



PCAA

Programme canadien d'adaptation agricole

Rapport final

Diversité temporelle des espèces de *Pythium spp.* et diagnostic différentiel en production de laitue en sol organique.

Projet no. 6481

Compagnie de Recherche Phytodata

Avril 2010 – avril 2012

Hervé Van der Heyden
Chargé projets

27 avril 2012

Le rapport final, transmis au CDAQ en version papier et Word, doit inclure :

- les biens livrables décrits à l'annexe C de la convention de contribution financière;*
- les pièces justificatives, numérotées et inscrites dans le document Plan de financement et conciliation des dépenses;*
- les copies des documents de diffusion produits faisant mention de la contribution du PCAA selon les règles de visibilité du programme.*

Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC) s'est engagé à travailler avec des partenaires de l'industrie. Les opinions exprimées dans le présent document sont celles du demandeur et ne sont pas nécessairement partagées par AAC et le CDAQ.

Table des matières

<u>OBJECTIFS</u>	4
1.1. OBJECTIF GÉNÉRAL	4
1.2. OBJECTIFS SPÉCIFIQUES	4
<u>2. RÉSULTATS ET ANALYSE</u>	4
2.1. MÉTHODE	4
2.2. RÉSULTATS OBTENUS	6
2.3. DISCUSSION	16
<u>3. CONCLUSIONS</u>	20
<u>4. SOMMAIRE DES ACCOMPLISSEMENTS DU PROJET</u>	21
<u>5. PLAN DE FINANCEMENT ET CONCILIATION DES DÉPENSES</u>	

Figure 1 : Pluviométrie, température du sol à 5, 10 et 20 cm (haut) et pourcentage de dommage moyen dû à l'affaissement pythien (bas) pour la saison 2010.....	7
Figure 2 : Pluviométrie, température du sol à 5, 10 et 20 cm (haut) et pourcentage de dommage moyen dû à l'affaissement pythien (bas) pour la saison 2011.....	8
Figure 3 : Pourcentage de dommages moyen dû à l'affaissement pythien après avoir regroupé les données par semaine, pour 2010 en noir et 2011 en blanc.	9
Figure 4 : Pourcentage de dommage moyen en fonction des autres périodes d'échantillonnage pour les saisons 2010 et 2011.....	9
Figure 5 : Pourcentage de dommages dus à l'affaissement pythien par sites, pour 2010 (haut) et 2011 (bas).....	10
Figure 6 : Fréquence de détection des espèces de <i>pythium</i> pour l'ensemble des échantillons de racines (haut gauche), pour l'ensemble des échantillons de sols (haute droite) et pour les racines et sols subdivisés par année. Seules les membranes positives pour le contrôle interne ont été comptabilisées.	11
Figure 7 : Fréquence de détection des différentes espèces de <i>pythium</i> pour chacune des 4 périodes d'échantillonnage. R1 à R4 représentent les échantillons de racines pour les périodes 1 à 4, tandis que S1 à S4 représentent les échantillons de sols pour les périodes 1 à 4. Seules les membranes positives pour le contrôle interne ont été comptabilisées.	12

Figure 8 : Nombre total d'espèces détectées par échantillon (haut), et nombre d'espèces détectées par type d'échantillon (racines en bas à gauche et sols en bas à droite). Seules les membranes positives pour le contrôle interne ont été comptabilisées.	13
Figure 9 : Graphiques des analyses canoniques de correspondances montrant la relation entre la présence des espèces de pythium et les facteurs environnementaux (température maximum, température du sol à 10 cm et pluviométrie) pour les axes F1 et F2 à gauche et pour les axes F1 et F3 à droite.	14
Figure 10 : Fréquences des espèces par spécificité.	18

Tableau 1 : Température du sol à 5 cm, 10 cm et 20 cm pour les 2 saisons du projet.	8
Tableau 2 : Coefficient de régression et corrélation et pointage canonique entre les variables environnementales et les axes de l'analyse canonique de correspondance.	15
Tableau 3 : Nombre d'espèces présentes dans les échantillons de sols et de racines pour les parcelles traitées et non traitées pour les 4 semaines après la levée.	16

OBJECTIFS

1.1. Objectif général

Évaluer et comparer l'abondance relative des espèces de *Pythium* dans le sol et les racines des laitues produites en sols organiques.

1.2. Objectifs spécifiques

- Évaluer l'utilisation des bio-puces à ADN pour la détection et le diagnostic des différentes espèces de *Pythium*;
- Évaluer dans le temps, la diversité des espèces de *Pythium* responsables des pertes de rendements dans la culture de laitues en sols organiques;
- Évaluer l'importance des sources potentielles d'infections dues à *Pythium sp.* ;
- Implanter et évaluer une méthode d'évaluation de l'efficacité des fongicides pour le contrôle de l'affaiblissement Pythien;

2. RÉSULTATS ET ANALYSE

2.1. Méthode

Évaluer l'utilisation des bio-puces à ADN pour la détection et le diagnostic des différentes espèces de *Pythium*

Les isolats amassés au cours de ce projet ont tous été analysés à l'aide de la technique des bio-puces à ADN (RDBH) développées par l'équipe du Dr. André Lévesque (Centre de recherche sur les grains et oléagineux). Le support physique permettant la réalisation de la procédure RDBH est une membrane de nylon sur laquelle une série d'oligonucléotides (oligos) sont fixés de façon covalente, chacun d'eux étant spécifique

à une espèce ou à un groupe d'espèces distinct. Cette technique se base à la fois sur la présence de séquences conservées (régions ITS) au sein du génome ainsi que sur la présence de polymorphismes à l'intérieur de ces portions conservées.

La procédure débute par une extraction d'ADN, pour permettre une amplification par PCR d'une portion de la région ITS. Cette amplification doit être réalisée à l'aide de désoxyribonucléotides marqués à la digoxygénine (dig-dntp). Le produit de PCR doit ensuite être dosé et ramené à une concentration de 10 ng/µl. Le produit de PCR est ensuite hybridé aux oligos fixés à la membrane. Chaque membrane, une fois hybridée, est incubée en présence d'un substrat pour la digoxygénine (CDP-Star) et révélée lors d'une exposition sur film photographique ou avec une caméra CCD.

La technique utilisée pour ce projet est décrite en détail par C.A. Lévesque et collaborateurs dans :

Tambong, J. T., A. W. A. M. de Cock, et al. (2006). "Oligonucleotide Array for Identification and Detection of *Pythium* Species." *Applied and Environmental Microbiology* **72**(4): 2691-2706.

