

Rapport final réalisé dans le cadre du programme Prime-Vert, sous-volet
11.1 – Appui à la Stratégie phytosanitaire québécoise en agriculture

Évaluation de l'utilisation de capteurs de spores comme
outil de suivi de l'*Alternaria* dans les crucifères

NUMÉRO DU PROJET :PHYD-1-12-1598

Réalisé par :

Hervé Van Der Heyden, M.Sc

Anne-Marie Fortier, M.Sc.

Djamel Esselami, agr., M.Sc.

DATE : Décembre2014

Les résultats, opinions et recommandations exprimés dans ce rapport
émanent de l'auteur ou des auteurs et n'engagent aucunement le
ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation.

Évaluation de l'utilisation de capteurs de spores comme outil de suivi de l'*Alternaria* dans les crucifères.

Hervé Van der Heyden, M.Sc, Djamel Esselami, M.Sc et Anne-Marie Fortier, M.Sc

Durée : 04/2013 – 03/2015

FAITS SAILLANTS

Plus de 4400 acres de brocoli et près de 2200 acres de chou-fleur sont produits chaque année au Québec (Statistiques Canada, 2012). Dans ces productions, les pertes occasionnées par *A. brassicicola* et *A. brassicae* sont en progression depuis quelques années. On estime qu'il y aurait entre 10% et 20% de pertes en moyenne, mais celles-ci peuvent dépasser 60% dans certains champs, dépendamment des conditions météorologiques, des antécédents culturels et de la régie fongicide. Les conidies sont disséminées principalement par le vent, donc le capteur de spores pourraient s'avérer être un outil intéressant pour les producteurs de crucifères qui font face à ce pathogène. Il a été démontré dans plusieurs cultures que cet outil, jumelé à des activités de dépistage, permet de rationaliser l'utilisation des fongicides en ciblant les périodes de fort inoculum, maximisant ainsi l'efficacité des traitements fongicides. Ce projet visait à 1) déterminer s'il existe une corrélation entre la concentration aérienne de conidies (CAC) et la sévérité des dommages de l'*Alternaria* ; 2) établir un seuil d'intervention selon la concentration aérienne de conidies; 3) déterminer s'il y a corrélation entre les conditions météo et l'incidence de l'*Alternaria* et 4) évaluer la distribution spatiale de l'inoculum à l'échelle d'un champ. Les résultats obtenus suggèrent une corrélation significative entre le développement de symptômes et la concentration aérienne de spores d'*Alternaria sp.*, mais un décalage de 10 à 14 jours entre les captures de spores et l'apparition des symptômes a été estimé. Un seuil d'intervention de 16 conidies/m³ a été estimé pour les deux cultures. Ces analyses ont également révélé la présence d'hétérogénéité dans la distribution spatiale, spatiotemporelle et à l'échelle du champ, tant au niveau des symptômes que de la CAC. Une corrélation négative entre la sévérité des symptômes et la température de l'air, ainsi qu'entre la CAC et la pluviométrie ont été mises de l'avant.

OBJECTIF ET MÉTHODOLOGIE

Ce projet de deux ans visait principalement à établir la relation entre l'inoculum aérien et le développement des lésions à la fois pour le brocoli et le chou-fleur. En tout, quatre sites ont été installés en production de brocoli et quatre sites en production de chou-fleur chez des producteurs de la Montérégie-Ouest. Dans chaque site de chou-fleur, 4 capteurs de spores à impaction de type Rotorod ont été installés et cinq capteurs de spores dans chaque site de brocoli. Les capteurs échantillonnaient trois fois par semaine, 50% du temps entre 10h et 14h, pour un total de deux heures d'activité par jour (dimanche, mardi et jeudi). Les bâtonnets des capteurs ont été relevés le lendemain et conservés à 4°C jusqu'à ce qu'ils soient comptés au microscope à un grossissement de 250X. L'évaluation visuelle des symptômes a également été réalisée trois fois par semaine, sur 10 plants choisis aléatoirement à proximité de chaque capteur. Lors des évaluations, une estimation de la sévérité des dommages a été réalisée en assignant un indice de 0 à 5 sur un total de 10 feuilles par plant. Les données météo ont été prélevées à l'aide de stations automatisées Watchdog 2700 (température, humidité relative, pluviométrie, vitesse et direction du vent et mouillure du feuillage). Afin de déterminer s'il y avait agrégation dans l'espace, l'ajustement des distributions binomiales négatives et de Poisson a été utilisé, en plus de l'ajustement de la loi de puissance de Taylor. Un modèle ARIMA (ajustement de modèles autorégressifs à moyenne mobile intégrée) a été utilisé pour caractériser la relation entre les deux séries temporelles.

