Cultivons l'avenir 2
Une initiative fédérale-provinciale-territoriale

Canada

Québec

PROGRAMME INNOV' ACTION AGROALIMENTAIRE

Rapport final

IA217784

Étude des facteurs agronomiques influençant les dommages de mouches des semis dans l'oignon et développement de marqueurs moléculaires pour l'identification des espèces en cause

Responsable scientifique : Anne-Marie Fortier

Établissement : Phytodata Inc.

Date de remise : 1er avril 2019

Section 1 - Chercheurs impliqués et responsable autorisé de l'établissement (ces personnes doivent également faire parvenir un courriel pour attester qu'ils ont lu et approuvent le rapport.)

Anne-Marie Fortier, M.Sc.
Entomologiste
Compagnie de recherche Phytodata inc.,
291 rue de la Coopérative, Sherrington QC, J0L 2N0
514-809-4263
afortier@phytodata.ca

Hervé Van der Heyden, M.Sc.
Phytopathologiste
Compagnie de recherche Phytodata inc.,
291 rue de la Coopérative, Sherrington QC, J0L 2N0
514-617-4986
hvanderheyden@phytodata.ca

Section 2 - Partenaires

Jade Savage, Ph.D.
Université Bishop's
819-822-9600 poste 2362
jsavage@ubishops.ca

Andréanne Lessard, M.Sc.
Université Bishop's
819-822-9600
anlessar@ubishops.ca

Section 3 – Fiche de transfert (max 2 à 3 pages)

Étude des facteurs influençant les dommages de mouches des semis dans l'oignon et développement de marqueurs moléculaires pour l'identification des espèces en cause

Anne-Marie Fortier et Hervé Van der Heyden

No de projet : IA217784 **Durée :** 05/2017 – 03/2019

FAITS SAILLANTS

Les mouches des semis, *Delia platura* et *D. florilega* peuvent causer des dommages considérables dans plusieurs cultures maraichères. Difficiles à différencier au stade adulte et identiques au stade larvaire, ces deux espèces sont souvent groupées en tant que complexe. Comme elles sont difficiles à différencier, on en connait très peu sur leur cycle de vie et sur leurs habitudes alimentaires. De plus, deux génotypes distincts de *D. platura* ont récemment été identifiés en Montérégie-Ouest dans différentes cultures échantillonnées (Savage et al. 2016). Dans l'oignon, elles ont longtemps été considérées comme ravageurs secondaires mais les dommages associés à ces espèces ont certainement été sous-estimés dans le passé. L'utilisation de plus en plus répandue des lâchers de mâles stériles de mouche de l'oignon a permis de mettre en lumière des problèmes de mouches des semis sur certaines fermes. L'identification des espèces et des génotypes impliqués dans les dommages est cruciale pour le développement d'une approche intégrée de lutte antiparasitaire, car chacune peut réagir différemment aux mesures de contrôle (insecticides, méthodes culturales, lâchers d'insectes stériles…), et chacune peut présenter un patron de distribution différent dans le temps et dans l'espace. Dans un contexte de lutte intégrée, il est également important de comprendre pourquoi la mouche des semis s'attaque à certains champs seulement, alors que sa présence sur les pièges collants est généralisée. Si nous n'arrivons pas à prédire quels champs auront des problèmes avec la mouche des semis, les producteurs de la région recommenceront à utiliser les insecticides granulaires au semis ou les traitements de semences de façon systématique. Quelques facteurs influençant les dommages de mouches des semis dans l'oignon ont été identifiés et expliquent de 20 à 34% de la variance. Un test de PCR en temps réel combiné à une analyse des courbes de dissociation à haute résolution (HRM) a été développé dans le cadre de ce projet, et permet de distinguer *D. florilega* et les deux lignées génétiques de *D. platura*.

OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE

Ce projet visait à étudier les facteurs qui influencent les dommages de *D. platura*/*D. florilega* dans l'oignon, et à développer une méthode moléculaire permettant l'identification de ces deux espèces, en plus des deux lignées génétiquement distinctes de *D. platura*. Les données de dépistage de tous les champs d'oignon sec dépistés par PRISME en 2017 et 2018 ont été mises en relation avec différents facteurs et l'influence de chacun d'eux sur la présence et l'intensité des dommages de mouches des semis a été caractérisée à l'aide d'un modèle linéaire généralisé (GLM). Un test moléculaire de type PCR-HRM, combinant un test de PCR en temps réel et une analyse des courbes de dissociation à haute résolution (HRM) a été développée avec des amorces amplifiant une région de 97pb sur le gène cytochrome oxydase I (COI). Cette région contient des polymorphismes nucléotidiques spécifiques à chaque espèce/lignée, lui conférant un T_m (température de dissociation) spécifique. Le test a été validé avec 102 larves collectées dans différentes cultures en 2017 et 2018 en comparant les résultats obtenus à ceux du séquençage.

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE

Identification des facteurs qui influencent l'importance des dommages de Delia platura et D. florilega dans la culture de l'oignon en sol organique

L'intensité des dommages a été divisée en quatre catégories (0 : 0%; 1 :]0%, 1%]; 2 :]1%, 3%]; 3 :]3%,

100%]), et les variables explicatives étaient l'année, le type d'implantation (transplant vs semis), la date de semis, le nombre de jours entre le semis et le stade étendard, le taux de matière organique du sol, l'utilisation de Lorsban au semis, l'utilisation de Sepresto, le type d'oignon (jaune, rouge, échalote), la variété, la maturité (hâtif, mi-saison, tardif), le précédent cultural, le périmètre du champ, le ratio périmètre/superficie du champ et le nombre moyen de captures de mouches des semis adultes par piège par jour. Deux modèles ont été élaborés; le premier, qui tient compte de la variable « captures moyennes », mais dont le nombre d'unités de dépistage utilisées est limité à 189, explique 34% de la variance, tandis que le second, qui tient compte d'un jeu de données plus grand mais qui exclut la variable « captures moyennes », explique 20% de la variance. Dans le deuxième modèle, qui utilise un échantillon plus représentatif, le type d'implantation, la date de semis, l'utilisation de Lorsban et le périmètre du champ ont un effet significatif sur le niveau de dommages (Tableau 1). Les dommages sont moins importants dans les champs où les oignons ont été plantés, et ceux-ci augmentent avec des dates de semis plus tardives. L'utilisation de Lorsban au semis réduit de façon significative la probabilité d'avoir des dommages et finalement, plus le périmètre du champ est grand, plus les dommages de larves de mouches des semis risquent d'être élevés.

Tableau 1. Modèle linéaire généralisé (structure d'erreur de Poisson) de l'effet de différentes variables environnementales sur l'intensité des dommages de mouches des semis dans l'oignon sec en sol organique.

Variable	Estimé	Erreur type	Valeur de *Z*	Valeur de *P*
Ordonnée à l'origine	-3.549	1.255	-2.83	0.005
Date de semis	0.026	0.009	2.86	0.004
Plantation	-1.248	0.255	-4.90	<0.001
Lorsban	-0.667	0.161	-4.15	<0.001
Périmètre	2.26e-4	1.12e-4	2.02	0.044

Développement de marqueurs moléculaires pour différencier D. florilega et les deux lignées génétiquement distinctes de D. platura.