Évaluer dans le temps, la diversité des espèces de *Pythium* responsables des pertes de rendements dans la culture de laitues en sols organiques

L'échantillonnage s'est déroulé en 2010 et 2012 entre les mois de mai et septembre pour une durée de 16 semaines chaque année. Quatre fermes maraîchères ont été sélectionnées et suivies pendant les 2 saisons du projet. Chacune des 2 saisons a été subdivisée en 4 périodes au cours desquelles 1 semis de laitues pommées a été échantillonné 1 fois par semaine à partir de la transplantation (laitues transplantées)/démariage (laitues semées) jusqu'au stade début pomaison. À chaque date d'échantillonnage, 10 échantillons de racines ont été prélevés sur des laitues présentant des symptômes d'affaissement pythien répartis de façon aléatoire sur l'ensemble du semis. Pour chaque échantillon de racines, un échantillon de sol a également été prélevé dans la zone racinaire. Au moment de l'échantillonnage, chaque échantillon a été disposé dans une glacière pour maintenir sa température la plus basse possible, puis entreposé à - 20°C jusqu'à l'analyse. Chacun des isolats a été analysé à l'aide de la technique évaluée à l'objectif 1.

Dans chacun des sites la température du sol, la température de l'air et la pluviométrie ont été mesurées en continue afin d'établir la relation entre les espèces présentes et la sévérité des infections.

Évaluer l'importance des sources potentielles d'infections dues à *Pythium sp.*

Sur une des 4 fermes suivies, des échantillons de terreau d'empotage, de semences et d'eau d'irrigation ont également été prélevés lorsque des pics d'affaissement pythien étaient dépistés. L'ADN de ces échantillons a également été extrait à l'aide de trousseaux d'extraction commerciale, et analysé à l'aide de la technique RDBH décrite à l'objectif 1.

Planter et évaluer une méthode d'évaluation de l'efficacité des fongicides pour le contrôle de l'affaissement Pythien : étude de cas

L'étude de cas présentée est celle de la formulation granulaire du Ridomil. Sur 2 sites, implantés en 2010 et 2011, un dispositif complètement aléatoire a été implanté dans lequel un traitement au Ridomil 2g a été effectué dans la moitié des parcelles. La variété prestige a été utilisée dans cet essai puisqu'elle est réputée pour sa sensibilité à l'affaissement pythien. Dans chacun des quadras, un échantillon de sol a été prélevé avant l'application du Ridomil 2G, puis par la suite 4 échantillons de sols et de tissus racinaires ont été prélevés dans chaque quadra à intervalle d'une semaine. Les échantillons ont également été analysés à l'aide de la technique RDBH décrite à l'objectif 1.

2.2. résultats obtenus

Évaluer dans le temps, la diversité des espèces de *Pythium* responsables des pertes de rendements dans la culture de laitues en sols organiques

Le pourcentage de dommage dû à l'affaissement pythien variait en 2010 entre 1 et 17.5%, tandis qu'en 2011 le pourcentage de dommage variait entre 0% et 22% (Figures 1-2). Au cours des 2 années du projet, la distribution des symptômes d'affaissement pythien peut être représentée par une courbe polynomiale d'ordre 6 caractérisée par la présence de 2 pics (Figures 1-2). Dans les 2 cas, le premier pic est plus important et

plus large que le second et s'étend de la mi-mai à la mi-juillet. En 2010, le premier maximum est atteint le 20 juin alors qu'il est atteint le 1^{er} juillet en 2011 (Figures 1-2). Au cours des 2 années d'essais, le second pic est plus étroit que le premier et de plus faible amplitude, il s'étend du 10 août au 2 septembre en 2010 et du 9 août au 15 septembre en 2011 (Figures 1-2).

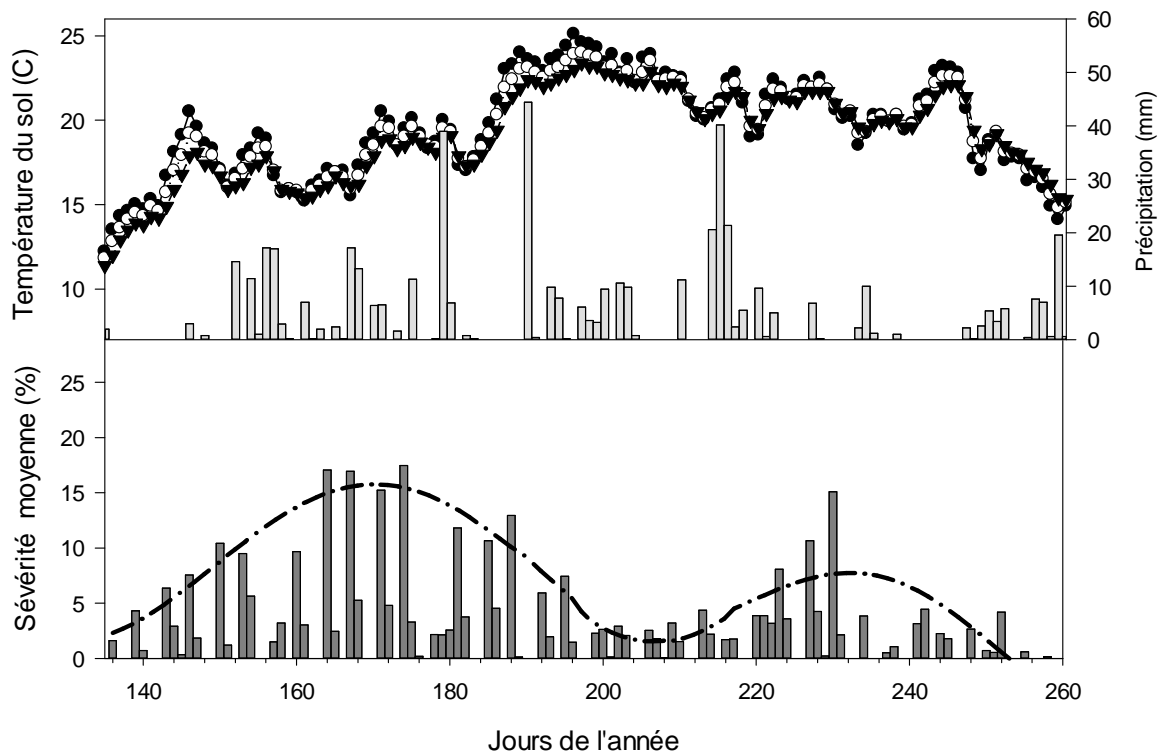


Figure 1 : Pluviométrie, température du sol à 5, 10 et 20 cm (haut) et pourcentage de dommage moyen dû à l'affaissement pythien (bas) pour la saison 2010.

