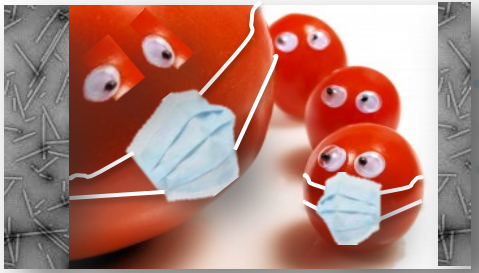


LE VIRUS DU FRUIT RUGUEUX BRUN DE LA TOMATE (TOBRFV)

SOUS HAUTE SURVEILLANCE EN SERRES:

QUE SAIT-ON ACTUELLEMENT SUR LE VIRUS DE LA 'RUGOSE'?

Par Liette Lambert, agronome, MAPAQ

15 janvier 2021

Votre gouvernement

Québec

Formation ToBRFV

Liette Lambert, MAPAQ

Virus - Plantes hôtes – Modes de transmission - Symptômes
Prévention et Biosécurité- Produits efficaces - Que faire en production biologique?

Agronome-expert, serriculture maraîchère, MAPAQ

Sophia Boivin, MAPAQ

Réglementation et exportations

Agronome, coordonnatrice mesures législatives et d'urgence en phytoprotection au MAPAQ

Antoine Dionne, MAPAQ

Analyses-détection

Phytopathologiste, Laboratoire de diagnostic en phytoprotection du MAPAQ

Geneviève Marchand , AAC

Recherches et développement

Phytopathologiste, Centre de recherche d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, Harrow, Ontario

Votre gouvernement

Québec

Fiche technique sur le virus du fruit rugueux brun de la tomate

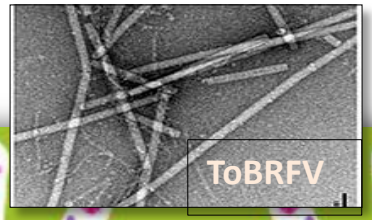
VIRUS DU FRUIT RUGUEUX BRUN DE LA TOMATE (ToBRFV)

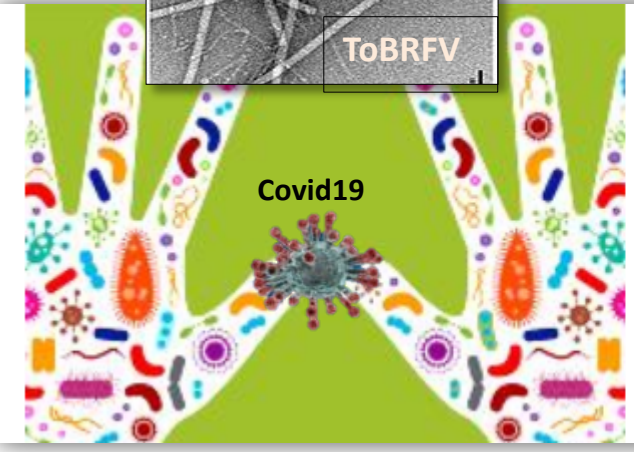
1ère publication : 31 mai 2019
2ième édition: 20 décembre 2019
3ième édition: 9 novembre 2020

+ Annexe:
BONNES PRATIQUES D'HYGIÈNE ET DE BIOSÉCURITÉ POUR UNE GESTION OPTIMALE DU ToBRFV

Votre gouvernement

Québec





Les virus

Les virus sont des agents infectieux microscopiques constitués de matériel génétique (ADN ou ARN) entouré d'une enveloppe protectrice.

Les virus ne peuvent se reproduire qu'au sein de cellules hôtes (cellules infectées).

Ne possédant aucun système pour assurer leur propre réplication, ils utilisent les ressources des cellules qu'ils parasitent. Pour cette raison, ils sont généralement considérés comme n'étant pas vivants.

La cellule exécute le programme génétique du virus : elle reproduit ainsi ce dernier en nombreux exemplaires qui pourront sortir de cette cellule pour en infecter de nouvelles.