Les résultats démontrent qu'en analysant les courbes de dissociation du produit PCR de chaque échantillon, il est possible de déterminer précisément son T_m et, dans ce cas-ci, l'espèce (ou lignée) de mouche des semis retrouvée (Figure 1). Une première substitution (G → A) distingue *D. florilega* des deux lignées de *D. platura*, tandis qu'une seconde substitution (G → A) distingue les deux lignées de *D. platura*. La température de dissociation était de 73,7°C, 73,3 °C et 72,8°C respectivement pour *D. platura* (AAA3453), *D. platura* (AAG2511) et *D. florilega.*

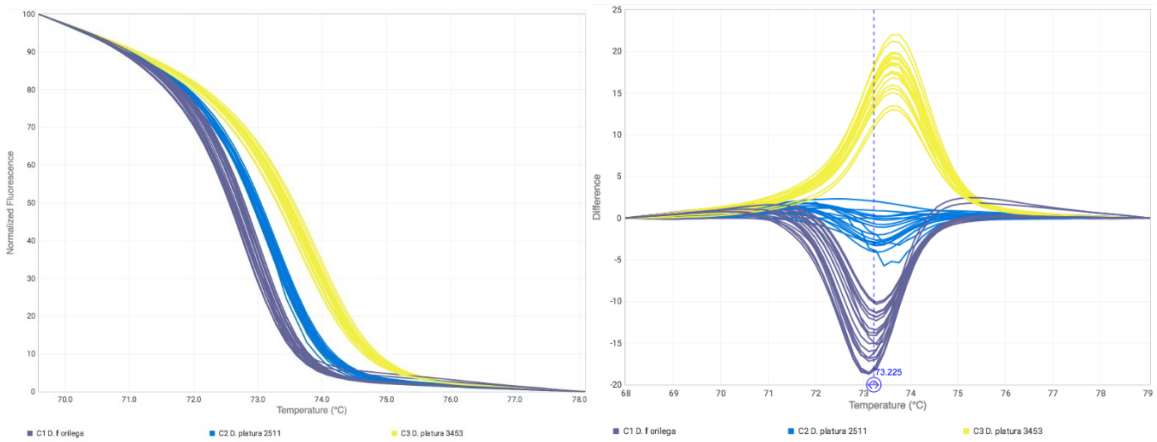


Figure 1. Analyse HRM des *Delia sp*. basée sur les amplicons obtenus à partir du gène COI. Les données des 74 spécimens ayant servi à la calibration sont présentées en A et B. (A) Données brutes de la courbe de fusion. Les lignes mauves représentent *D. florilega*, les lignes bleues *D. platura* AAG2511 et les lignes jaunes *D. platura* AAA3453. (B) Courbes de dissociation différentielle dérivées des données normalisées en utilisant la lignée AAG2511 comme référence.

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET/OU SUIVI À DONNER

Plus de 2100ha d'oignons sont produits annuellement au Québec, dont près de 90% dans la MRC des Jardins-de-Napierville. Ce projet visait à améliorer nos connaissances pratiques et à doter le milieu de nouveaux outils, afin d'aider les producteurs à prévoir les dommages de mouches des semis dans la culture de l'oignon. Une meilleure compréhension de l'impact des facteurs étudiés sur les attaques de *Delia platura/D. florilega* pourrait nous permettre de développer un outil d'aide à la décision pour le contrôle des dommages de mouches des semis dans l'oignon, ce qui aura pour conséquence directe la rationalisation de l'utilisation des insecticides en ciblant seulement les champs à risque. Grâce au caractère polyphage des espèces visées par le projet, les résultats obtenus pourront aussi être utiles à d'autres cultures. Toutefois, il serait souhaitable dans les prochaines années de bonifier la base de données, qui demeure somme toute assez limitée pour ce genre d'études, afin d'améliorer la robustesse du modèle.

L'identification des spécimens adultes (en particulier les femelles) des espèces de *Delia* s'attaquant le plus couramment aux cultures est problématique pour les personnes ne possédant pas une formation approfondie. De plus, aucun critère morphologique ne permet de différencier les œufs et larves du complexe de mouches des semis (*D. platura* et *D. florilega*). Notre capacité à identifier correctement et rapidement ces deux espèces, ainsi que les deux lignées distinctes de *D. platura*, pourrait donc s'avérer un facteur clé dans le succès des programmes de lutte intégrée. La méthode d'identification développée, combinée à une identification visuelle, permettra d'évaluer la composition et l'importance relative de toutes les espèces de *Delia* causant des dommages aux cultures maraîchères au Québec et au Canada, ce qui sera d'un intérêt majeur pour l'élaboration de protocoles de prévision et de prise de décision adaptés à chaque culture et chaque province. Tel qu'observé pour d'autres ravageurs ayant des populations génétiquement distinctes comme les aleurodes (Jiao et al., 2013) ou les mouches à fruits (Hendrichs et al., 2015), il est probable que des différences biologiques existent entre les deux lignées de *D. platura*, qui pourraient donc nécessiter des stratégies différentes pour leur contrôle. L'outil PCR-HRM développé nous permettra d'établir des colonies de laboratoire des deux lignées de *D. platura* afin de pouvoir étudier leur développement et préférences alimentaires respectifs, en plus de vérifier l'isolement reproductif.

POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Nom du responsable du projet : Anne-Marie Fortier, M.Sc.
Téléphone : 514-809-4263
Télécopieur : 450-454-5216
Courriel : afortier@phytodata.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme Innov'Action agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir 2 conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada. Nous tenons également à remercier PRISME, qui a contribué financièrement au projet, ainsi que tous les producteurs d'oignon ayant participé.

Section 4 - Activité de transfert et de diffusion scientifique (joindre en annexe la documentation en appui)	
Activité de transfert	Nom du document à l'appui
Présentation au congrès de la Société d'Entomologie du Québec, novembre 2018 (objectif 1)	Programme_SEQ2018.pdf, p.9
Présentation d'une affiche au congrès de la Société d'Entomologie du Québec, novembre 2018 (objectif 2)	Programme_SEQ2018.pdf, p.36
Article scientifique en préparation	

Section 5 - Activités de diffusion et de transfert aux utilisateurs (joindre en annexe la documentation en appui)	
Activité de transfert	Nom du document à l'appui
Présentation aux Journées Horticoles de St-Rémi en décembre 2018	ProgrammeJHGC2018.pdf
Présentation aux producteurs lors des journées d'information organisées par PRISME (février 2019)	2019Journées Prisme.pdf
Dépôt des documents de promotion sur les sites WEB du PRISME, du PELI et du CRAAQ (à déposer lorsqu'approuvé)	

Section 6 – Grille de transfert des connaissances

1. Résultats Présentez les faits saillants (maximum de 3) des principaux résultats de votre projet.	2. Utilisateurs Pour les résultats identifiés, ciblez les utilisateurs qui bénéficieront des connaissances ou des produits provenant de votre recherche.	3. Message Concrètement, quel est le message qui devrait être retenu pour chacune des catégories d'utilisateurs identifiées? Présentez un message concret et vulgarisé. Quels sont les gains possibles en productivité, en rendement, en argent, etc.?	4. Cheminement des connaissances a) Une fois le projet terminé, outre les publications scientifiques, quelles sont les activités de transfert les mieux adaptées aux utilisateurs ciblés? (conférences, publications écrites, journées thématiques, formation, etc.) b) Selon vous, quelles pourraient être les étapes à privilégier en vue de maximiser l'adoption des résultats par les utilisateurs.
Il est possible de distinguer *Delia platura* de *Delia florilega*, ainsi que les deux lignées de *D. platura* à l'aide de la méthode moléculaire développée (PCR-HRM).	Producteurs, conseillers et chercheurs	**Producteurs et conseillers** : Aucun critère morphologique ne permet de différencier les œufs et larves du complexe de mouches des semis (*D. platura* et *D. florilega*). Notre capacité à identifier correctement et rapidement ces deux espèces, ainsi que les deux lignées distinctes de *D. platura*, pourrait donc s'avérer un facteur clé dans le succès des programmes de lutte intégrée. **Chercheurs :** L'outil développé nous permettra d'établir un élevage des deux lignées de *D. platura* afin d'étudier leur développement, préférences alimentaires respectifs, en plus de vérifier l'isolement reproductif. Une meilleure connaissance du comportement des mouches du semis permettra à plus long terme le développement de méthodes de lutte spécifiques, qui pourront être incluses dans un programme de lutte intégrée visant le contrôle des ravageurs de l'oignon.	a) À court terme, la fiche de transfert et les résultats obtenus dans le cadre du projet seront transmis aux producteurs et conseillers directement impliqués dans le projet. Les résultats seront également diffusés à travers les sites internet de PRISME et d'Agri-Réseau. b) Un article scientifique (en préparation) sera proposé à la revue « Journal of Applied Entomology ». Un inventaire des espèces de *Delia* causant des dommages aux cultures de Brassicacées est prévu dans le cadre d'un projet pancanadien impliquant plusieurs chercheurs, ce qui sera d'un intérêt majeur pour l'élaboration de protocoles de prévision et de prise de décision adaptés à chaque culture et chaque province.
Des facteurs affectant la présence et l'importance de dommages de mouches des semis dans les oignons en sol organique ont été identifiés.	Producteurs et conseillers	Une meilleure compréhension de l'impact des facteurs étudiés sur les attaques de *Delia platura/D. florilega* aidera les conseillers et producteurs à prévoir les dommages dans la culture d'oignon, ce qui aura pour conséquence directe la rationalisation de l'utilisation des insecticides en ciblant seulement les champs à risque.	a) À court terme, la fiche de transfert et les résultats obtenus dans le cadre du projet seront transmis aux producteurs et conseillers directement impliqués dans le projet. Les résultats seront également diffusés à travers les sites internet de PRISME et d'Agri-Réseau. b) Il est souhaitable de bonifier la base de données en ajoutant au minimum deux autres saisons, afin d'améliorer la robustesse du modèle.