La

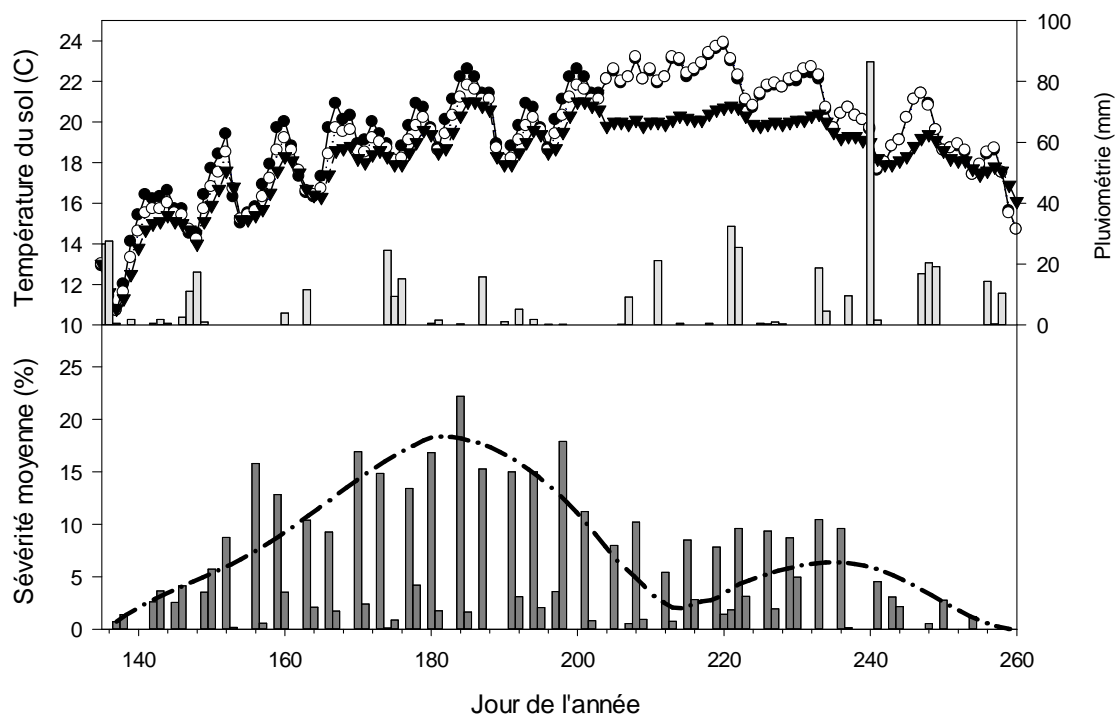


Figure 2 : Pluviométrie, température du sol à 5, 10 et 20 cm (haut) et pourcentage de dommage moyen dû à l'affaissement pythien (bas) pour la saison 2011.

Tableau 1 : Température du sol à 5 cm, 10 cm et 20 cm pour les 2 saisons du projet.

Année	Période	Température (°C) max	Température min (°C)	Température moy (°C)	Pluviométrie (mm)	Sol (°C) (5 cm)	Sol (°C) (10 cm)	Sol (°C) (20 cm)
2011	1	22.34	11.75	17.05	107.60	16.41	15.99	15.52
2011	2	27.42	15.08	21.43	76.80	20.22	19.69	19.15
2011	3	26.82	14.19	20.50	125.90	22.02	22.12	20.08
2011	4	22.23	10.67	16.48	190.20	17.96	17.99	17.49
2010	1	23.19	10.17	16.94	112.40	16.62	16.21	15.72
2010	2	27.11	17.08	22.00	178.30	21.37	20.86	20.35
2010	3	25.25	13.71	19.66	137.70	21.29	21.20	21.04
2010	4	22.30	11.31	16.75	96.40	17.71	17.85	17.91

La pluviométrie totale moyenne pour la saison 2010 était de 484.8 mm tandis qu'elle était de 480.3 mm en 2011 pour la période du 15 mai au 15 septembre (Figures 1-2). Pour la même période la température moyenne du sol à 5 cm de profondeur était de 19.61°C en 2010 et 19.45°C en 2011 (Tableau 1). La moyenne des températures de sols à 10 et 20 cm était de 19.36 et 19.04°C en 2010 et de 19.23 et 18.27°C en 2011 (Tableau 1).

Chacune des 2 saisons ont été regroupée par semaine en 16 semaines distincte du 15 mai au 15 septembre. La tendance demeure présente après avoir regroupé les données, et l'on observe un pic à la 5^{ième} semaine en 2010 et à la 8^{ième} semaine en 2011, puis un second pic à la 13^{ième} et 14^{ième} semaine respectivement (Figure 3).

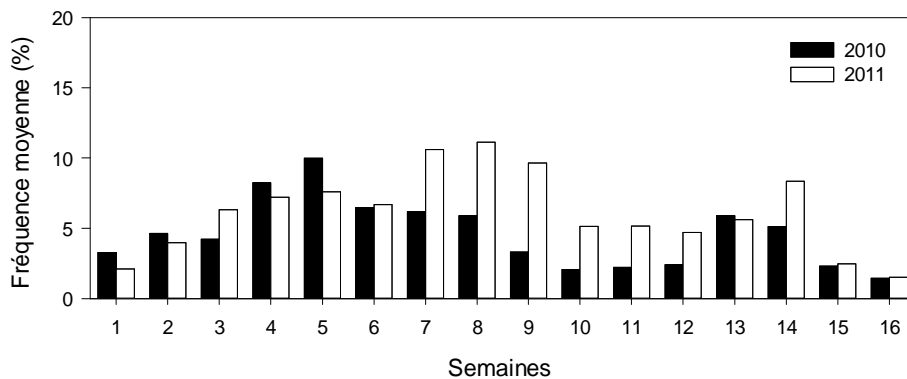


Figure 3 : Pourcentage de dommages moyen dû à l'affaissement pythien après avoir regroupé les données par semaine, pour 2010 en noir et 2011 en blanc.

Par la suite, les données ont été divisées en 4 périodes d'échantillonnage, chacune d'entre elle débutant le 15 du mois et se terminant le 15 du mois suivant. Bien qu'en moyenne, il semble que les dommages dus à l'affaissement pythien soient plus important au cours de la période 2, aucune différence significative n'a pu être identifiée entre les périodes (Figure 4).

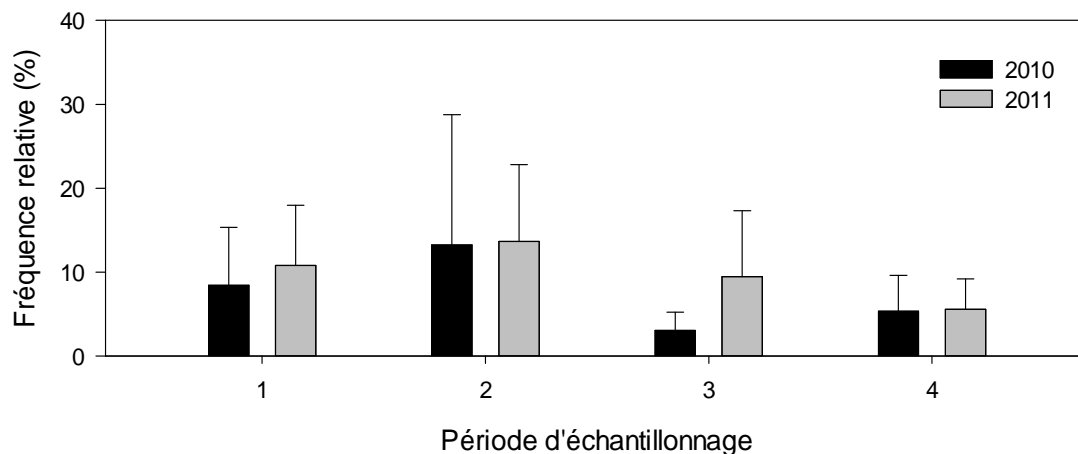


Figure 4 : Pourcentage de dommage moyen en fonction des autres périodes d'échantillonnage pour les saisons 2010 et 2011.