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS OBTENUS

Le projet s'est déroulé sur une période s'échelonnant du 12 juillet au 8 octobre 2013 et du 20 juillet au 8 octobre 2014. Les premières conidies d'*Alternaria sp.* ont été détectées dès l'implantation pour atteindre un maximum de 321 conidies/bâtonnet le 28 août 2013 et 401 conidies/bâtonnet le 28 septembre 2014 dans le brocoli et dans le chou-fleur, 132 conidies/bâtonnet le 3 septembre 2013 et 780 conidies/bâtonnet le 4 septembre 2014. Pour le brocoli, les premiers symptômes d'*Alternaria sp.* ont été dépistés le 12 août et le 14 août pour atteindre un indice maximum le 19 septembre et le 26 septembre en 2013 et 2014, respectivement. Les premières taches sur les inflorescences de brocoli ont été dépistées le 6 septembre et le 8 septembre en 2013 et 2014, respectivement. Pour le chou-fleur, les premiers symptômes ont été dépistés le 19 août et le 25 août pour atteindre un indice maximum le 30 septembre en 2013 et le 22 septembre en 2014. Les premières taches sur les inflorescences de chou-fleur ont été observées le 5 septembre en 2013 et le 22 septembre en 2014.

Corrélation entre la concentration aérienne de conidies (CAC) et la sévérité des dommages de l'*Alternaria*