Section 7 - Contribution et participation de l'industrie réalisées

Le PRISME a contribué au projet en fournissant les données de dépistage d'oignon sec de tous ses producteurs membres, ainsi que certaines informations contenues dans leur Plan agroenvironnemental de fertilisation (PAEF). Les dépisteurs ont également investi du temps (1610$ en ressources humaines) afin de collecter les larves de mouches dans les oignons attaqués et le PRISME a contribué au projet en fournissant un montant de 12 880$ couvrant le salaire d'étudiants et professionnels. Les installations et équipements de Phytodata ont été prêtés et utilisés sous la supervision d'Hervé Van der Heyden. L'échantillonnage a été réalisé chez 16 producteurs en 2017 et 2018 :

- Le Maraîcher A. Barbeau & Fils
- Les Terres Maraîchères Barbeau Inc.
- Delfland Inc.
- Les Jardins A. Guérin & Fils
- Guérin & Frères
- Maraîcher J.P.L. Guérin & Fils
- Isabelle Inc.
- Jardins Ste-Clotilde Inc.
- Le Potager Montréalais Ltée
- Fermes Lefort Inc.
- Les Jardins Lefort Inc.
- Legault Michel & Lise
- Les Fermes du Soleil
- Les Fermes Hotte & Van Winden Inc.
- Productions horticoles Van Winden
- Vert Nature Inc.

Section 8 - Rapport scientifique et/ou technique (format libre réalisé selon les normes propres au domaine d'étude)

Introduction

Delia platura et *Delia florilega* sont de petits diptères de la famille des Anthomyiidae souvent retrouvés dans un même habitat (Miles, 1948; Miller et McClanahan 1960). Difficiles à différencier au stade adulte et identiques au stade larvaire, ces deux espèces présentent un cycle de vie et des habitudes alimentaires similaires et sont souvent groupées en tant que complexe (seed maggot complex) (Brooks, 1951). Le projet AIP-P043 a récemment permis de mettre à jour l'existence possible de deux lignées de *D. platura* (Savage et al., 2016). En effet, le séquençage de la région du gène COI décrite par Folmer et al. (1994) pour plus de 300 spécimens en provenance du Québec a permis d'identifier deux lignées distinctes (AAA3453 et AAG2511), séparées génétiquement par une distance de plus de 4%. Plus de 100 adultes et 50 spécimens de 3e stade larvaire de chacune de ces lignées ont été examinés, mais aucun critère morphologique ne permet de les différencier. Cependant, un patron distinct dans la distribution géographique de ces deux sous-espèces a été observé, en se basant sur des milliers de données disponibles dans la base de données BOLD (Barcode of LifeData System) : AAA3453 est presqu'entièrement limitée à l'Amérique du Nord et au Costa Rica alors que AAG2511 est retrouvée en Europe, en Asie, au Groenland et dans l'est du Canada. Le Québec est donc l'un des rares endroits où les deux lignées cohabitent, avec l'Ontario et les Maritimes.

Les mouches des semis sont des insectes polyphages qui peuvent s'attaquer aux semences en germination de plus de 40 espèces de plantes cultivées (Ristich, 1950; Griffiths, 1993; Howard et al., 1994). Au Canada, les adultes émergent tôt au printemps et causent d'importants dommages économiques dans plusieurs cultures. Dans l'oignon, la mouche des semis a longtemps été considérée comme un ravageur secondaire, et souvent rapportée en complexe avec la mouche de l'oignon *Delia antiqua* (Matthewman et al., 1950; Merrill et Hutson, 1953), mais le projet AIP-P043 a permis de confirmer son statut de ravageur primaire (Savage et al., 2016). Les larves s'attaquent de préférence aux graines en germination et aux jeunes plantules, qui fanent et meurent, mais elles peuvent aussi attaquer les plants matures. Les larves de mouches des semis sont également saprophytes et peuvent compléter leur développement sur de la matière organique en décomposition (Miller et McClanahan, 1960). Ce ravageur est d'ailleurs étroitement associé avec la présence de matières organiques telles que le fumier ou les résidus de cultures (Reid, 1936; Hammond, 1990).

Une fois les dommages visibles, aucun traitement efficace n'est disponible. Les méthodes actuelles de lutte contre les mouches du genre *Delia* sont basées sur l'utilisation massive d'insecticides, principalement le chlorpyrifos, un organophosphoré toxique pour la santé des utilisateurs et des consommateurs et identifié comme un contaminant majeur de l'eau de surface en zone de production maraîchère (Giroux et Fortin, 2010). L'alternative envisagée par l'industrie, soit un traitement des semences avec l'insecticide Sepresto, composé des néonicotinoïdes clothianidine et imidaclopride, ne représente guère une alternative durable. Malheureusement, bien que le piégeage des adultes nous permette d'en apprendre davantage sur l'écologie et la dynamique des populations de *Delia* spp. (Finch 1989; Broatch et Vernon, 1997; Broatch et al., 2006; Ellis and Scatcherd, 2007), il ne semble pas permettre de prédire l'abondance ou la composition des espèces causant les dommages (Savage et al, 2016). Dans l'oignon par exemple, une forte présence de mouches des semis a été rapportée dans l'ensemble des champs au cours des cinq dernières années, alors que des dommages sont observés dans une faible proportion d'entre eux seulement (données non publiées, Prisme). Il est important, dans un contexte de lutte intégrée, d'identifier adéquatement les espèces en cause mais aussi de comprendre pourquoi les mouches des semis s'attaquent à certains champs seulement, alors que leur présence sur les pièges collants est généralisée. Si nous n'arrivons pas à prédire les risques de dommages, les producteurs de la région recommenceront à utiliser les insecticides granulaires au semis ou les traitements de semences de façon systématique. Ce projet visait à étudier les facteurs qui influencent les dommages de *D. platura*/*D. florilega* dans l'oignon, mais aussi à développer des outils moléculaires permettant l'identification des espèces en cause, qui ne peuvent être différenciées autrement que par le marqueur COI.

Matériel et Méthode

Le projet visait à 1) identifier les facteurs qui influencent l'importance des dommages de *Delia platura* et *D. florilega* dans la culture de l'oignon en sol organique, et 2) développer une méthode moléculaire pour différencier ces deux espèces, en plus des deux lignées génétiquement distinctes de *D. platura*.

Identification des facteurs qui influencent l'importance des dommages de Delia platura et D. florilega dans la culture de l'oignon en sol organique

Chaque année au PRISME, un peu plus de 130 champs d'oignons en moyenne sont dépistés sur 18 fermes de la Montérégie Ouest, totalisant plus de 900 hectares. L'incidence des dommages causés par les mouches du genre *Delia* est évaluée une fois par semaine dans un minimum de 25 sites de 1 mètre par unité de dépistage. En présence de dommages, des larves ont été prélevées par les dépisteurs et identifiées afin de s'assurer que ceux-ci soient bien attribués aux espèces *D. platura/D. florilega*. Afin d'augmenter nos connaissances du comportement de *D. platura* et *D. florilega*, les données de dépistage de tous les champs d'oignon sec dépistés par PRISME en 2017 et 2018 ont été mises en relation avec différents facteurs afin de voir l'influence de chacun d'eux sur la présence et l'importance des dommages de mouches des semis dans l'oignon. La relation entre les différents facteurs et l'intensité des dommages a été caractérisée à l'aide d'un modèle linéaire mixte généralisé (GLMM). La variable réponse, soit le pourcentage de plants avec dommages, a été divisée en quatre catégories (0 : 0%; 1 :]0%, 1%]; 2 :]1%, 3%]; 3 :]3%, 100%]), et les variables explicatives sont présentées en annexe (Tableau 1). L'identité du champ a été inclue comme variable aléatoire et une distribution de Poisson a été utilisée. Les variables ont toutes été testées simultanément, et les variables non significatives (P>0,05) ont été retirées selon une procédure pas-à-pas descendante, jusqu'à l'obtention d'un modèle contenant uniquement des variables ayant un effet significatif.