Pour chacune des 4 périodes d'échantillonnage, on constate que le pourcentage de dommages varie considérablement d'un site à l'autre. À cette échelle, le pourcentage de dommage varie de 0.5% à 22% en 2010 et de 0.3% à 36% en 2011 (Figure 5).

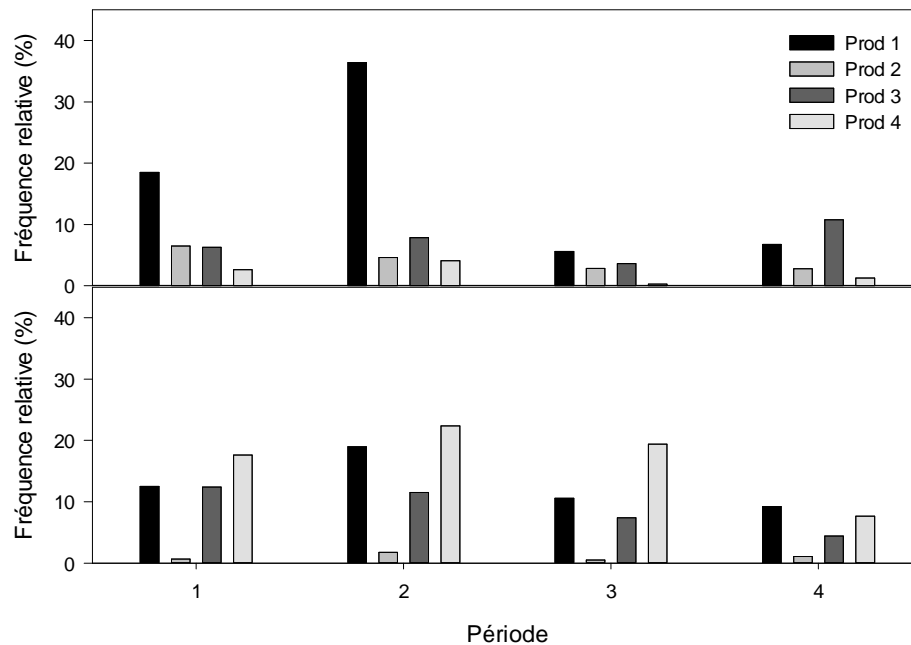


Figure 5 : Pourcentage de dommages dus à l'affaissement pythien par sites, pour 2010 (haut) et 2011 (bas).

En 2010, la plupart des sites sont restés sous la barre des 10% sauf pour les sites prod1 aux périodes 1 et 2 qui ont atteint des pourcentages de dommages de l'ordre de 17% et 36% respectivement (Figure 5 haut). Pour 2011, bien que l'amplitude des dommages soit moins importante, il est possible d'observer plus de variation entre les sites (Figure 5 bas).

Globalement, 13 espèces de *pythium* ont été identifiées dans les échantillons de racines alors que 5 espèces seulement ont pu être identifiées dans les échantillons de sols (Figure 6). Globalement, les espèces qui semblent être les plus représentées dans les échantillons de racines sont *P. sylvaticum* et *P. tracheiphilum* et *P. irregulare* qui sont toutes les trois présentes dans plus de 50% des échantillons. *P. ultimum* est également présent dans un peu plus de 40% des échantillons de racines (Figure 6). Au niveau des échantillons de sols, *P. irregulare* et *P. sylvaticum* sont des espèces prédominantes, tandis que *P. tracheiphilum* est également présent dans près de 50% des échantillons (Figure 6).

La tendance est similaire lorsque l'on regarde les données par année. En effet, *Pythium sylvaticum*, *irregulare*, *ultimum* et *tracheiphilum* sont prédominantes dans les échantillons de racines et de sols (Figure 6).

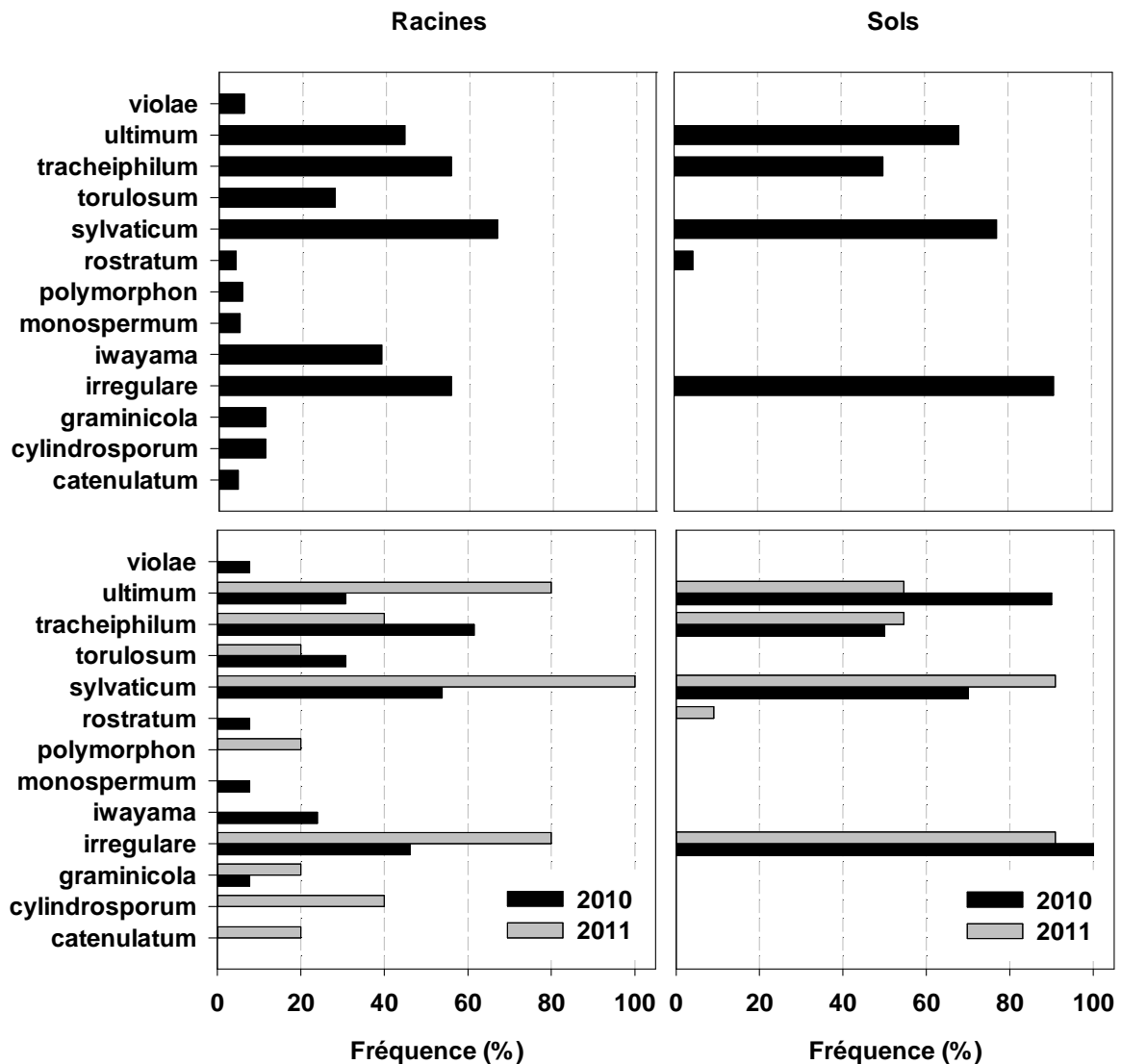


Figure 6 : Fréquence de détection des espèces de *pythium* pour l'ensemble des échantillons de racines (haut gauche), pour l'ensemble des échantillons de sols (haute droite) et pour les racines et sols subdivisés par année. Seules les membranes positives pour le contrôle interne ont été comptabilisées.