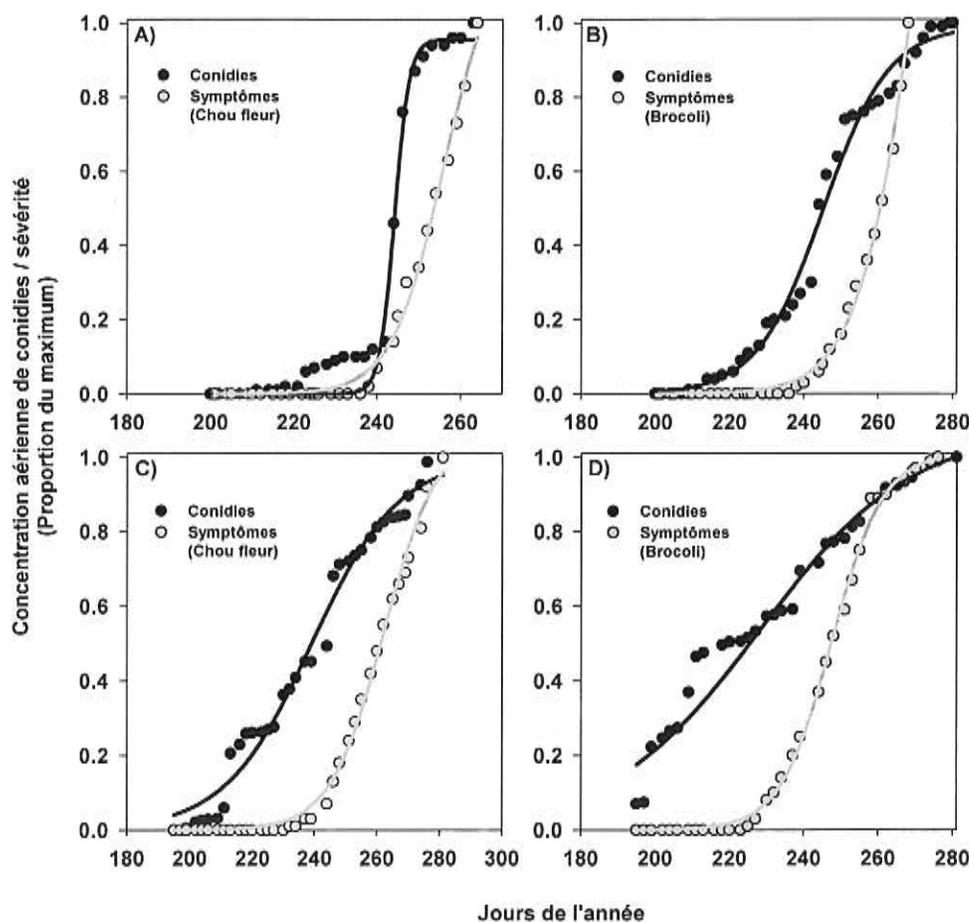


Figure 1 : Graphique résumant la progression cumulative de l'inoculum aérien et de la sévérité des symptômes d'*Alternaria sp.* pour le chou-fleur en 2013 et 2014 (A-C) et pour le brocoli en 2013 et 2014 (B-D). Les cercles noirs représentent les concentrations de spores et les cercles gris la sévérité des symptômes.

L'analyse graphique des résultats permet de constater que des spores sont toujours capturées avant l'apparition des symptômes (Figure 1). L'ajustement de modèle sigmoïde à trois paramètres (eq.1)

$$(1) y = \frac{a}{1+e^{-\frac{(x-x_0)}{b}}}$$

Où y représente la concentration aérienne cumulative de conidie (ou la sévérité cumulée), a est l'asymptote, b la pente de la portion linéaire de la pente et X_0 représente le temps ou la valeur de y correspond à la moitié du maximum. Les résultats de l'ajustement du modèle sigmoïde confirment l'analyse graphique des résultats (Tableau 1). En effet, les valeurs de X_0 pour les concentrations aériennes de spores surviennent toujours au moins 10 jours avant l'atteinte du X_0 pour la sévérité.

Tableau 1 : Paramètre du modèle sigmoïde ajusté sur les concentrations aériennes de spores d'*Alternaria sp.* et la sévérité de la maladie sur le feuillage.

Sites	a (SE)	b (SE)	X_0 (SE)	R^2
Conidies (Chou-fleur 2013)	0.956 (0.022)	1.738 (0.269)	244.148 (0.281)	0.98
Sévérité (Chou-fleur 2013)	1.221 (0.087)	6.200 (0.443)	255.884 (1.063)	0.99
Conidies (Brocoli 2013)	0.992 (0.021)	8.825 (0.557)	245.119 (0.718)	0.99
Sévérité (Brocoli 2013)	2.641 (0.581)	8.110 (0.467)	272.276 (2.957)	0.99
Conidies (Chou-fleur 2014)	0.999 (0.036)	13.942 (1.019)	239.090 (1.553)	0.99
Sévérité (Chou-fleur 2014)	1.067 (0.035)	8.525 (0.411)	262.258 (0.751)	0.92
Conidies (Brocoli 2013)	1.077 (0.079)	20.411 (3.049)	228.406 (4.096)	0.92
Sévérité (Brocoli 2014)	1.012 (0.011)	6.889 (0.219)	247.597 (0.278)	0.99

L'analyse de corrélation croisée entre les séries temporelles permet de préciser le délai entre la capture des spores et l'apparition des symptômes. Les valeurs de décalages sont significatives pour un délai de -5 et -7 ce qui correspond à un décalage de 10 et 14 jours, respectivement (Figure 2).