Développement de marqueurs moléculaires pour différencier D. florilega et les deux lignées génétiquement distinctes de D. platura.

Un test moléculaire de type PCR-HRM, combinant un test de PCR en temps réel et une analyse des courbes de dissociation à haute résolution (HRM) a été développée. Les séquences du gène cytochrome oxydase I (COI) générées dans le cadre du projet AIP-P043 pour 10 spécimens de chacun des deux génotypes de *D. platura* et pour *D. florilega* ont été alignées à l'aide du logiciel Geneious (V9.1.3) et des amorces amplifiant une région de 97pb ont été conçues. Cette région contient des polymorphismes nucléotidiques spécifiques à chaque espèce/lignée, conférant à la région amplifiée un T_m (température de dissociation) spécifique à chaque espèce/lignée. Les larves ont été conservées dans l'éthanol 70% et l'ADN total de chaque individu a été extrait à l'aide du kit fast DNA (MP Biomedical). Pour la réaction de PCR, le mélange réactionnel était constitué de 300nM de chacune des deux amorces, 0.2*u*g/*u*l de BSA et 1X du mix MeltDoctor de ThermoFisher Scientific. Toutes les réactions ont été réalisées à l'aide du système PCR en temps réel QuantStudio 3 (ThermoFisher Scientific). Les courbes de dissociation résultantes ont été analysées avec le logiciel HRM V2.0 (ThermoFisher Scientific). La calibration de la méthode a été réalisée à l'aide d'un sous-échantillon indépendant de 74 spécimens (25 *Delia florilega*, 24 *D. platura* AAG2511 et 25 *D. platura* AAA3453) collectés en 2015 dans le cadre du projet AIP-P043 (Tableau 2, Annexe). Les résultats obtenus à l'aide de la méthode HRM ont été comparés aux résultats de séquençage obtenus antérieurement. Par la suite, le test a été validé à l'aide de 102 larves collectées dans différentes cultures en 2017 et 2018 (Tableau 3, Annexe). Pour ce faire, ces souches ont été identifiées selon la méthode PCR-HRM et séquencées, afin de valider les résultats obtenus. Finalement, une cinquantaine de spécimens de chacune des deux lignées de *D. platura* ont été envoyés pour un séquençage de la région ITS.

Résultats

Identification des facteurs qui influencent l'importance des dommages de Delia platura et D. florilega dans la culture de l'oignon en sol organique

Plus de 320 unités de dépistage (159 en 2017 et 168 en 2018) réparties sur 16 fermes de la Montérégie-Ouest ont été conservées pour la base de données initiale. Les unités ayant moins de quatre dates de

dépistage, un délai de plus de 14 jours entre deux dépistages, ou encore lorsque le dépistage débutait seulement en juin (excepté s'il commençait au stade étendard) ont été éliminées de la base de données. Les pourcentages de dommages ont été transformés en catégories d'intensité afin de corriger la distribution de la variable réponse (distribution de Poisson) et éliminer la surdispersion (Figure 1).

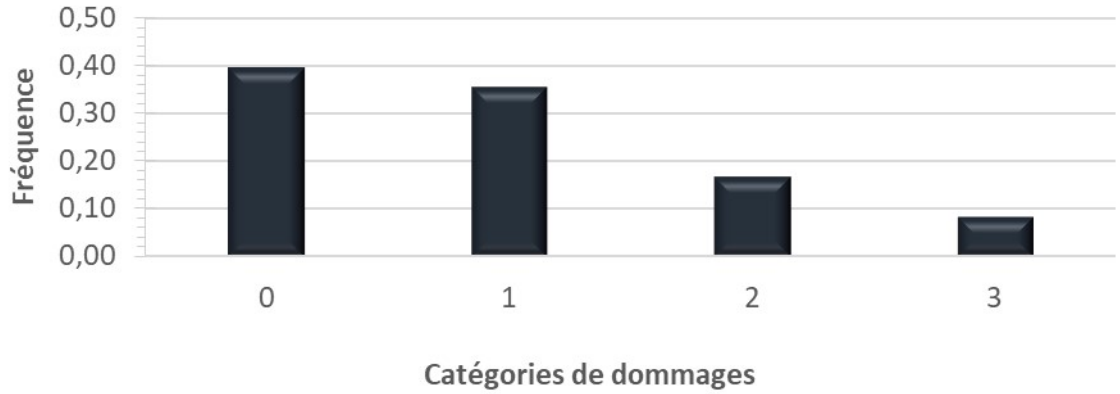


Figure 1. Fréquence relative des unités de dépistage utilisées pour l'analyse des facteurs influençant les dommages de mouches des semis, pour chacune des catégories de dommages.

Deux modèles ont été élaborés; le premier, qui tient compte de la variable « captures moyennes », mais dont le nombre d'unités de dépistage utilisées est limité à 189, explique 33,97% de la variance, tandis que le second, qui tient compte d'un jeu de données plus grand mais qui exclut la variable « captures moyennes », explique 20,35% de la variance. Dans le premier modèle, les variables explicatives ayant un effet significatif sur le niveau de dommages sont le type d'implantation ($P < 0{,}001$), la date de semis ($P = 0{,}003$), l'utilisation de Sepresto en traitement de semences ($P = 0{,}004$), les captures moyennes d'adultes ($P < 0{,}001$) et le pourcentage de matière organique du sol ($P = 0{,}016$) (Tableau 2). Il est à noter que l'effet négatif du pourcentage de matière organique sur le niveau de dommage est probablement un artéfact de la corrélation négative entre celui-ci et les variables « plantation » et « sepresto » (Figure 2).

Tableau 2. Modèle linéaire généralisé final (structure d'erreur de Poisson) de l'effet de différentes variables environnementales sur l'intensité des dommages de mouches des semis dans l'oignon sec en sol organique. L'identité du champ comme variable aléatoire n'était pas significative, et le modèle final n'est pas mixte (GLM).

Variable	**Estimé**	**Erreur type**	**Valeur de *Z***	**Valeur de *P***
Ordonnée à l'origine	-2.798	1.492	-1.88	0.061
Matière organique	-0.018	0.007	-2.41	0.016
Date de semis	0.029	0.010	2.93	0.003
Plantation	-2.088	0.453	-4.61	<0.001
Sepresto	-0.744	0.257	-2.90	0.004
Captures moyennes	0.061	0.018	3.39	<0.001

Les figures 3 à 6 en annexe représentent l'effet des différentes variables explicatives du modèle final sur le niveau de dommages de mouches des semis dans l'oignon. Les dommages sont moins importants dans les champs où les oignons ont été plantés (Figure 3), et ceux-ci augmentent avec des dates de semis plus tardives (Figure 4). Selon notre modèle, l'utilisation de Sepresto réduit de façon significative l'intensité des dommages (Figure 5a), même si le contraire semble être observé lorsque cette variable est prise en compte de façon individuelle, sans corriger pour l'effet des autres variables (Figure 5b). Finalement, plus les captures moyennes d'adultes sont importantes, plus les dommages de larves de mouches des semis risquent d'être élevés (Figure 6).