Means of spread[1]	Examples of genera
Humans	*Tobamovirus*, *Potexvirus* PEPMV- virus de la mosaïque du Pépino
Fungi[3]	*Carmovirus*, *Tombusvirus Ophiovirus*, *Furovirus*, *Bymovirus*
Nematodes	*Nepovirus*, *Tobravirus*
Mites	*Rymovirus*, *Pigeon pea sterility mosaic virus*
Thrips	*Tospovirus* TSWV- Maladie bronzée de la tomate; INSV – Maladie des taches nécrotiques de l'impatiens
Beetles	*Comovirus*, *Tymovirus*
Aleurodes	*Begomovirus*, *Crinivirus*
Leafhoppers[4,5]	*Phytoreovirus*, *Mastrevirus*, *Tenuivirus*
pucerons	*Potyvirus*, *Luteovirus*, *Cucumovirus*, *Closterovirus*

Ex: l'agent des anneaux nécrotiques de la laitue (LRNV) par le champignon ***Olpidium***

Ng & Falk 2006 *Ann. Rev. Phytopathol.*44:

Virus du Genre Tobamovirus bien connus:

TMV- ToMV (Virus de la mosaïque de la tomate (ToMV) ou du tabac (TMV)

CGMMV (Virus de la marbrure du concombre)

PMMoV (Virus de la marbrure légère du poivron)

… Et le ToBRFV !

PLANTES HÔTES

- **Tomates** : Toutes variétés confondues – aux symptômes variables…
  - Pertes et symptômes variables – de 15 à 100% (pays chauds)
  - *Pourquoi?* Le virus ToBRFV contourne le gène Tm2 $^{-2}$ de la plupart des variétés aujourd'hui résistantes au TMV-ToMV

- **Poivrons et piments:**
  - *Capsicum annuum* (doux-chili-jalapeno…) et *Capsicum chinensis* (fort- habanero-)
  - Possèdent le gène L qui les protègent en général – symptômes plutôt légers.

- **Plantes ornementales et mauvaises herbes**: souvent sans symptômes mais contenant les virus
  - **Pétunia**s et plusieurs espèces de *Nicotiana* (p. ex. : tabac)
  - ***Chenopodium*** spp. (chou gras)
  - *Solanum nigrum (morelle noire)*