L'étude de la répartition des espèces par période, révèle d'importantes variations entre les périodes d'échantillonnage. La première période (15 mai au 15 juin) est caractérisée par une très faible diversité des espèces au niveau des échantillons de sols et une

prédominance de *P. ultimum* (Figure 7). La seconde période d'échantillonnage est quant à elle caractérisée par un plus grand nombre d'espèces détectables, et une prédominance de *P. tracheiphilum* dans les échantillons de sols et de racines (Figure 7). Pour les périodes d'échantillonnage 3 et 4, le nombre d'espèces détectées dans les sols et dans les racines est plus petit que pour les périodes 1 et 2. On détecte de nouveau *P. ultimum*, *sylvaticum* et *irregulare* dans les sols au cours de la période 3 et *P. tracheiphilum* au cours de la période 4 (Figure 7).

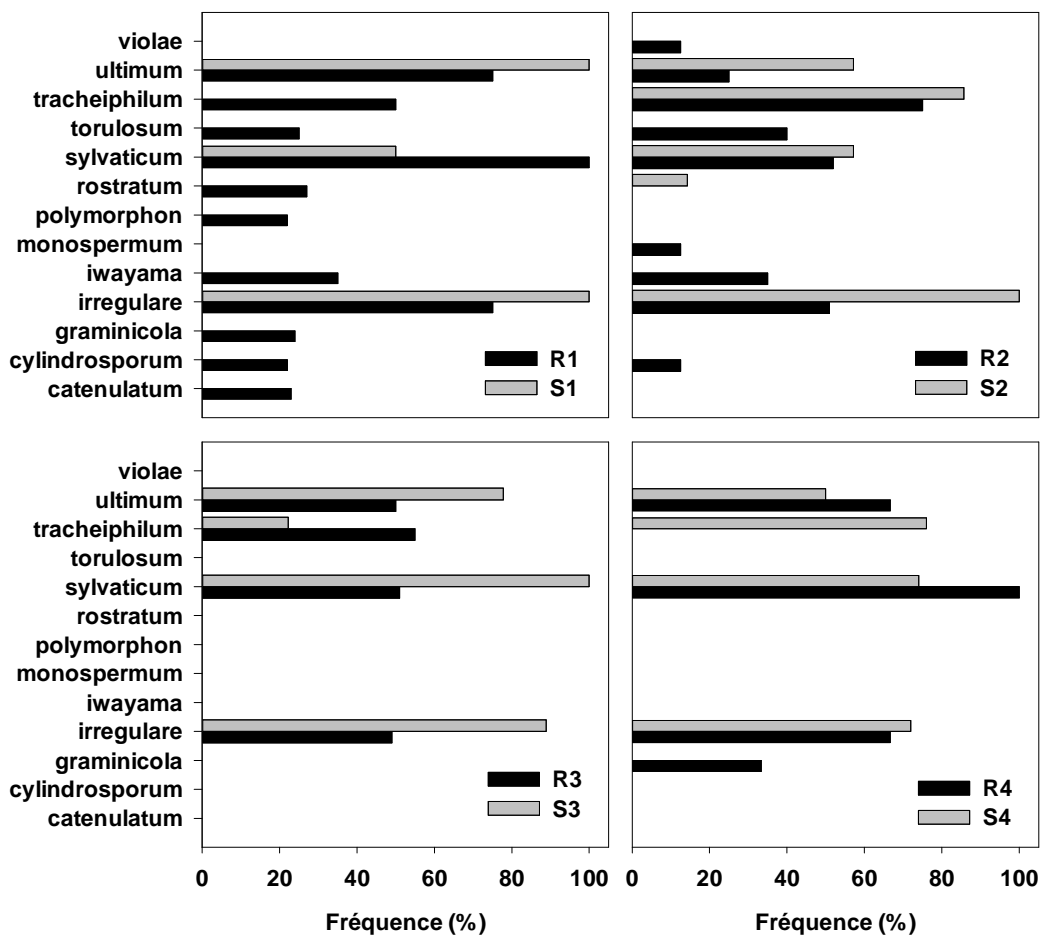


Figure 7 : Fréquence de détection des différentes espèces de *pythium* pour chacune des 4 périodes d'échantillonnage. R1 à R4 représentent les échantillons de racines pour les périodes 1 à 4, tandis que S1 à S4 représentent les échantillons de sols pour les périodes 1 à 4. Seules les membranes positives pour le contrôle interne ont été comptabilisées.

Globalement, dans 20% des échantillons nous avons détecté 3 espèces de *Pythium* simultanément et dans 20% d'entre eux, aucune espèce n'a été détectée (Figure 8).

Pour les sols, 30% des échantillons ne contenaient que 3 espèces détectables, et 25% des échantillons n'en contenaient aucune. Pour ce qui est des échantillons des racines, 25% des échantillons contenaient une seule espèce détectable et 10% des échantillons n'en contenaient aucune (Figure 8).