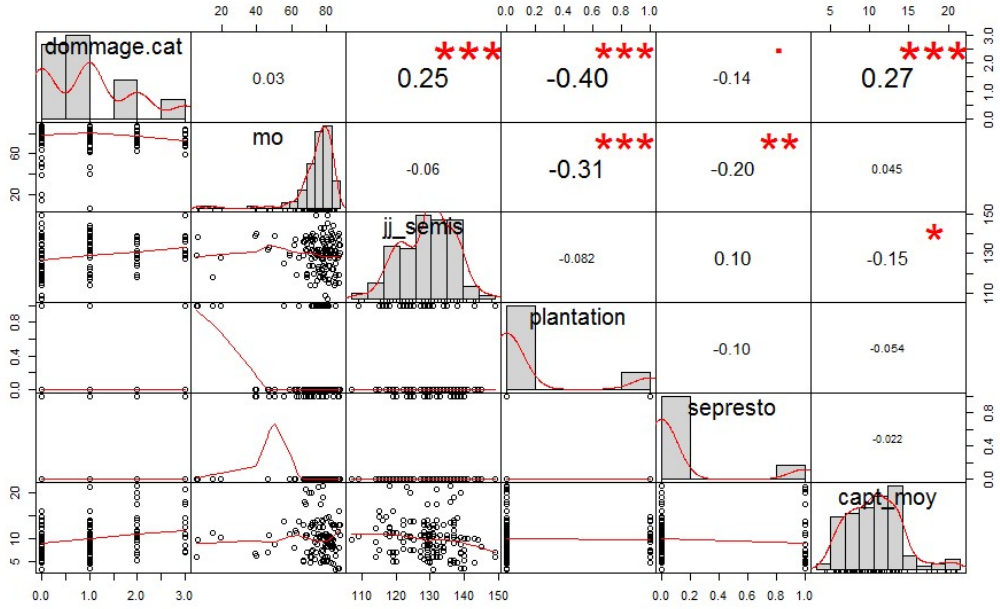


Figure 2. Matrice de corrélation de Pearson pour les variables incluses dans le modèle final. '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05

Dans le deuxième modèle, le type d'implantation (P < 0,001) et la date de semis (P = 0,004) ont toujours un effet significatif sur le niveau de dommages de mouches des semis, en plus de l'utilisation de Lorsban au semis (P < 0,001) et le périmètre du champ (P = 0,044) (Tableau 3). Bien que ce modèle ne tienne pas compte des captures moyennes d'adultes, qui ont aussi un effet significatif sur les dommages, il utilise néanmoins un échantillon plus représentatif de la réalité. Il est souhaitable dans les prochaines années de bonifier la base de données, qui demeure somme toute assez limitée pour ce genre d'étude, afin d'améliorer la robustesse du modèle. D'autres facteurs pourraient également être pris en compte, tels que l'utilisation de biostimulants, le type de culture de couverture ou encore la caractérisation des bordures.

Tableau 3. Modèle linéaire généralisé final (structure d'erreur de Poisson) de l'effet de différentes variables environnementales sur l'intensité des dommages de mouches des semis dans l'oignon sec en sol organique, en excluant la variable « captures moyennes ». L'identité du champ comme variable aléatoire n'était pas significative, et le modèle final n'est pas mixte (GLM).

Variable	Estimé	Erreur type	Valeur de *Z*	Valeur de *P*
Ordonnée à l'origine	-3.549	1.255	-2.83	0.005
Date de semis	0.026	0.009	2.86	0.004
Plantation	-1.248	0.255	-4.90	<0.001
Lorsban	-0.667	0.161	-4.15	<0.001
Périmètre	2.26e-4	1.12e-4	2.02	0.044

Développement de marqueurs moléculaires pour différencier D. florilega et les deux lignées génétiquement distinctes de D. platura.

Le PCR-HRM repose sur l'utilisation de molécules qui produisent une fluorescence seulement lorsqu'elles sont intercalées dans l'ADN double brin. Au cours de cette procédure, un court fragment d'ADN est amplifié par PCR en temps réel pour chaque échantillon testé. Par la suite la procédure utilise la température de dissociation pour détecter de petites différences dans la composition nucléotidique du fragment d'ADN amplifié (génotypage). À l'étape du HRM, le produit PCR double-brin nouvellement synthétisé est chauffé ce qui provoque la dissociation des deux brins d'ADN et par conséquent une chute de la fluorescence. La température à laquelle le produit PCR se dissocie complètement et relâche la molécule fluorescente est

appelée température de dissociation ou T_m. Ce T_m varie principalement en fonction de la séquence de nucléotides du produit PCR et de sa composition en GC. La figure 7 montre les courbes de dissociation obtenues pour les 74 spécimens ayant servi à la calibration (Tableau 3, Annexe). Les résultats démontrent qu'en analysant les courbes de dissociation du produit PCR de chaque échantillon, il est possible de déterminer précisément son T_m et, dans ce cas-ci, l'espèce (ou lignée) de mouche des semis retrouvée (Figure 7). Une première substitution (G → A) distingue *D. florilega* des deux lignées de *D. platura*, tandis qu'une seconde substitution (G → A) distingue les deux lignées de *D. platura*. La température de dissociation était de 73,7°C, 73,3 °C et 72,8°C respectivement pour *D. platura* (AAA3453), *D. platura* (AAG2511) et *D. florilega* (Figure 8). L'identité des 102 spécimens utilisés pour la validation a été confirmée par le séquençage du gène COI (Tableau 4). Des larves de *D. radicum* et *D. antiqua* ont également été utilisées pour la validation du test.

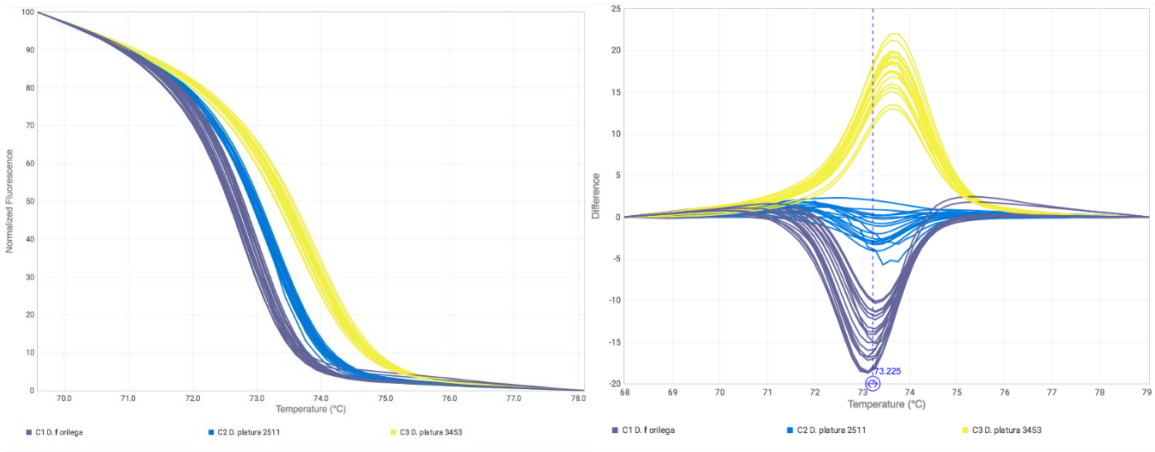


Figure 7. Analyse HRM des *Delia sp*. basée sur les amplicons obtenus à partir du gène COI. Les données des 74 spécimens ayant servi à la calibration sont présentées en A et B. (A) Données brutes de la courbe de fusion. Les lignes mauves représentent *D. florilega*, les lignes bleues *D. platura* AAG2511 et les lignes jaunes *D. platura* AAA3453. (B) Courbes de dissociation différentielle dérivées des données normalisées en utilisant la lignée AAG2511 comme référence.

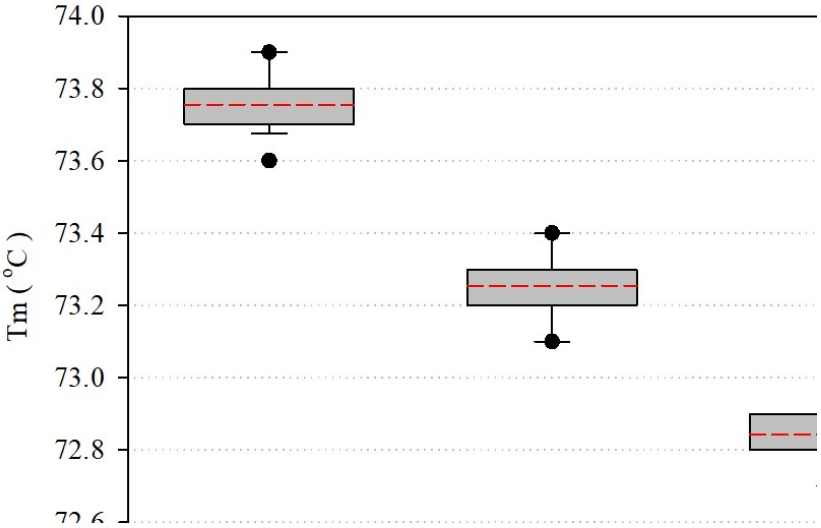


Figure 8. Distribution des températures de dissociation obtenues pour les 176 spécimens testés aux étapes de calibration et de validation.