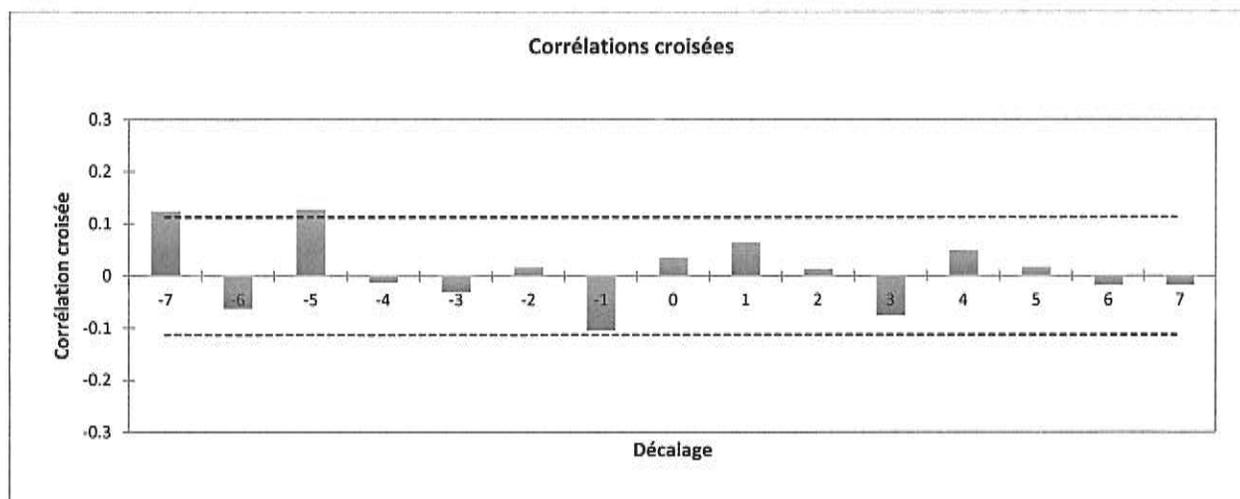


Figure 2 : Corrélation croisée entre la concentration aérienne de conidies et les symptômes d'*Alternaria sp.* Les valeurs de décalages significatives sont -5 et -7.

Établir un seuil d'intervention selon la concentration aérienne de conidies

En se basant sur l'analyse des modèles autorégressifs, un délai de 10 jours a été appliqué entre la concentration aérienne de conidies et la sévérité des symptômes. Un modèle de type mono moléculaire (Madden et al., 2007), où b est le taux de progression et a la sévérité maximale estimée (eq. 2) a ensuite été utilisé pour déterminer la concentration aérienne de conidies nécessaire à l'atteinte d'une sévérité moyenne de 5%.

$$(2) y = a(1 - e^{-bx})$$

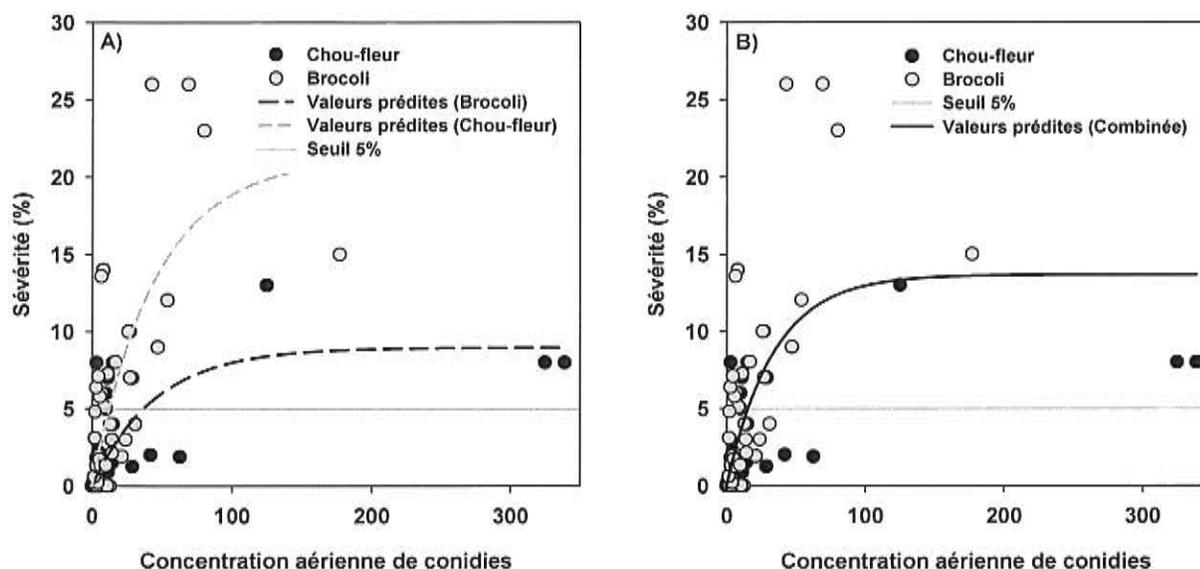


Figure 3 : Relation entre la concentration aérienne de spores d'*Alternaria sp.* et les symptômes sur les plants. L'ajustement d'un modèle a été réalisé A) séparément pour le brocoli et le chou-fleur et B) en combinant les deux jeux de données. Les cercles gris représentent le brocoli et les cercles noirs le chou-fleur, la ligne droite en rouge correspond à un seuil de tolérance fixé à 5% de symptômes sur le feuillage.