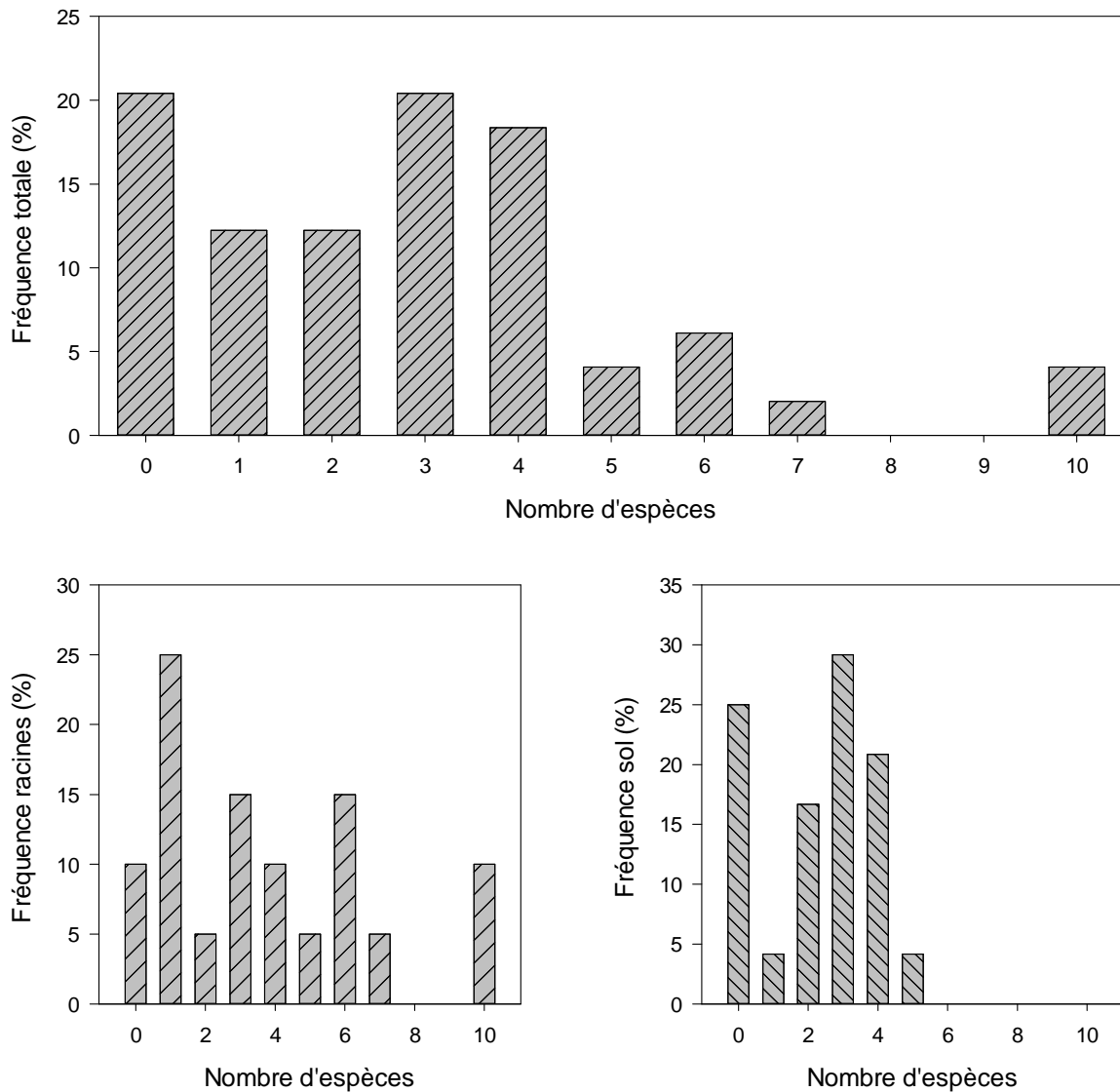


Figure 8 : Nombre total d'espèces détectées par échantillon (haut), et nombre d'espèces détectées par type d'échantillon (racines en bas à gauche et sols en bas à droite). Seules les membranes positives pour le contrôle interne ont été comptabilisées.

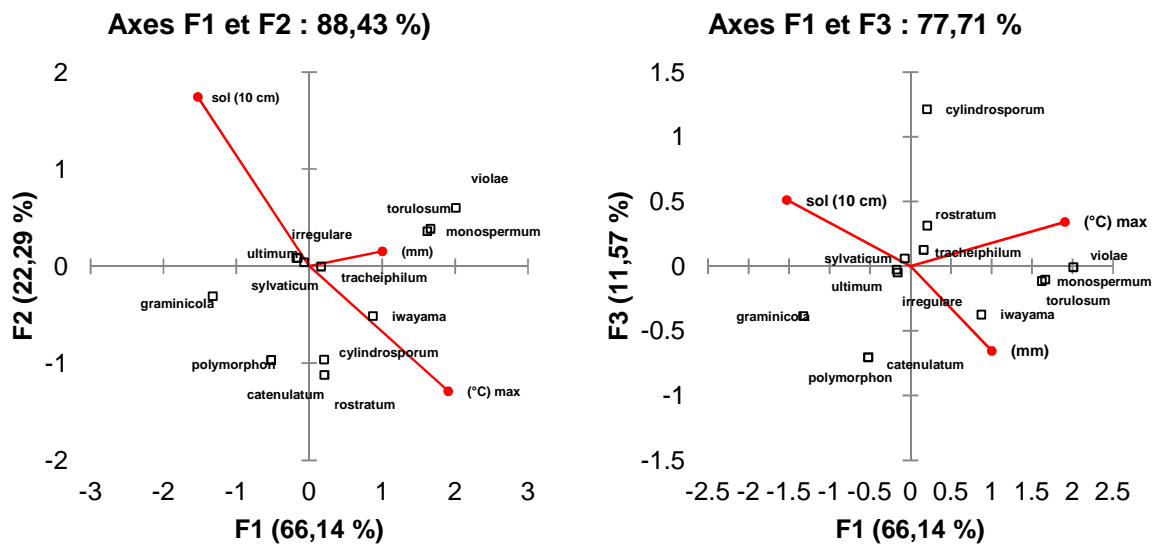


Figure 9 : Graphiques des analyses canoniques de correspondances montrant la relation entre la présence des espèces de *Pythium* et les facteurs environnementaux (température maximum, température du sol à 10 cm et pluviométrie) pour les axes F1 et F2 à gauche et pour les axes F1 et F3 à droite.

Afin d'établir les liens entre la présence des différentes espèces de *Pythium* et les paramètres environnementaux mesurés, une analyse canonique de correspondance (ACC) a été réalisée (Paulitz and Adams, 2003). Ce type d'analyse a été développé par Braak au milieu des années 80 pour permettre aux écologistes d'établir les relations entre la diversité des communautés et les paramètres environnementaux. Les paramètres liés à la température se sont avérés tel qu'attendu hautement auto corrélé. Par ailleurs, la corrélation entre pluviométrie et température du sol ainsi que la corrélation entre pluviométrie et température de l'air n'était pas significative.

Les ACC ont identifié 3 axes (Figures 9), les axes F1 et F2 étant plutôt corrélés à la température tandis que l'axe F3 étant corrélé à la pluviométrie (Tableau 2). Les axes F1, F2 et F3 peuvent expliquer 66.14%, 22.29% et 11, 57% de la variation respectivement. Au niveau des espèces importantes, on peut constater que *P. tracheiphilum* est positivement influencé par la pluviométrie et négativement influencé par une augmentation de la température tandis que *P. ultimum* et *P. sylvaticum* ne semblent réagir à aucun des facteurs environnementaux mesurés.

Ces statistiques n'ont cependant pas permis de démontrer qu'il y a bel et bien une relation entre les variables climatiques et les communautés de *Pythium* dans les cultures de laitues en sols organiques de la région du Sud-ouest de Montréal.

Tableau 2 : Coefficient de régression et corrélation et pointage canonique entre les variables environnementales et les axes de l'analyse canonique de correspondance.