Conclusion

Plus de 2100 hectares d'oignons secs sont produits annuellement au Québec (Profil sectoriel de l'industrie

horticole au Québec, 2018), dont près de 90% dans la MRC des Jardins-de-Napierville. Ce projet visait à améliorer nos connaissances pratiques et à doter le milieu de nouveaux outils, afin d'aider les producteurs à prévoir les dommages de mouches des semis dans la culture d'oignon. Une meilleure compréhension de l'impact des facteurs étudiés sur les attaques de *Delia platura/D. florilega* pourrait aussi nous permettre de développer un outil d'aide à la décision pour le contrôle des dommages de mouches des semis dans l'oignon. Une meilleure compréhension des facteurs favorisant les dommages de mouches des semis dans l'oignon aura pour conséquence directe la rationalisation de l'utilisation des insecticides en ciblant seulement les champs à risque. Les producteurs d'oignons pourront maintenir leurs rendements de qualité tout en diminuant leur empreinte environnementale. Grâce au caractère polyphage des espèces visées par le projet, les résultats obtenus pourront aussi être utiles à d'autres cultures.

L'identification des spécimens adultes (en particulier les femelles) des espèces de *Delia* s'attaquant le plus couramment aux cultures est problématique pour les personnes ne possédant pas une formation approfondie. De plus, aucun critère morphologique ne permet de différencier les œufs et larves du complexe de mouches des semis (*D. platura* et *D. florilega*). Notre capacité à identifier correctement et rapidement ces deux espèces, ainsi que les deux lignées distinctes de *D. platura*, pourrait donc s'avérer un facteur clé dans le succès des programmes de lutte intégrée. La méthode d'identification développée, combinée à une identification visuelle, permettra d'évaluer la composition et l'importance relative de toutes les espèces de *Delia* causant des dommages aux cultures maraîchères au Québec et au Canada, ce qui sera d'un intérêt majeur pour l'élaboration de protocoles de prévision et de prise de décision adaptés à chaque culture et chaque province. Tel qu'observé pour d'autres ravageurs ayant des populations génétiquement distinctes comme les aleurodes (Jiao et al., 2013) ou les mouches à fruits (Hendrichs et al., 2015), il est probable que des différences biologiques existent entre les deux lignées de *D. platura*, qui pourraient donc nécessiter des stratégies différentes pour leur contrôle. L'outil PCR-HRM développé nous permettra d'établir des colonies de laboratoire des deux lignées de *D. platura* afin de pouvoir étudier leur développement et préférences alimentaires respectifs, en plus de vérifier l'isolement reproductif. Une meilleure connaissance du comportement des mouches du semis (*D. platura et D. florilega)* permettra le développement de méthodes de lutte spécifiques à ces mouches qui pourront être incluses dans un programme de lutte intégrée visant le contrôle des ravageurs de l'oignon.

Références

Broatch, J.S. et Vernon, R.S. 1997. Comparison of water pan traps and sticky traps for monitoring *Delia* spp. (Diptera : Anthomyiidae) in canola. Can. Ent. 129: 979-984.

Broatch, J.S., Dosdall, L.M., Clayton, G.W., Harker, K.N., et Yang, R.-C. 2006. Using degree-day and logistic models to predict emergence patterns and seasonal flights of the cabbage maggot and seed corn maggot (Diptera : Anthomyiidae). Env. Ent. 35: 1166-177.

Brooks, A.R. 1951. Identification of the root maggots (Diptera : Anthomyiidae) attacking cruciferous garden crops in Canada, with notes on biology and control. Can. Ent. 83: 109-120.

Ellis, S.A. et Scatcherd, J.E. 2007. Bean seed fly (*Delia platura, Delia florilega*) and onion fly (*Delia antiqua*) incidence in England and an evaluation of chemical and biological control options. Ann. Appl. Biol. 151: 259-267.

Finch, S. 1989. Ecological considerations in the management of *Delia* pest species in vegetable crops. Ann. Rev. Ent. 34:117-137.

Giroux, I. et Fortin, J. 2010. Pesticides dans l'eau de surface d'une zone maraîchère - Ruisseau Gibeault- Delisle dans les « terres noires » du bassin versant de la rivière Châteauguay de 2005 à 2007, MDDEP et Université Laval, 978-2-550-59088-0 (PDF), 28 pages.

Hammond, R.B. 1990. Influence of cover crops and tillage on seedcorn maggot (Diptera: Anthomyiidae) populations in soybeans. Env. Ent. 19: 510-514.

Hendrichs J, Vera MT, De Meyer M, and Clarke AR. 2015. Resolving cryptic species complexes of major tephritid pests. In: De Meyer M, Clarke AR, Vera MT, Hendrichs J (Eds) Resolution of Cryptic Species Complexes of Tephritid Pests to Enhance SIT Application and Facilitate International

Trade. ZooKeys 540: 5–39.

Higley, L.G. et Pedigo, L.P. 1984. Seed corn maggot (Diptera: Anthomyiidae) population biology and aestivation in central Iowa. Env. Ent. 13: 1436-442.

Howard, R.J., Garland, J.A. et Seaman, W.L. (*Editors*) 1994. Disease and Pests of vegetable Crops in Canada. An Illustrated compendium. The Canadian Phytopathological Society and The Entomological Society of Canada, Ottawa, Canada.

Jiao, X., Xie, W., Wang, S., Wu, Q., Pan, H., Liu, B. and Zhang, Y. 2013. Differences in host selection and performance between B and Q putative species of *Bemisia tabaci* on three host plants. Entomol Exp Appl, 147: 1–8.

Matthewman, W.G., Rathwell, A.W. et Lachaine, J.P. 1950. Notes on the species of root maggots damaging onions, cabbage and radish at Ottawa in 1948. Can. Ent. 82: 12-16.

Merrill, L.G. et Hutson, R. 1953. Maggots attacking Michigan onions. J. Econ. Ent. 46: 678-680.

Miles, M. 1948. Field observations on the bean seed fly (seed corn maggot), *Chortophila cilicrura* Rond. and *C. trichodactyla* Rond. Bull. Ent. Res. 38: 559-574.

Miller, L.A. et McClanahan, J.R. 1960. Life-history of the seed-corn maggot, *Hylemya cilicrura* (Rond.) and of *H. liturata* (Mg) (Diptera : Anthomyiidae) in southwestern Ontario. Can. Ent. 92: 210-221.

Reid, W.J. 1936. Relation of fertilizers to seedcorn maggot injury to spinach seedlings. J. Econ. Ent. 29: 973-980.

Ristich, S.S. 1950. Biology of the seed-corn maggot, *Hylemya cilicrura* (Rondani) and preliminary studies on its control. PhD. Thesis. Cornell University, Ithaca, N.Y.

Savage, J., Fortier, A.-M., Fournier, F. et Bellavance, V. 2016. Identification of *Delia* pest species (Diptera: Anthomyiidae) in cultivated crucifers and other vegetable crops in Canada. Can. J. Arthropod Ident. 29: 1-40.

Annexe

Tableau 1. Description des variables explicatives utilisées dans le modèle initial.

