et qui s'élèvent actuellement à près de 3 millions de réaux est une tâche aussi ardue que la propre identification du virus. Il ne s'agit évidemment pas d'un produit qui sera utilisé à grande échelle dans les cultures. Pour les producteurs d'oranges qui luttent pour réduire leurs coûts



PHOTOGRAPHIE ELLIOT KITAHIMA/USP

Le virus CSDaV (*sphères plus grandes*)
gros 22.700 fois: jusqu'à présent,
responsable probable
de la mort subite des agrumes

de production et augmenter leurs prix de vente, il est parfois plus économique d'arracher les arbres que l'on suppose infectés que d'essayer de savoir s'ils sont réellement atteints par une maladie contre laquelle il n'y a pour l'instant aucun remède. Les diagnostics précoces de la mort subite sont toutefois cruciaux pour le secteur des agrumes qui cultive 200 millions d'orangers, emploie près de 400 mille personnes et dont les affaires s'élèvent à 4 milliards de dollars US, conformément à une étude réalisée l'année dernière par le programme d'Étude des Affaires du Système Agroindustriel (Pensa).

Mort lente - Certains concepts liés à la mort subite des agrumes ont changé depuis novembre 2002, quand l'équipe d'Allelyx a reçu les premiers échantillons de plantes contaminées et s'est mise à rechercher l'agent contaminateur. On a tout d'abord pensé qu'il s'agissait d'une mutation du virus de la *tristeza* qui attaque les agrumes, maladie qui a détruit 90% des orangers paulistes entre 1939 et 1949. Par la suite des différences sont apparues et l'équipe d'Allelyx a démontré que le virus CSDaV est un nouveau membre

de la variété *Marafivirus* appartenant à la famille des Tymoviridae, alors que le virus de la *tristeza* appartient à la famille des Closteroviridae. Le fait que les deux puissent agir ensemble n'est cependant pas écarté. On pensait également que cette maladie avancerait dans les vergers à raison de 60 kilomètres par an, comme cela s'était déjà produit en 2002 et 2003. En janvier 2004, la maladie avait atteint 1,5 millions d'arbres fruitiers dans 12 communes du sud du Triângulo Mineiro (état de Minas Gerais) et 436 mille dans 18 communes du nord, nord-ouest et centre de l'État de São Paulo. Mais cette maladie ne s'est pas propagée à la vitesse que l'on avait imaginé. "La mort subite est contenue dans la région nord de l'État de São Paulo", déclare Marcos Machado du Centre des Agrumes Sylvio Moreira à Cordeirópolis dans le centre de l'état, où sont également menées des recherches sur le vecteur et les manières de contrôler la maladie. "Il doit y avoir un élément environnemental très fort qui confine la maladie dans ces limites comme le sol, l'eau ou le climat." Dans une étude publiée dans la revue *Visão Agrícola*, Waldir Cintra de Jésus Junior et Rena-

to Beozzo Bossanezi de Fundecitrus, et Armando Bergamin Filho de l'USP, indiquent que la vitesse de propagation peut également être réduite ou accélérée en fonction de la concentration des vergers, l'éradication des plantes infectées, le contrôle des insectes vecteurs ou le transport de pousses contaminées.

On sait dès à présent comment contenir la maladie en greffant la variété d'orange que l'on souhaite cultiver sur une plante résistante, bien que les alternatives les plus efficaces exigent l'adoption de mesures complémentaires et plus onéreuses comme l'irrigation. Les attentions se tournent actuellement vers une autre maladie, la *greening* ou *huanglongbing* (HBL). Cette maladie, détectée en mars 2004, a déjà infecté près de 400 mille orangers dans 46 communes de la région centrale de l'état de São Paulo. Comme elle attaque la cime des arbres, le seul moyen de la contenir est d'éliminer les arbres affectés, comme cela se fait déjà pour le chancre citrique. Une nouvelle loi qui sera probablement approuvée dans quelques semaines permettra aux inspecteurs sanitaires du gouvernement d'arracher les arbres contaminés. •