Variable	Coefficient de régression (pointage canonique)		
	Axe F1	Axe F2	Axe F3
Tmax (°C)	1.609 (0.212)	-0.872 (0.059)	0.491 (0.147)
Pluie (mm)	0.951 (0.220)	0.220 (0.153)	-0.634 (-0.103)
Tsol (°C) (10 cm)	-1.293 (0.097)	1.409 (0.187)	0.364 (0.107)

Évaluer l'importance des sources potentielles d'infections dues à *Pythium sp.*

Sur une des 4 fermes, un échantillonnage régulier des sources d'irrigation a été réalisé pour les 2 années du projet. Lors de cette prise d'échantillons, 40ml d'eau a été récupéré à l'aide d'un Flacon de 50ml. Ces échantillons ont été jumelés par périodes et également analysés par périodes de sorte qu'il soit possible d'établir les liens entre la composition des communautés dans les tissus et dans l'eau servant à l'irrigation. Après centrifugation, l'ADN de ces échantillons a été extrait à l'aide d'une trousse commerciale d'extraction d'ADN.

Contrairement à nos attentes, très peu d'échantillons positifs ont été obtenus. Pour la plupart des échantillons analysés seuls les témoins positifs pouvaient être visibles, indiquant la présence d'ADN et validant la réussite de la procédure. Ainsi, sur 24 échantillons (chaque échantillon composé de 10 sous-échantillons) 16 échantillons se sont avérés négatifs pour la présence de *Pythium sp.* 3 échantillons sur 24 n'ont pas révélé la présence du groupe des *pythiums* globuleux, et 5 échantillons sur 24 ont révélé la présence du groupe des *pythiums ultimum*.

Pour les autres types d'échantillons; aucun des échantillons de semences testés ne s'est avéré positif pour la présence de *Pythium* (8 lots de semences testés) et aucun des échantillons de terreau ne s'est avéré positif pour la présence de *Pythium*.

Implanter et évaluer une méthode d'évaluation de l'efficacité des fongicides pour le contrôle de l'affaissement Pythien : étude de cas

Deux sites d'essais ont été implantés pour répondre à cet objectif. Dans chacun des quadras, quatre échantillons de sols et de tissus infectés ont été prélevés à des intervalles d'une semaine pendant 4 semaines. Chaque site d'échantillonnage a été géo-référencé afin de ré-échantillonner au même endroit. Pour chaque échantillon le nombre d'espèces a été dénombré suite à l'hybridation.

Tableau 3 : Nombre d'espèces présentes dans les échantillons de sols et de racines pour les parcelles traitées et non traitées pour les 4 semaines après la levée.

	Semaine	2010		2011	
		Sols	Racines	Sols	Racines
Ridomil 2G	1	3	2	3	3
	2	3	2	2	3
	3	2	2	3	1
	4	2	3	3	2
Non traité	1	4	3	2	4
	2	2	2	3	2
	3	3	4	4	3
	4	3	2	3	3

Les résultats suggèrent qu'aucune différence significative entre les échantillons n'a pu être observée ni en 2010 ni en 2011. Le nombre moyen d'espèces présent dans chaque échantillon de sol varie de 2.5 à 3 et de 2.75 à 3 pour les échantillons de racines.

2.3. Discussion

Évaluer l'utilisation des bio-puces à ADN pour la détection et le diagnostic des différentes espèces de *Pythium*

Ce projet a clairement démontré la capacité de la technique des bio-puces à ADN à évaluer la diversité des espèces de *pythium* tant dans les échantillons de sols que dans les échantillons de racines. La procédure se déroule sur 1 jour et demi et

dépendamment de l'équipement disponible, il est possible d'analyser entre 8 et 16 échantillons à la fois. Parmi les étapes importantes, il est important de s'assurer de la qualité de l'ADN utilisé après extraction soit à l'aide d'un dosage ou simplement par électrophorèse. Il est également important de s'assurer de maintenir la température des fours à hybridation constante au moment de l'hybridation et des lavages subséquent.

Une membrane peut être réutilisée à plusieurs reprises si la procédure de lavage est correctement appliquée et que la membrane est complètement immergée dans la solution de conservation. Cependant, il semble qu'après une vingtaine d'hybridation les résultats commencent à diminuer.

Évaluer dans le temps, la diversité des espèces de *Pythium* responsables des pertes de rendements dans la culture de laitues en sols organiques

La période de culture s'étalant du 15 juin au 15 juillet semble être critique pour la sévérité des dommages et la diversité des communautés de *pythium*. Les espèces les plus importantes et causant des dommages pour la culture de laitue en sols organiques sont *Pythium ultimum*, *Pythium sylvaticum*, *Pythium irregulare* et *Pythium tracheiphilum*. *P. tracheiphilum*. Ces espèces sont détectables dans les sols uniquement au cours de la période 2 (15 juin-15 juillet), période au cours de laquelle les dommages d'affaissement pythien sont les plus importants. Bien que d'autres espèces soient présentes de façon prédominante dans les sols, elles occupent la même part de l'échantillonnage d'un bout à l'autre de la saison de production.

Au moment où les dommages sont les plus importants, *Pythium tracheiphilum* est présent dans plus de 80% des échantillons de sols analysés et dans près de 75% des échantillons de racines analysés.

La fréquence d'incidence des espèces pouvant infecter des graminées est de plus de 30% et il en va de même pour l'incidence des espèces pouvant infecter les carottes qui est également de plus de 30%. De plus, la présence des espèces propres à la laitue est elle aussi légèrement supérieure à 30%, alors que les autres espèces représentent une proportion inférieure à 5%.

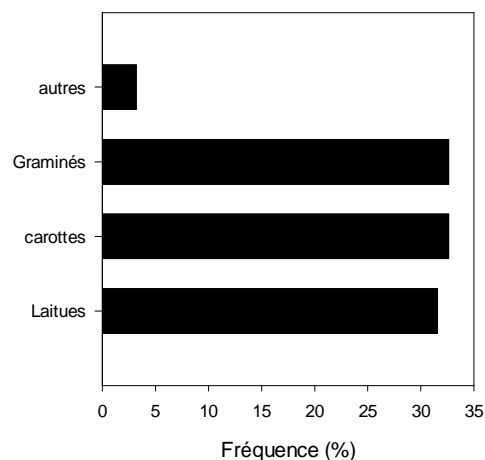


Figure 10 : Fréquences des espèces par spécificité.

Évaluer l'importance des sources potentielles d'infections dues à *Pythium sp.*

À la lumière des résultats obtenus, la source la plus importante d'inoculum semble être le sol. La fréquence des espèces présentes dans les échantillons de sols et de racines est cohérente pour la plupart des espèces et il est possible de détecter les principales espèces de *pythium* dans les sols aussi bien que dans les racines. Sur la ferme sélectionnée pour effectuer le suivi des autres sources possibles d'inoculum, la semence, le terreau d'emportage et l'eau d'irrigation ne semble pas représenter une source majeure d'inoculum.

Planter et évaluer une méthode d'évaluation de l'efficacité des fongicides pour le contrôle de l'affaissement Pythien

Les résultats obtenus démontrent que l'application de Ridomil 2G dans le sillon lors du semis directe de laitues pommées n'a pas d'impact sur la diversité des espèces de *Pythium* présentes dans les échantillons de sols ou de racines. Par ailleurs cet essai aurait dû être implanté seulement la deuxième année du projet sur deux périodes d'échantillonnage différentes en fonction des résultats obtenus l'année précédente. En effet, les 2 sites d'essais ont été implantés dans les 3 périodes d'échantillonnage, période au cours de laquelle les dommages associés à l'affaissement pythien sont plus faibles et, période au cours de laquelle moins d'espèces sont représentées dans les échantillons de sols ou de racines.

