

Détection de *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* dans la semences et la laitue.

Danielle Morissette¹, Ph.D. et Vicky Toussaint², Ph.D.

PSIH 10-2-334

Durée : 05/2010 - 02/2012

FAITS SAILLANTS

Un marqueur moléculaire pour la détection de *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* a été testé. Il s'est avéré spécifique. Ce marqueur a été utilisé pour la détection dans des lots de semences, des plantules et des plants matures de laitues.

Un seuil de détection dans les semences est de 1 dans 30000 semences. Plusieurs lots de semences commerciales se sont avérés contaminés.

La détection de *Xanthomonas campestris* pv *vitians* est possible dans les feuilles de laitue, même s'il n'y a pas de symptômes apparents. Lorsque la semence est contaminée, il est possible de détecter la bactérie au stade cotylédon et au stade 2 feuilles.

Afin que les résultats obtenus aient des retombés concrètes pour l'industrie, une méthode de désinfection des semences doit être élaborée. Aussi, une analyse des plantules et des plants de champs devrait être complétée afin de développer une méthode de contrôle préventive de la maladie.

OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE

L'objectif principal de ce projet est de vérifier si l'origine de l'inoculum primaire de la tache bactérienne de la laitue est dans la semence en utilisant les outils de la biologie moléculaire. La biologie moléculaire offre la possibilité d'identifier et de détecter un organisme par son ADN à l'aide de marqueurs moléculaires. Tous les organismes vivants ont un ADN spécifique que l'on peut discriminer au genre, à l'espèce, au pathovar et même, dans certains cas, à l'individu. Les marqueurs moléculaires permettent une réponse précise et rapide.

Un marqueur moléculaire pour la détection de *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* dans la laitue existe (Barak, 2001). Sa spécificité a été vérifiée auprès de 38 *X. campestris* pv. *vitians*, 23 *Xanthomonas* spp., 2 *Pseudomonas* spp., 2 *Erwinia amylovora* et 34 inconnus incluant 30 isolats bactériens provenant de laitue. Une fois la spécificité démontrée, des semences apparemment saines ont été inoculées selon le protocole de Berg (2005). Un test de détection a été effectué pour une semence inoculée à un ratio de 1 :5000. Il faut donc faire six réplifications pour tester 30000 semences. Par la suite, des lots de semences ont été testés afin de vérifier si *X. campestris* pv. *vitians* est

¹ Phytodata inc.

² Centre de recherche et de développement en horticulture, Agriculture et Agroalimentaire Canada

présente. Également des expérimentations en serre ont été réalisées afin de déterminer la possibilité de détecter la bactérie dans les feuilles de laitue, malgré l'absence de symptôme. Ainsi, des semences saines et infectées ont été semées. Des tests de détection ont été effectués à différents stades de la plante, soit au cotylédon, à deux feuilles, à cinq semaines et à huit semaines.

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE ET SUIVI A DONNER

La spécificité du marqueur moléculaire B162 a été démontrée ce qui signifie qu'il y a une réponse positive uniquement lorsque la bactérie *X. campestris* pv. *vitians* est présente dans l'échantillon. De plus, une méthode d'extraction d'ADN efficace, rapide et peu coûteuse a été développée pour la détection dans la semence et la feuille de laitue.

Le seuil de détection dans les semences est de 1 dans 30000 semences, ce qui représente environ 45g de semences nues ou 600g de semences enrobées. Cinquante-huit lots de semences, 54 nues et 4 enrobées, ont été testés en utilisant le marqueur moléculaire B162. Bien que les différents traitements des semences (enrobage, coloration, fongicide) rendent plus ardu la détection de la bactérie, 17 lots se sont avérés infectés par *X. campestris* pv. *vitians*, soit 29% des lots de semences.

Lors des expérimentations en serre, il a été démontré que la détection de *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* est possible :

- 1) lorsque les semences sont contaminées, détection à partir des semences, aux stades cotylédons et deux feuilles;
- 2) lorsque la contamination a lieu au stade cotylédons, détection au stade deux feuilles;
- 3) lorsque la contamination a lieu au stade deux feuilles, détection à 5 semaines (possiblement avant).

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET SUIVI À DONNER

Savoir que les semences de laitue sont contaminées par *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* permet le développement d'une méthode de désinfection des semences. Grâce au test de détection, il est possible de s'assurer que la désinfection ait été efficace. Grâce à ce projet, il a été démontré que des lots de semences sont contaminées par ce pathogène. Pour l'instant, certains lots pourraient être rejetés par le producteur en attendant qu'une méthode de désinfection soit développée.

Xanthomonas campestris pv. *vitians* est une bactérie pathogène qui cause des pertes importantes uniquement lorsque les conditions sont favorables. Nous avons été à même de le constater en serre lors de cette étude. Cette bactérie peut être présente et ne jamais présenter de symptôme jusqu'à ce que les conditions deviennent favorables. La propagation de la maladie devient alors fulgurante. Sa détection dans les plantules et les jeunes plants de laitue ouvre la voie à des méthodes de contrôle préventif. De plus, avoir connaissance que des laitues sont contaminées dans le champ permet aux

producteurs de réagir plus rapidement lorsque les conditions favorables sont rencontrées et ainsi réduire les pertes reliées à la tache bactérienne.

Il est possible que les inocula primaires proviennent de plusieurs sources ou des sources différentes selon les saisons. Il serait alors nécessaire d'effectuer des tests de détection de manière préventive et systématique.

Le travail de recherche et de transfert technologique réalisé par l'équipe de Phytodata dans le cadre de ce projet, permettra d'offrir aux producteurs désireux de tester leurs semences de laitue, de réaliser ceux-ci par l'entremise du laboratoire de service de Phytodata. Celui-ci verra le jour au cours de la saison 2013.

POINT DE CONTACT

Nom du responsable du projet : Danielle Morissette

Tél. : 450-454-3992

Télécopieur : 450-454-5216

Courriel : info@prisme.ca

PARTENAIRES FINANCIERS

Ce projet a été réalisé grâce à une aide financière du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, dans le cadre du Programme de soutien à l'innovation horticole (PSIH).