Variable	Description	Type
annee	2017, 2018	numérique
jj_semis	Date de semis en jour julien (107-149)	numérique
nb_jrs_etendard	Nombre de jours entre le semis et le stade étendard (8-29)	numérique
plantation	Méthode d'implantation au champ (semis vs transplant)	catégorique
mo	% de matières organique du sol (5,7-88,9)	numérique
lorsban	Utilisation du Lorsban au semis (oui/non)	catégorique
sepresto	Utilisation de semences traitées au Sepresto (oui/non)	catégorique
type_oignon	Échalote, jaune, rouge, mix	catégorique
variete	Principales variétés d'oignon	catégorique
maturite	Hâtif, mi-saison, tardif, mix	catégorique
type_prec_cultural	Précédent cultural (Apiaceae, Brassicaceae, Liliaceae, laitue, Solanaceae, autres)	catégorique
perimetre	Périmètre du champ (350-2605 mètres)	numérique
ratio_perimetre_superficie	Ratio périmètre/superficie du champ (20-627 mètres/ha)	numérique
captures_moy	Nombre de mouches des semis par piège par jour (3,2-21,5)	numérique

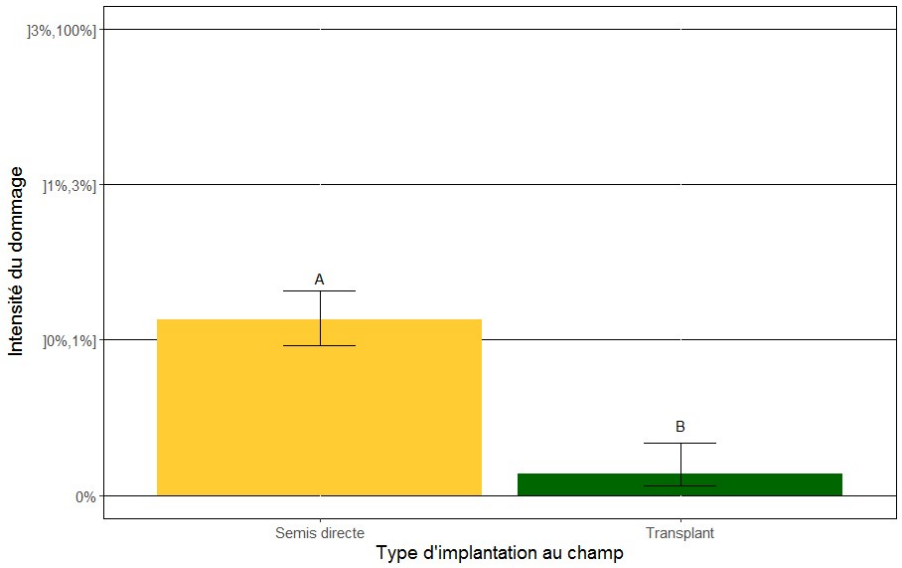


Figure 3. Intensité des dommages en catégories en fonction du type d'implantation au champ. Ce graphique présente les valeurs de dommages prédites par le modèle linéaire généralisé final, en corrigeant pour les autres variables du modèle.

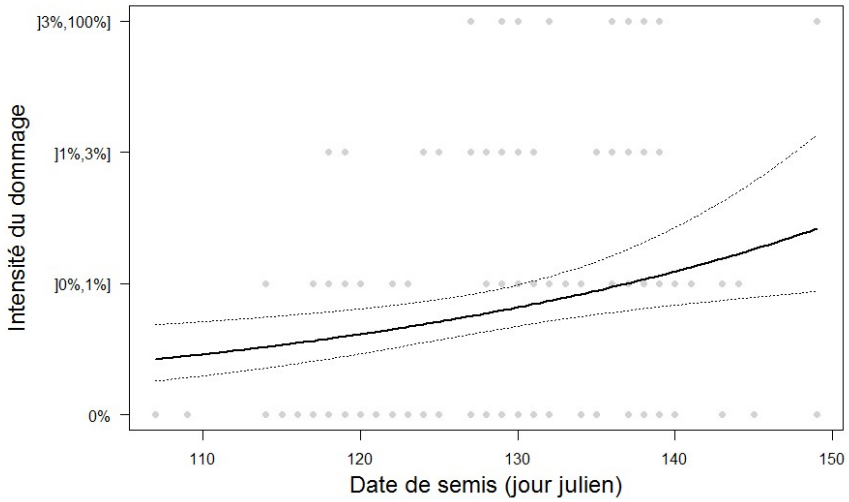
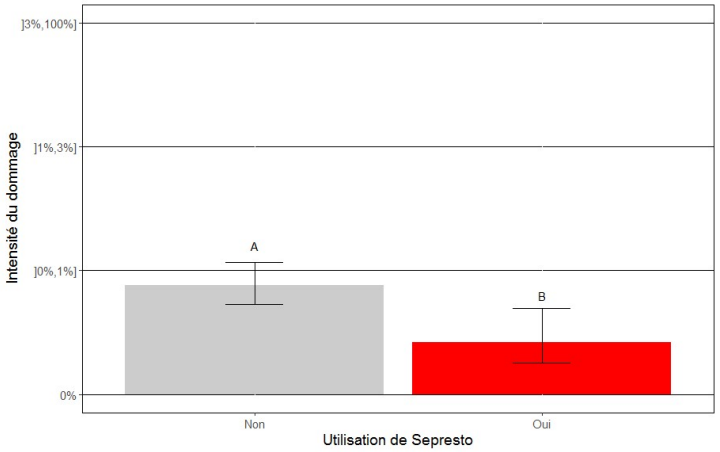


Figure 4. Intensité des dommages en catégories en fonction de la date de semis. Les points représentent les mesures réelles, et la courbe représente les valeurs de dommages prédites par le modèle linéaire généralisé final (± écart-type en pointillé), donc en corrigeant pour les autres variables explicatives du modèle.



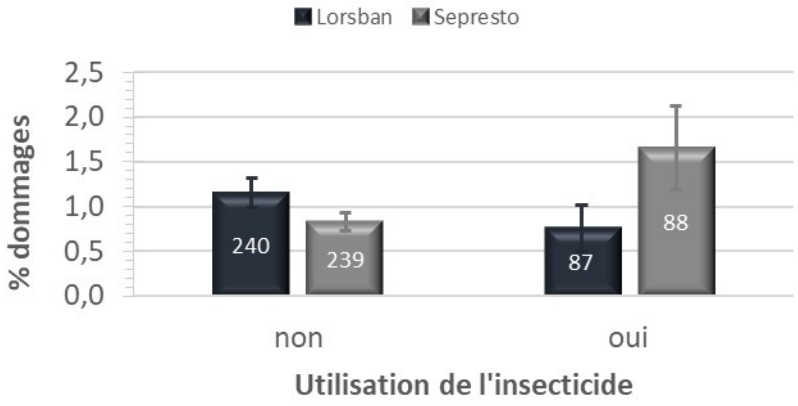


Figure 5. a) Intensité des dommages en catégories en fonction de l'utilisation de Sepresto. Ce graphique présente les valeurs de dommages prédites par le modèle linéaire généralisé final, en corrigeant pour les autres variables du modèle. **b)** Pourcentages moyens (± erreur-type) de dommages de mouches des semis pour les unités de dépistage utilisant ou non le Lorsban (P = 0,232, test Student) au semis ou le Sepresto (P = 0,015) en traitement des semences. Les chiffres à l'intérieur des barres correspondent au nombre d'unités de dépistage (N).

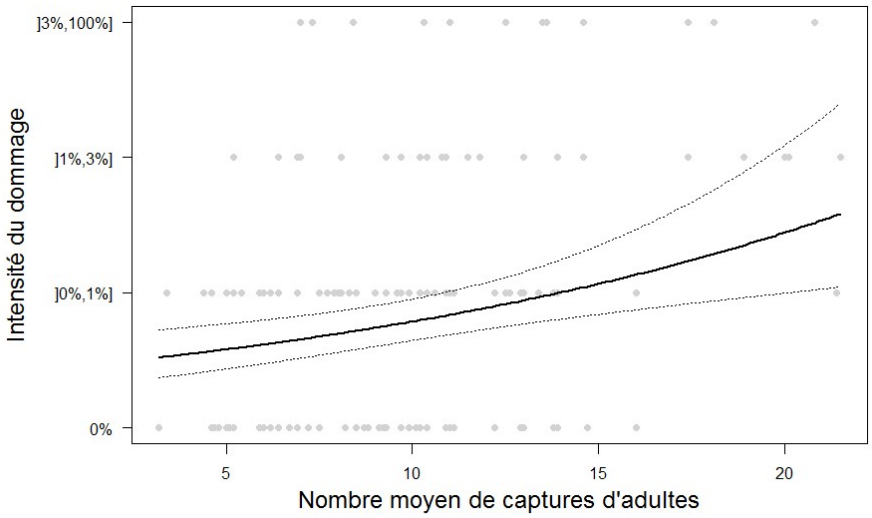


Figure 6. Intensité des dommages en catégories en fonction des captures moyennes d'adultes par piège par jour. Les points représentent les mesures réelles, et la courbe représente les valeurs de dommages prédites par le modèle linéaire généralisé final (± écart-type en pointillé), donc en corrigeant pour les autres variables explicatives du modèle.