Chénopode sain et infecté

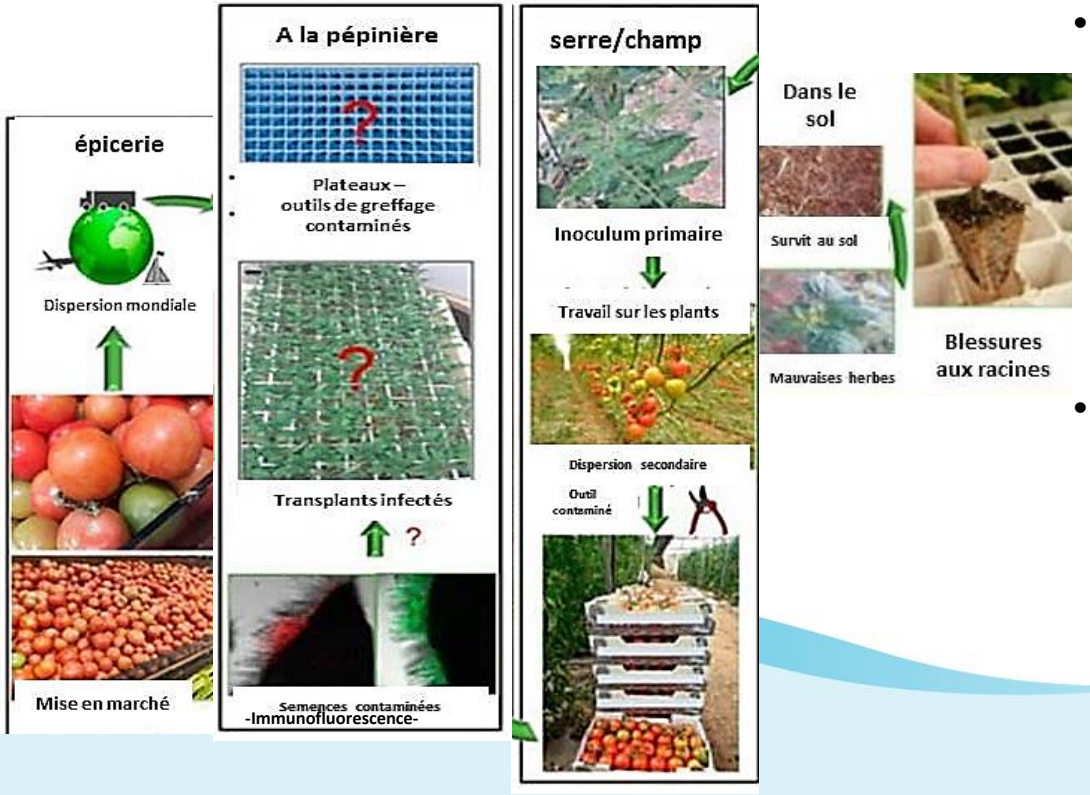
Morelle noire

Votre gouvernement

Québec

MODES DE TRANSMISSION

Les *Tobamovirus* se transmettent facilement par **contact de la sève du plant**
TRÈS **CONTAGIEUX**,
ROBUSTE, **STABLE** (peu de variantes des souches actuelles dans le monde)



- **Par l'humain**
  - *Localement:*
    - transmission mécanique par : travailleurs, visiteurs, équipements, outils….
  - *Sur de longues distances*:
    - semences, transplants, fruits, contenants réutilisables…
- **Par la nature:**
  - Pollinisateurs (bourdons en serre)
  - Oiseaux (extérieur)
  - Eau

Québec

MODES DE TRANSMISSION

Detection of emerging tobamoviruses in wastewater and irrigation water

Katarina Bačnik[1,2], Olivera Maksimović Carvalho Ferreira[1,2], Denis Kutnjak[1], Ana Vučurović[1,3], Anja Pecman[1,2], Nataša Mehle[1], Maja Ravnikar[1,4], Ion Gutierrez-Aguirre[1]

[1] National Institute of Biology, Ljubljana, Slovenia, [2] International Postgraduate School "Jožef Stefan", Ljubljana, Slovenia, [3] University of Belgrade-Faculty of Agriculture, Belgrade, Serbia, [4] University of Nova Gorica, Nova Gorica, Slovenia

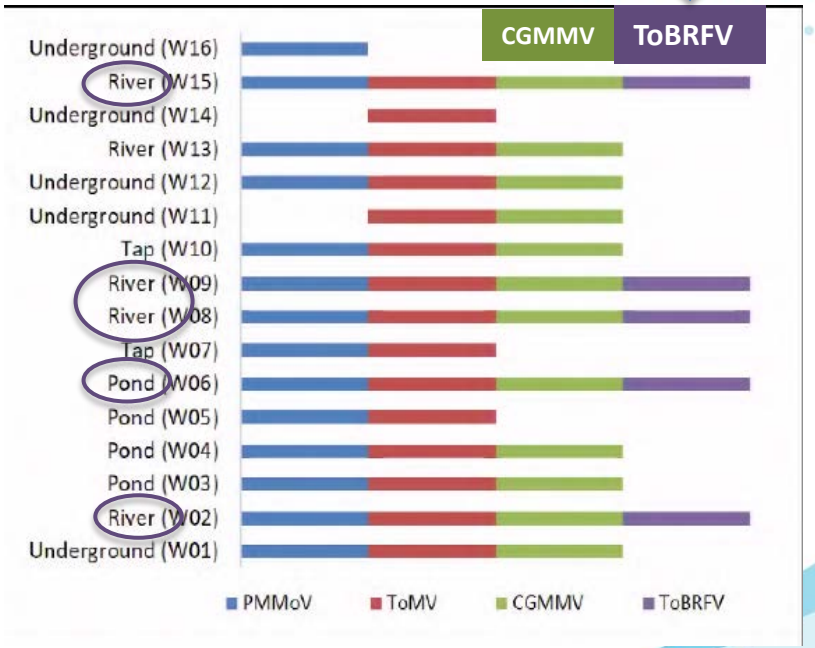
Tomato brown rugose fruit virus and Cucumber green mottle mosaic virus, two emerging tobamoviruses threatening tomato and cucurbit crops worldwide - WEBINAR

aab
ASSOCIATION OF APPLIED BIOLOGISTS

PROGRAMME (Timings are UK GMT)

