

# Développement d'une plateforme de quantification de l'inoculum des pathogènes de sol de la pomme de terre

H. Van der Heyden<sup>1</sup>, S. Morissette<sup>2</sup>, Stéphane Martel<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Phytodata inc., <sup>2</sup>Groupe Pousse-Vert, <sup>3</sup>Agrinova

## Introduction

Les maladies de sol constituent une contrainte majeure à la production de pomme de terre au Québec et ailleurs. Parmi celles-ci, la dartoise, la verticilliose, la gale poudreuse et la rhizoctonie, respectivement causées par *Colletotrichum coccodes*, *Verticillium dahliae* et *V. alboartrum*, *Spongospora subteranea* et *Rhizoctonia solani* (AG3) sont des maladies prédominantes pour lesquelles il n'existe que très peu de moyens de contrôle. Ces agents pathogènes infectent principalement les tiges, stolons et tubercules et survivent dans les sols sous forme de spores, de mycélium sur les débris de cultures ou sous forme de microscélérotés pour une période de plus de 10 ans. Ainsi, malgré le recours à de longues rotations culturales le risque est toujours présent même après plusieurs années. Toutefois, dans un contexte de lutte intégrée, les décisions relative à la gestion des maladies de sol devraient être prises avant la plantation. Pour ce faire, il est donc primordial de connaître l'importance et l'abondance de l'inoculum de ces pathogènes avant que les plantons ne soient mis en terre. L'équipe de réalisation a démontré au cours des trois dernières années qu'il était possible de détecter et de quantifier des pathogènes de la pomme de terre comme *Helminthosporium solani* et *Spongospora subteranea* dans les sols destinés à cette production et qu'il existe une relation entre l'abondance de l'inoculum et l'expression des symptômes au champ.



Figure 1: Exemples de symptômes de gale poudreuse, rhizoctonie, dartoise et tache argentée.

## Objectifs

Ce projet vise à améliorer la prise de décision quant à la gestion des maladies de sol de la pomme de terre. Plus précisément, l'objectif principal consiste à développer un test prédictif permettant d'identifier et de quantifier les agents pathogènes de la pomme de terre dans les sols destinés à cette production.

Ce projet est réalisé en 3 phases de développement au cours desquelles 1) une méthode d'extraction d'ADN des pathogènes de sol a été développée; 2) des tests de détection moléculaire sensibles et spécifiques ont été élaborés et 3) la relation entre l'abondance de l'inoculum et l'expression des symptômes a également été explorée (tableau 1).

Tableau 1. Agents pathogènes associés aux phases de développement.

Phase 1 (2014-2015)	Phase 2 (2015-2017)	Phase 3 (2017-2019)
<i>Helminthosporium solani</i>	<i>Colletotrichum coccodes</i>	<i>Phytophthora erythroseptica</i>
<i>Spongospora subteranea</i>	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Streptomyces scabies</i>
	<i>Rhizoctonia solani</i> (AG3)	<i>Pratylenchus penetrans</i>

## Méthodes

Les étapes de développement incluent:

- L'isolation et le séquençage des agents pathogènes ciblés par l'étude;
- L'alignement des séquences d'ADN obtenues;
- La conception ou la validation de marqueurs moléculaires;
- L'évaluation *in vitro* de la spécificité et sensibilité des marqueurs;
- La validation au champ des marqueurs moléculaires;
- L'évaluation de la relation entre l'expression de la maladie et l'abondance de l'inoculum;
- Le développement d'un patron d'échantillonnage.

## Résultats

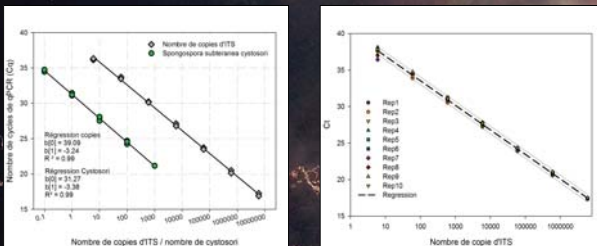


Figure 2: Exemple de superposition des courbes standards (en spores et en nombre de copies d'ITS) pour *S. subteranea* (gauche) et reproductibilité de l'essai pour des quantités de 6 à 67 copies d'ITS (droite).

## Résultats (suite)

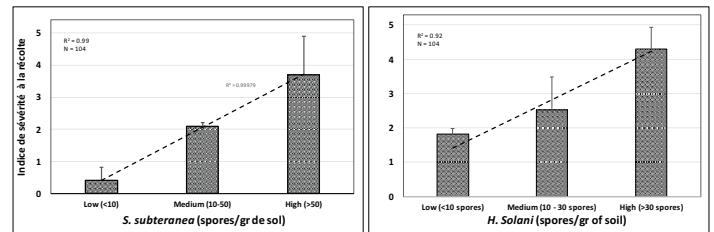


Figure 3: Relation entre l'abondance de l'inoculum de *S. subteranea* (gauche) et *H. solani* (droite) et l'indice de sévérité à la récolte. Les concentrations de spores ont été organisées en classes de risque afin d'en faciliter l'interprétation.