Tableau 3. Liste des 74 spécimens collectés en 2015 dans le cadre du projet AIP-P043 et utilisés pour la calibration du PCR-HRM, et résultats obtenus par le séquençage de COI et à l'aide de la méthode PCR-HRM.

No.	Date d'échantillonnage	Culture	**Espèce (séquençage)**	**Résultats HRM**
BUIC-DIP391	N/A	N/A	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP392	N/A	N/A	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP393	N/A	N/A	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP571	27-05-2015	Brocoli	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP572	27-05-2015	Brocoli	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP573	27-05-2015	Brocoli	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP574	27-05-2015	Brocoli	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP575	27-05-2015	Brocoli	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP576	27-05-2015	Brocoli	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP577	27-05-2015	Brocoli	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP578	27-05-2015	Brocoli	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP580	28-05-2015	Brocoli	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP584	28-05-2015	Brocoli	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP586	28-05-2015	Brocoli	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP594	10-06-2015	Brocoli	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP595	10-06-2015	Brocoli	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP598	10-06-2015	Brocoli	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP601	10-06-2015	Brocoli	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP602	10-06-2015	Brocoli	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP604	10-06-2015	Brocoli	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP609	18-06-2015	Brocoli	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP610	18-06-2015	Brocoli	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP632	29-05-2015	Napa	*D. florilega*	*D. florilega*

BUIC-DIP637	03-06-2015	Napa	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP638	03-06-2015	Napa	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP643	17-06-2015	Napa	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP648	15-07-2015	Napa	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP650	22-07-2015	Napa	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP666	03-06-2015	Napa	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP667	03-06-2015	Napa	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP674	27-05-2015	Brocoli	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP677	27-05-2015	Brocoli	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP682	04-06-2015	Brocoli	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP718	27-05-2015	Brocoli	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP721	27-05-2015	Brocoli	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP722	27-05-2015	Brocoli	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP749	10-06-2015	Napa	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP958	20-05-2015	Oignon sec	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP969	02-05-2015	Oignon vert	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP976	01-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP977	01-06-2015	Oignon vert	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP980	01-06-2015	Oignon vert	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP983	01-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP985	01-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP989	02-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP992	02-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP995	04-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP997	04-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP1004	05-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP1006	05-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1007	05-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1008	05-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1009	05-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1010	05-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP1013	10-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1014	10-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1015	10-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP1017	10-06-2015	Oignon sec	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1023	11-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1024	11-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1025	11-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1026	04-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1027	11-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP1028	11-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP1029	11-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1030	11-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1031	11-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 2511	*D. platura* 2511
BUIC-DIP1032	11-06-2015	Oignon vert	*D. platura* 3453	*D. platura* 3453
BUIC-DIP1095	N/A	Oignon vert	*D. florilega*	*D. florilega*

BUIC-DIP1096	N/A	Oignon vert	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP1098	N/A	Chou	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP1131	N/A	Oignon vert	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP1135	N/A	Oignon vert	*D. florilega*	*D. florilega*
BUIC-DIP1138	N/A	Oignon vert	*D. florilega*	*D. florilega*

Tableau 4. Liste des 102 spécimens collectés en 2017 et 2018 et utilisés pour la validation du PCR-HRM, et comparaison des résultats obtenus avec ceux obtenus par séquençage.

No.	Date	Culture	Identification HRM	Identification Séquençage
Am1	2017-05-04	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am21	2017-05-24	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am23	2017-05-24	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am25	2017-05-25	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am27	2017-05-26	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am35	2017-05-31	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am40	2017-05-31	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am45	2017-05-30	Échalote française	***D. florilega***	***D. florilega***
Am51	2017-05-30	Échalote française	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am58	2017-06-01	Oignon vert	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am59	2017-06-01	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am62	2017-06-01	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am73	2017-06-07	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am81	2017-06-07	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am86	2017-06-08	Oignon vert	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am133	2017-06-08	Brocoli	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am134	2017-06-08	Brocoli	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am153	2017-06-26	Radis	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am176	2017-06-29	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am178	2017-07-12	Oignon vert	***D. florilega***	***D. florilega***
Am181	2017-06-13	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am188	2017-06-19	Oignon vert	***D. florilega***	***D. florilega***
Am194	2017-06-20	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am2	2017-05-19	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am3	2017-05-24	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am5	2017-05-10	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am6	2017-05-10	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am7	2017-05-15	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am8	2017-05-17	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am9	2017-05-18	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am10	2017-05-18	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am11	2017-05-17	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am13	2017-05-19	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am14	2017-05-19	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am15	2017-05-19	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am16	2017-05-22	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**

Am17	2017-05-23	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am19	2017-05-23	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am22	2017-05-24	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am30	2017-05-24	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am32	2017-05-30	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am33	2017-05-31	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am34	2017-05-31	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am36	2017-05-31	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am37	2017-05-31	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am38	2017-05-31	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am39	2017-05-31	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am43	2017-05-31	Échalote française	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am54	2017-05-31	Échalote française	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am61	2017-06-01	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am64	2017-06-01	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am67	2017-06-02	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am68	2017-06-02	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am71	2017-06-05	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am74	2017-06-07	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am77	2017-06-07	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am78	2017-06-07	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am84	2017-06-08	Oignon vert	***D. florilega***	***D. florilega***
Am85	2017-06-08	Oignon vert	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am87	2017-06-07	Oignon vert	***D. florilega***	***D. florilega***
Am90	2017-06-12	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am92	2017-06-09	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am94	2017-06-12	Oignon vert	***D. florilega***	***D. florilega***
Am102	2017-06-16	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***
Am107	2017-06-27	Oignon vert	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am108	2017-06-29	Oignon vert	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am109	2017-06-29	Oignon sec	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am113	2017-07-14	Oignon vert	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am115	2017-08-04	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am116	2017-08-24	Oignon vert	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am117	2017-06-01	Radis	***D. florilega***	***D. florilega***
Am120	2017-07-11	Brocoli	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am121	2017-08-28	Chou chinois	***D. florilega***	***D. florilega***
Am125	2017-06-02	Chou-fleur	***D. florilega***	***D. florilega***
Am127	2017-06-08	Brocoli	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am128	2017-06-08	Brocoli	***D. florilega***	***D. florilega***
Am129	2017-06-08	Brocoli	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am136	2017-06-12	Radis	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am137	2017-06-12	Radis	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am138	2017-06-12	Laitue	***D. florilega***	***D. florilega***
Am139	2017-06-12	Laitue	***D. florilega***	***D. florilega***
Am140	2017-06-12	Chou chinois	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**

Am145	2017-06-09	Brocoli	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am148	2017-06-13	Chou-fleur	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am149	2017-06-15	Brocoli	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am150	2017-06-15	Brocoli	***D. florilega***	***D. florilega***
Am151	2017-06-15	Brocoli	***D. florilega***	***D. florilega***
Am154	2017-06-26	Radis	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am155	2017-06-30	Céleri	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am157	2017-07-04	Chou chinois	***D. florilega***	***D. florilega***
Am160	2017-07-04	Chou chinois	***D. florilega***	***D. florilega***
Am162	2017-07-11	Céleri	***D. florilega***	***D. florilega***
Am165	2017-07-12	Laitue	***D. platura* 3453**	***D. platura* 3453**
Am166	2017-07-12	Laitue	***D. florilega***	***D. florilega***
Am167	2017-07-12	Laitue	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am169	2017-07-20	Céleri-rave	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am172	2018-05-14	Élevage	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am173	2018-05-14	Élevage	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am174	2018-05-14	Élevage	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am175	2018-05-14	Élevage	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am213	2018-06-05	Oignon sec	***D. platura* 2511**	***D. platura* 2511**
Am214	2018-06-05	Oignon sec	***D. florilega***	***D. florilega***