DIFFUSION DES RÉSULTATS

*Supprimer ou ajouter les activités qui s'appliquent à votre projet et remplir les colonnes suivantes.
Annexer au rapport les documents de diffusion produits.*

Activités prévues de l'ANNEXE A	Activités réalisées	Description (thème, titre, endroit, etc.)	Date de réalisation	Nombre de personnes rejointes	Visibilité accordée au PCAA (logo, mention)
Article dans les journaux (les nommer) Article dans revues spécialisées Article dans revues régionales Article scientifique Feuillet, brochure	Article scientifique	Canadian Journal of Plant Pathology	Prevue	1000 +	Mention
Colloque Présentation Conférence Forum Stand	- Présentation des résultats préliminaires - Présentation des résultats - Présentation des résultats	- Journée d'information scientifique du PRISME - Journée d'information scientifique du PRISME - Journée Horticoles	- Mars 2011 - Mars 2012 - Prévus décembre 2012	- 50 -50 - 100 - 300	- Logo et mention - Logo et mention - Logo et mention

3. CONCLUSIONS

- **Résumer les retombées prévues à court terme, moyen terme (suite au projet) et à long terme sur le secteur.**

Ce projet nous a permis d'augmenter nos connaissances de la structure et de la composition des communautés de *pythium sp.* dans la culture de laitues pommées en sols organiques. À court terme ce projet permettra au producteurs de laitue de faire une gestion différente des rotations et d'ajouter un critère à la priorisation des champs à planter ou semer. À Moyen et à long termes, la compagnie de recherche Phytodata souhaite offrir aux producteurs et conseillers la possibilité d'analyser les sols et tissus infectés pour déterminer les espèces de *pythium spp.* présentes.

Inscrire les recommandations découlant des résultats.

La première recommandation qui pourrait émaner des résultats de ce projet, serait de tenir compte de ces résultats lors du choix de l'ordre de plantation.

La seconde a trait à l'utilisation de plantes couvre-sols. Il est d'usage d'utiliser des graminées (orge) comme plante-abris dans les cultures de carottes et d'oignons, il est également utilisé pour retenir les sols à l'automne. Il pourrait être intéressant de se tourner vers des couvre-sols qui ne soient pas des graminées. Puisque 30% des espèces détectées peuvent infecter les graminées, la recherche de nouvelles plantes couvre-sols seraient bénéfique.

Une culture de laitue immédiatement après une culture de carotte devrait être évitée, puisqu'encore une fois plus de 30% des espèces détectées peuvent infecter les carottes.

Enfin, les essais d'efficacité de fongicides dirigés contre *pythium* dans les cultures de laitues en champs, devraient être dirigés spécifiquement contre *Pythium tracheiphilum*, seul ou en complexe avec *Pythium ultimum*, *sylvaticum* ou *irregulare*.

- **Décrire les éléments qui assureront la pérennité du projet (collaboration, mise en œuvre et adoption par le secteur, etc.).**

La collaboration avec Dr. André Lévesque et Dr. Odile Carisse s'est bien déroulée et nous espérons travailler avec eux dans des projets futurs. Par ailleurs l'équipe de

Phytodata devra continuer à faire la promotion de cette technique afin qu'elle soit adoptée par l'industrie, cependant les résultats à court terme obtenus peuvent être adoptés au cours de la saison 2012.

- **Y a-t-il des suites possibles au projet?**

Pythium tracheiphilum semble être l'espèce la plus importante en ce qui a trait à l'affaiblissement pythien. Il serait très utile de faire un suivi plus spécifique de cette espèce afin de mieux comprendre à quel moment on commence à détecter cette espèce dans les sols. Cette démarche permettrait également de raffiner les résultats obtenus dans cette étude. Comme les outils de biologie moléculaire sont de plus en plus précis et sensibles, il serait certainement possible d'abaisser le seuil de détection à l'aide de technique de PCR quantitatif (RT-qPCR), et de pouvoir identifier et quantifier l'inoculum tout au long de la saison de production.

4. SOMMAIRE DES ACCOMPLISSEMENTS DU PROJET

Rédiger le sommaire des accomplissements du projet. Pour rédiger le texte, répondre aux six questions sous forme d'un texte suivi de moins de 2 500 caractères. Ce texte pourra servir aux fins de publication sur le site Internet du PCAA d'AAC. Le sommaire doit être compréhensible sans l'apport d'autres documents.

Le *Pythium* est le principal agent pathogène s'attaquant au système racinaire des laitues semées et transplantées en production en champs ou hors sol. Les pertes occasionnées par ce ravageur sont souvent importantes et peuvent se traduire par des pertes brutes de plus de 70% du champ. L'abondance et l'intensité des pluies enregistrées tout au long de la saison de culture depuis les 3 dernières années ne fait qu'augmenter l'incidence de la maladie et la rémanence, pertes de rendement qui sont désormais déclarées tout au long de la saison de culture. L'objectif de ce projet est d'évaluer et comparer l'abondance relative des espèces de *Pythium* dans le sol et les racines des laitues produites en sols organiques. Au cours du projet, 4 fermes productrices de laitues ont été échantillonnées pour évaluer la composition des communautés de *pythium* présentes dans les sols et racines de laitues. Ces échantillons ont été analysés à l'aide d'une membrane d'oligonucléotides mises au point spécifiquement par l'équipe du Dr. André Lévesque pour identifier précisément

plus de 20 espèces de *pythium*. Grâce à la collaboration des producteurs de laitues membres du consortium Prisme ainsi que des chercheurs André Lévesque et Odile Carisse (AAC), plusieurs centaines d'échantillons de sols et de racines ont été recueillis et analysés pour la présence de différentes espèces de *Pythium*. Treize espèces de *pythium* ont été identifiées dans les racines alors que 6 espèces de *pythium* ont été détectées dans les sols. *Pythium tracheiphilum*, *Pythium ultimum*, *Pythium irregulare* et *Pythium Sylvania* sont les espèces les plus fréquentes dans les sols ainsi que dans les racines infectées. Les symptômes d'affaissement pythien sont en général plus importants dans cette région de production au cours de la période s'échelonnant de la mi-juin à la mi-juillet, et c'est au cours de cette période que *P. tracheiphilum* semble être le plus représenté, à la fois dans les sols et dans les tissus. Les analyses canoniques de correspondance n'ont révélé aucune relation linéaire significative entre la composition des communautés de *Pythium* et les variables environnementales mesurées, bien que certaines tendances puissent être observées. La méthode de détection utilisée au cours de ce projet s'est avérée très pratique et intéressante afin d'obtenir un portrait ponctuel de la diversité des espèces et permet de faire le diagnostic aussi bien que la détection. Par ailleurs, pour explorer d'avantage la distribution d'espèces particulières il serait préférable de faire le saut en PCR quantitatif.