Ce type de relation entre la CAC et la sévérité est typique pour des essais réalisés en conditions commerciales. En effet, lorsque la pression de la maladie augmente au champ, le producteur intensifie la régie de traitements fongicides, ce qui réduit l'influence de la CAC sur la sévérité des symptômes. L'ajustement du modèle mono moléculaire a donc permis de dériver un seuil d'intervention à 37 conidies/m³ d'air pour le chou-fleur et à 12 conidies/m³ d'air pour le brocoli. Lorsque les données sont combinées, le seuil d'intervention passe à 16 conidies/m³ d'air.

Déterminer s'il y a corrélation entre les conditions météo et l'incidence de l'*Alternaria*

L'utilisation du coefficient de corrélation de Pearson (r) révèle une relation significative négative ($r = -0.261$, $p = 0.003$) entre la concentration aérienne de conidies et les précipitations, confirmant l'hypothèse selon laquelle les conidies d'*Alternaria sp.* ne sont pas émises lors de précipitations (Tableau 2). Pour ce qui est de la sévérité des symptômes, il existe une corrélation significative négative entre la sévérité et les températures maximum, moyenne et minimum ($r = -0.343$, -0.413 , -0.409 ; $p < 0.0001$), suggérant qu'une augmentation de la température réduirait la progression de la maladie au champ (Tableau 2).

Tableau 2 : Coefficients de corrélation de Pearson entre la concentration aérienne de conidie d'*Alternariasp.* et les paramètres météorologiques.

Variables	$r_{\ln(\text{conidies})}$	$p_{\ln(\text{conidies})}$	$r_{\text{sévérité}}$	$p_{\text{sévérité}}$
Maximum °C	0.110	0.219	-0.343	< 0.0001
Minimum °C	0.036	0.686	-0.413	< 0.0001
Moyenne °C	0.054	0.548	-0.409	< 0.0001
Humidité relative (%)	0.119	0.183	-0.024	0.789
Précipitation MM	-0.261	0.003	-0.014	0.876
ln spores	1	0	0.483	< 0.0001
sévérité	0.345	< 0.0001	1	0

Déterminer l'homogénéité spatiale de l'inoculum à l'échelle d'un champ.

L'analyse de l'hétérogénéité a été réalisée à trois niveaux : spatial, spatiotemporel et à l'échelle du champ. Au premier niveau, l'ajustement des lois de probabilité (Poisson pour une distribution aléatoire et binomiale négative pour une distribution hétérogène) a révélé la présence d'hétérogénéité. En effet, les observations suivent une distribution binomiale négative autant pour la CAC ($k_{moyen}=0.40$) que pour la sévérité des symptômes ($k_{moyen}=1.38$) (Figure 4). Au niveau de l'interprétation, le paramètre k doit être considéré comme un indice d'agrégation dont la valeur est inversement proportionnelle à l'importance de l'hétérogénéité (plus la valeur de k s'approche de 0, plus l'hétérogénéité est importante). De plus, pour ce test statistique, on cherche à accepter l'hypothèse nulle. Ainsi, lorsque la valeur de P est supérieure à 0.05, on accepte l'hypothèse nulle correspondant à la distribution testée.