(Start time Europe: 17:00; West Coast USA: 08:00)

Wednesday 2 December



Votre gouvernement

Québec

agronomy

MDPI

Article

Spread of Tomato Brown Rugose Fruit Virus in Sicily and Evaluation of the Spatiotemporal Dispersion in Experimental Conditions

Stefano Panno [1,*,†], Andrea Giovanni Caruso [1,†], Stefano Barone [1], Giosuè Lo Bosco [2], Ezequiel A. Rangel [3] and Salvatore Davino [1,4,*]

Published: 12 June 2020

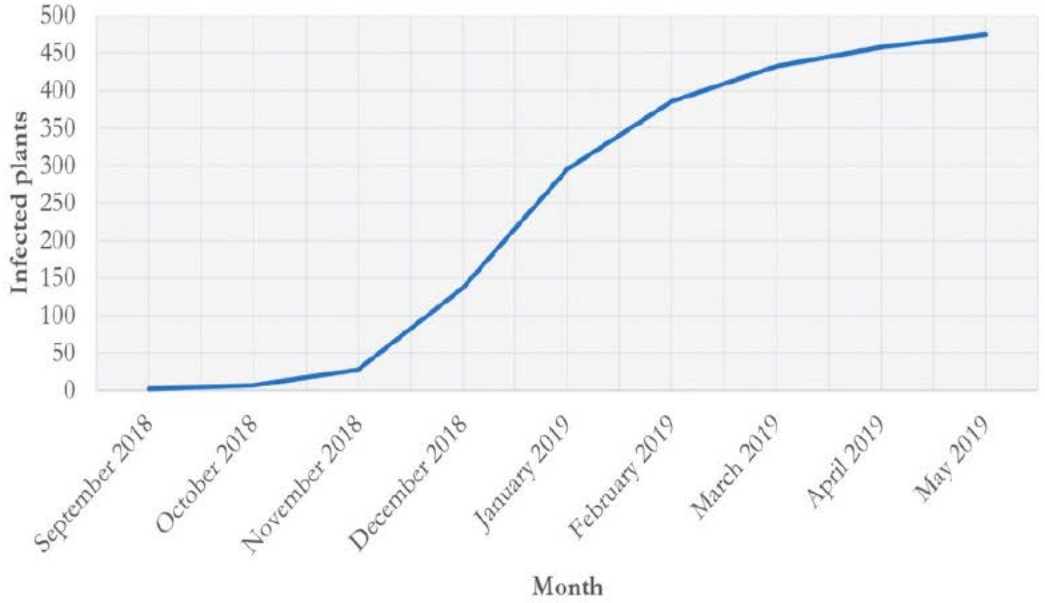
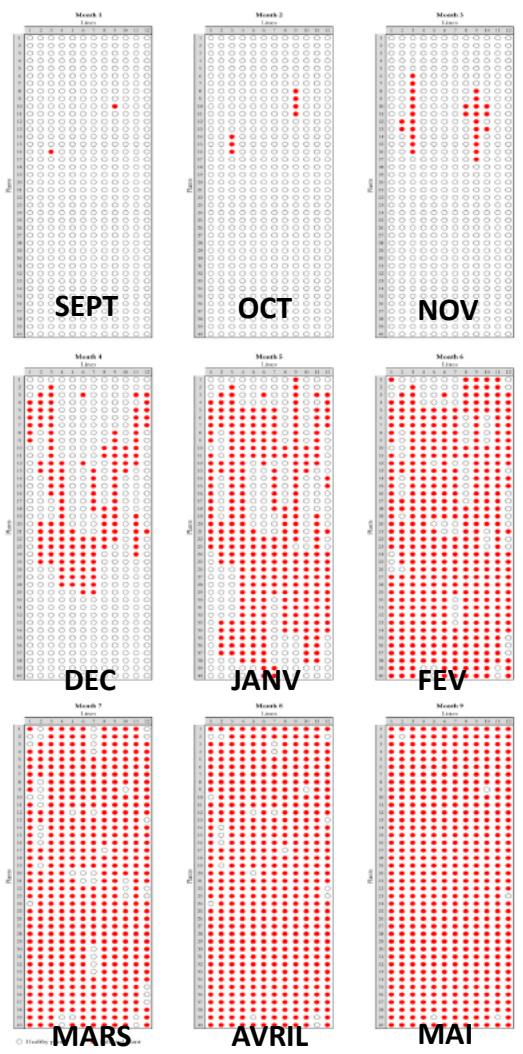