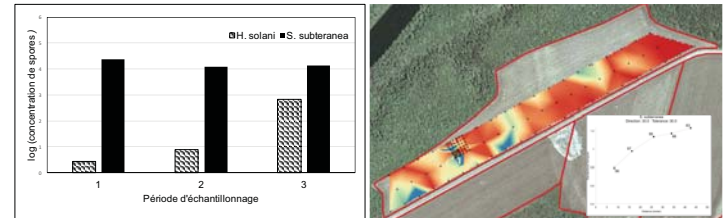


Figure 4: Distribution temporelle (gauche) et spatiale (droite) des concentrations de spores dans les sols échantillonnés en 2015 et 2016.

## Discussion

Le développement d'outils de détection moléculaire sensibles et spécifiques des maladies de sol combiné à une validation en conditions réelles de production peut constituer un outil d'aide à la décision concret permettant une réduction de l'importance des symptômes à la récolte. Jusqu'ici, des seuils de nuisibilité ont été développés ou sont en cours de validation pour les 5 agents pathogènes ciblés par les phases 1 et 2 de notre programme de recherche. Les tests moléculaires mis au point dans le cadre de ce projet sont spécifiques aux espèces ciblées et permettent une détection théorique de 6 copies du gène choisi et en moyenne 100 copies du gène à l'extraction. Les analyses spatiales préliminaires suggèrent une distance d'autocorrélation courte de près de 50 mètres, toutefois cette variation peut être contournée grâce au prélèvement d'échantillons composites recueillis selon un patron d'échantillonnage en "W" similaire à celui utilisé pour le prélèvement d'échantillons destinés aux analyses de fertilisation (données non-présentées). En ce qui concerne les périodes d'échantillonnage, nos résultats suggèrent que l'inoculum reste stable pour *S. subteranea* tandis qu'il augmente en fonction du stade de développement de la culture pour *H. solani*.

Tableau 2. Résultats d'analyses préliminaires réalisés pour des producteurs, permettant l'identification des risques.

no champ	<i>S. subteranea</i> (spores/g de sol)	<i>H. solani</i> (spores/g de sol)	<i>C. coccodes</i> (pg d'ADN/g de sol)	<i>R. Solani</i> (pg d'ADN/g de sol)	<i>V. Dahliae</i> (pg d'ADN/g de sol)
1	0.0	0.00	0.5	-	-
2	254.8	7.13	3.3	-	3.3
6	27.8	19.25	187.0	-	-
7	217.5	0.00	0.5	-	-
7	165.4	0	11.4	-	-
10	0.4	0.00	0.4	-	-
17	5.0	10.7	0.4	-	28.3
18	37.6	1.4	16.9	-	-
13-A	91.3	0.00	8.9	-	-
13-B	63.8	0.00	28.1	-	-
16-A	3.1	0.00	0.6	-	-
16-B	0.6	0.00	0.6	-	-

## Références

- Brierley, J.L., Hilton, A.J., Wale, S.J., Peters, J.C., Gladders, P., Bradshaw, N.J., Ritchie, F., Mackenzie, K., Lees, A.K. Factors affecting the development and control of black dot on potato tubers (2015) Plant Pathology, 64 (1), pp. 167-177.
- Brierley, J.L., Jennifer A. Stewart, Alison K. Lees, Quantifying potato pathogen DNA in soil, Applied Soil Ecology, Volume 41, Issue 2, February 2009, Pages 234-238
- van de Graaf, P., Lees, A.K., Cullen, D.W. et al. Detection and Quantification of *Spongospora subteranea* in Soil, Water and Plant Tissue Samples Using Real-Time PCR. European Journal of Plant Pathology *European Journal of Plant Pathology*, July 2003, Volume 109, Issue 6, pp 589-597.

## Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Thérèse Wallon et Mélanie Gobeil-Richard pour leur implication technique et leur contribution au développement des outils moléculaires. Nous remercions également Vicky Poirier, Stéphanie Claveau et Justin Tian pour leur aide technique. Ce projet est financé en partie par le CRSNG à travers son programme de recherche et développement appliquée, le MAPAQ à travers les programmes Fran-02 et Innov'act agroalimentaire. Le projet reçoit également un support financier des producteurs membres du Consortium Prisme pour les salaires de H. Van der Heyden, M. Gobeil et T. wallon tandis que Groupe Pousse-Vert contribue en partie au salaire de Mr. Samuel Morissette.