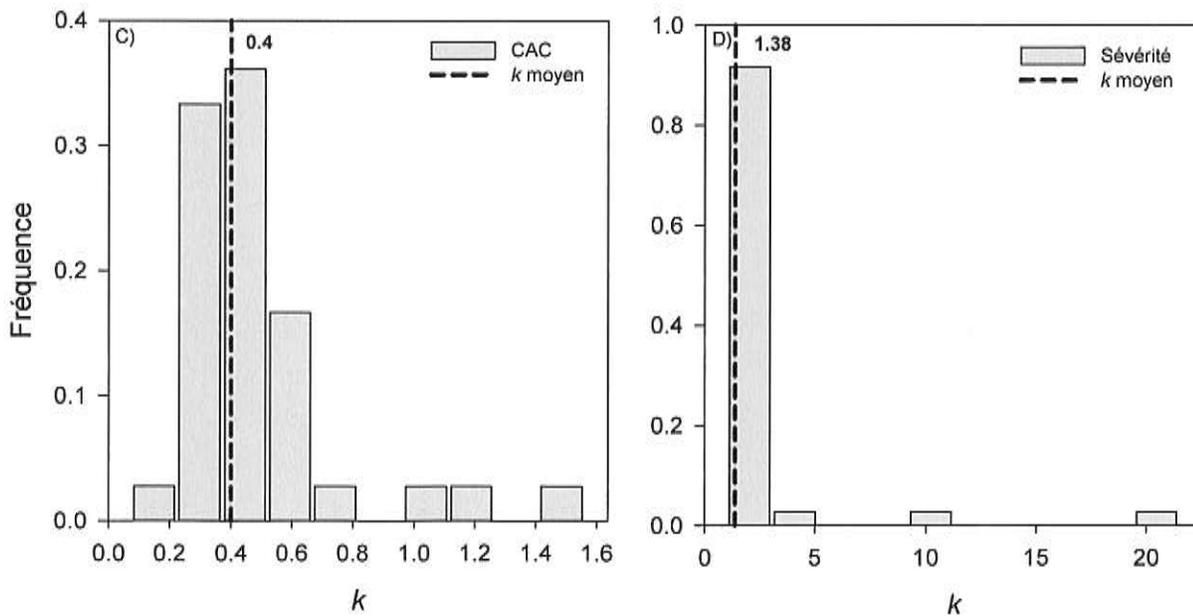


Figure 4 : Distribution de fréquence pour la valeur du paramètre de la distribution négative binomiale k .

Pour l'analyse de l'hétérogénéité spatio-temporelle, la loi de puissance de Taylor a été ajustée aux données observées. Cette analyse combine l'aspect spatial et l'aspect temporel, puisqu'elle combine la variabilité pour chaque date d'échantillonnage et la variabilité entre les dates d'échantillonnage. Elle met en relation la moyenne (M) et la variance (V) selon l'équation suivante :

$$\ln(V) = \ln A + b \ln M$$

Pour la CAC moyenne, la relation est décrite par l'équation suivante : $\ln(V_{CAC}) = -0.009 + 2.16 \ln(M_{CAC})$. Pour la sévérité des symptômes, l'équation est la suivante : $\ln(V_{SEV}) = 0.134 + 0.54 \ln(M_{SEV})$.

Ainsi, pour la CAC et la sévérité, la loi de puissance de Taylor explique adéquatement la variation ($R^2=0.91$ et $R^2=0.93$). Pour la CAC, la pente est significativement supérieure à 1 et l'ordonnée à l'origine n'est pas significativement différente de 0, ce qui suggère l'hétérogénéité et indique que celle-ci augmente avec l'augmentation de la moyenne (Figure 5A). Pour ce qui est de la sévérité moyenne, la pente de la droite de régression est significativement inférieure à 1 et l'ordonnée à l'origine n'est pas différente de 0 (Figure 5B). Ceci suggère que l'hétérogénéité est somme toute assez constante dans le temps et qu'elle n'augmente pas avec l'augmentation de la moyenne.

Ces résultats sont en accord avec ce qui a été rapporté dans d'autres patho systèmes, comme par exemple le blanc du fraisier (Van Der Heyden et al., 2013; Carisse et al., 2005; Gent et al., 2006; Turecheck et al., 2004; Pethybridge et al., 2010)

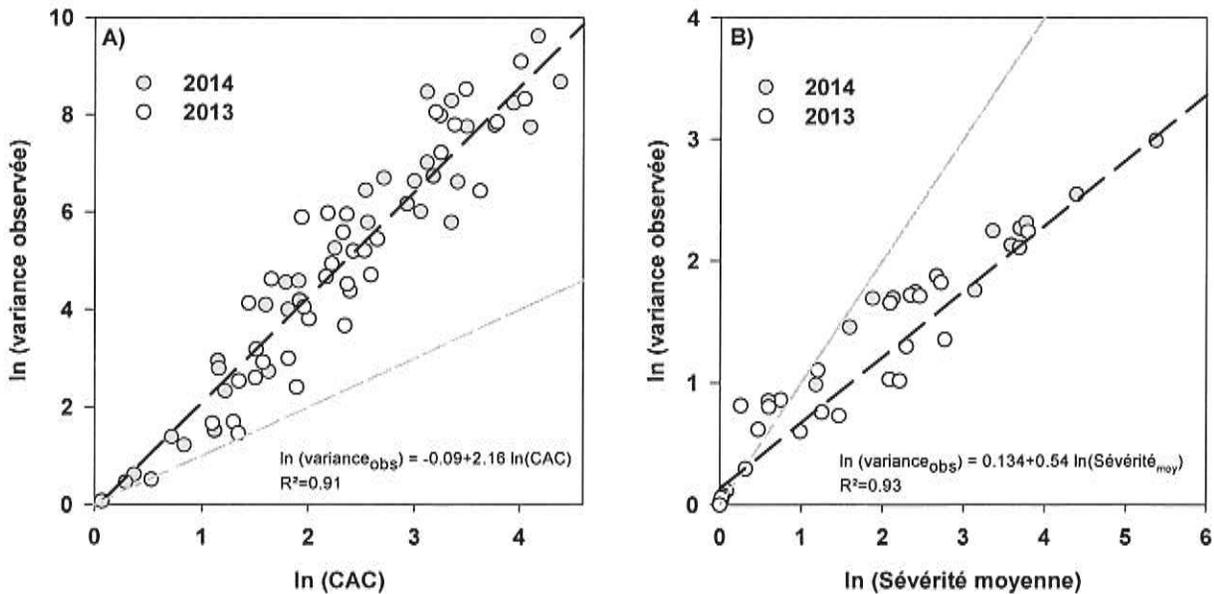


Figure 5: Ajustement de la loi de puissance sur la concentration de conidies ainsi que sur les symptômes d'*Alternaria* sp..

À l'échelle du champ, 25 capteurs ont été installés en 2014 pour former une grille 5X5 de 100m². Dans chacun des 25 quadras, la CAC et la sévérité des symptômes ont été mesurés à trois reprises. Il est possible d'observer des zones où l'intensité de la CAC et de la sévérité est plus importante.

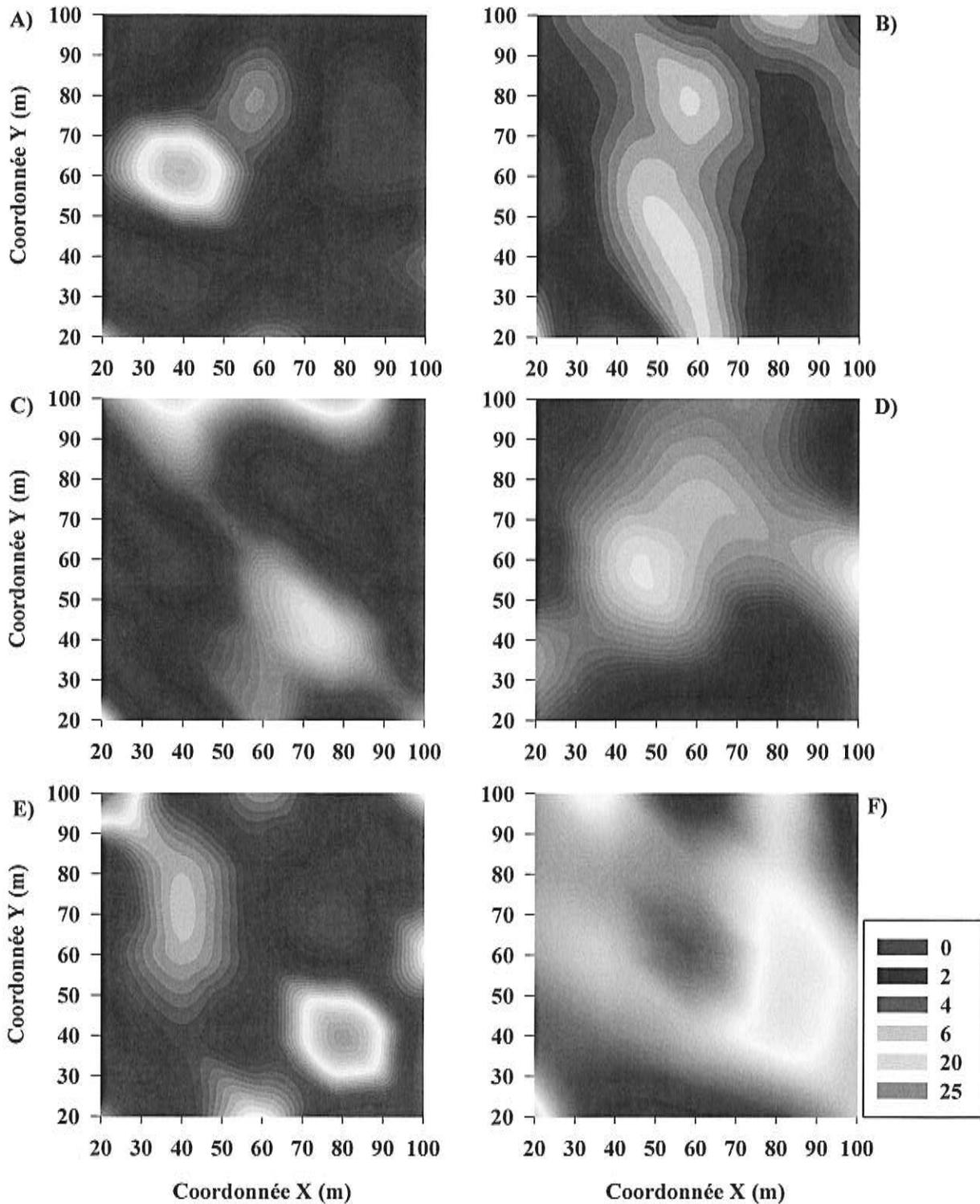


Figure 6 : Distribution spatiale des conidies (A, C, E) et de la sévérité (B, D, F) à l'échelle du champ pour trois dates d'échantillonnage.

APPLICATION POSSIBLE POUR L'INDUSTRIE ET SUITE À DONNER AU PROJET

Les résultats obtenus dans ce projet ont permis d'approfondir nos connaissances sur la distribution spatiale et temporelle de l'inoculum aérien d'*Alternaria sp.* et du patron d'infection de ce dernier. Grâce aux capteurs de spores, le potentiel de réduction de l'utilisation des fongicides dans les crucifères est possible. Ceci contribuerait à l'atteinte des objectifs de la stratégie phytosanitaire visant une réduction de l'utilisation des pesticides. En effet, la connaissance de l'abondance de l'inoculum aérien d'*Alternaria sp.* ainsi que la relation entre cette dernière et les symptômes occasionnés aux crucifères permettront aux producteurs de cibler les périodes de fort inoculum, de prioriser les applications de fongicides et de maximiser l'efficacité des traitements.

Les informations acquises dans ce projet, ajoutées aux autres projets déjà réalisés avec les capteurs de spores, pourront être transférées à d'autres cultures touchées par le même pathogène. Sachant que le projet a été réalisé dans des conditions commerciales, d'autres projets devraient être reconduits pour évaluer la relation entre l'inoculum aérien d'*Alternaria sp.* et les symptômes en conditions contrôlées afin d'éviter le biais induit par l'utilisation des fongicides.

Vu le grand nombre d'heures requis pour l'identification des spores à l'aide du microscope, nous proposons d'explorer la possibilité d'utiliser un outil de comptage moléculaire qui nous permettrait de réduire le temps de réponse pour les producteurs. Cette méthode pourrait également nous permettre de différencier les deux espèces d'*Alternaria sp.*, à savoir *A. brassicicola* et *A. brassicae* et d'identifier la présence d'autres pathogènes.

POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Nom du responsable du projet : Djamel Esselami

Téléphone : 514-977-1897

Courriel : desselami@prisme.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ce projet a été réalisé dans le cadre du programme Prime-Vert, sous-volet 11.1 - Appui à la Stratégie phytosanitaire québécoise en agriculture avec une aide financière du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation. Les auteurs tiennent à remercier la participation et le support des fermes participantes; Les Jardins Paul Cousineau & Fils Inc., Les Maraîchers Bec sucré Inc. et Maraîcher Dubuc & Frères Inc.