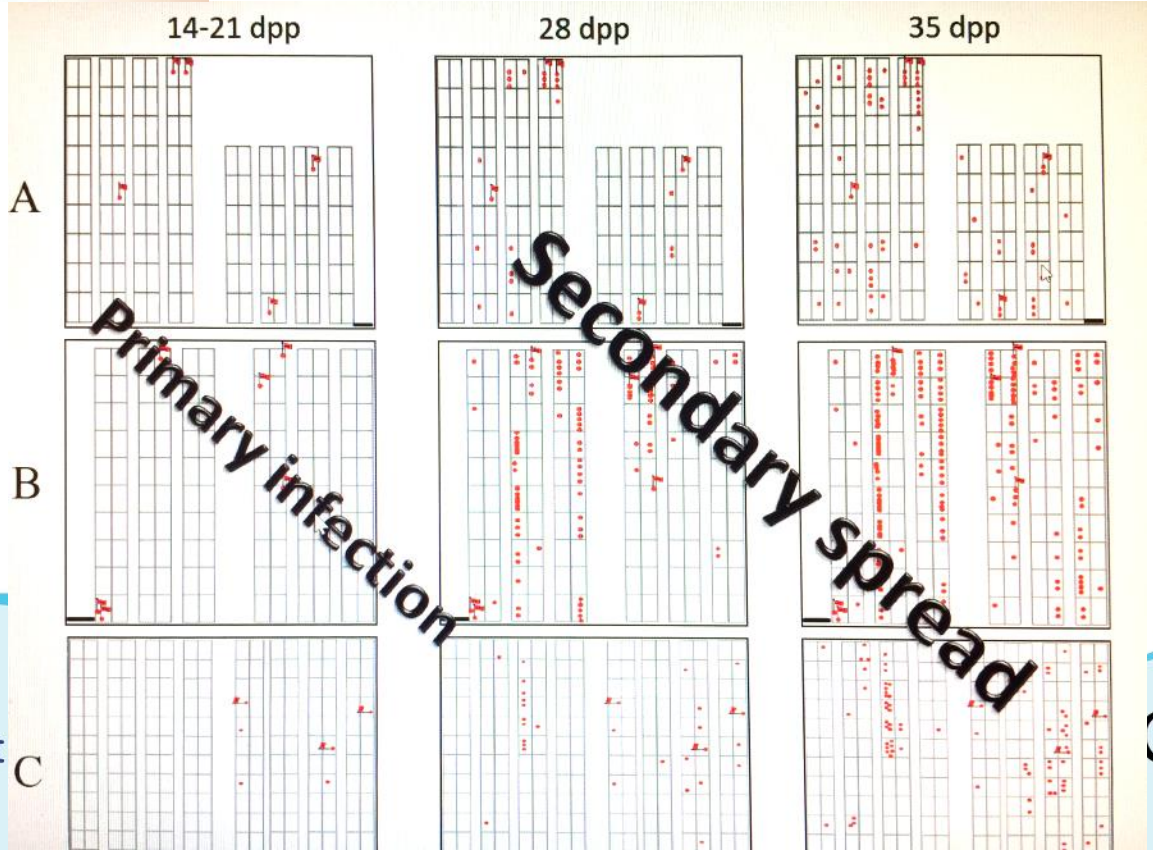
Figure 4. Trend of ToBRFV diffusion (No. of infected tomato plants) during the nine months the greenhouse.



CGMMV and ToBRFV disease spread and suggested management applications

Dr. Aviv Dombrovsky
The Department of Plant Pathology,
ARO. The Volcani Center

Rapidité de contamination à partir de plants infectés avec ToBRFV



Votre gouvernement

Québec

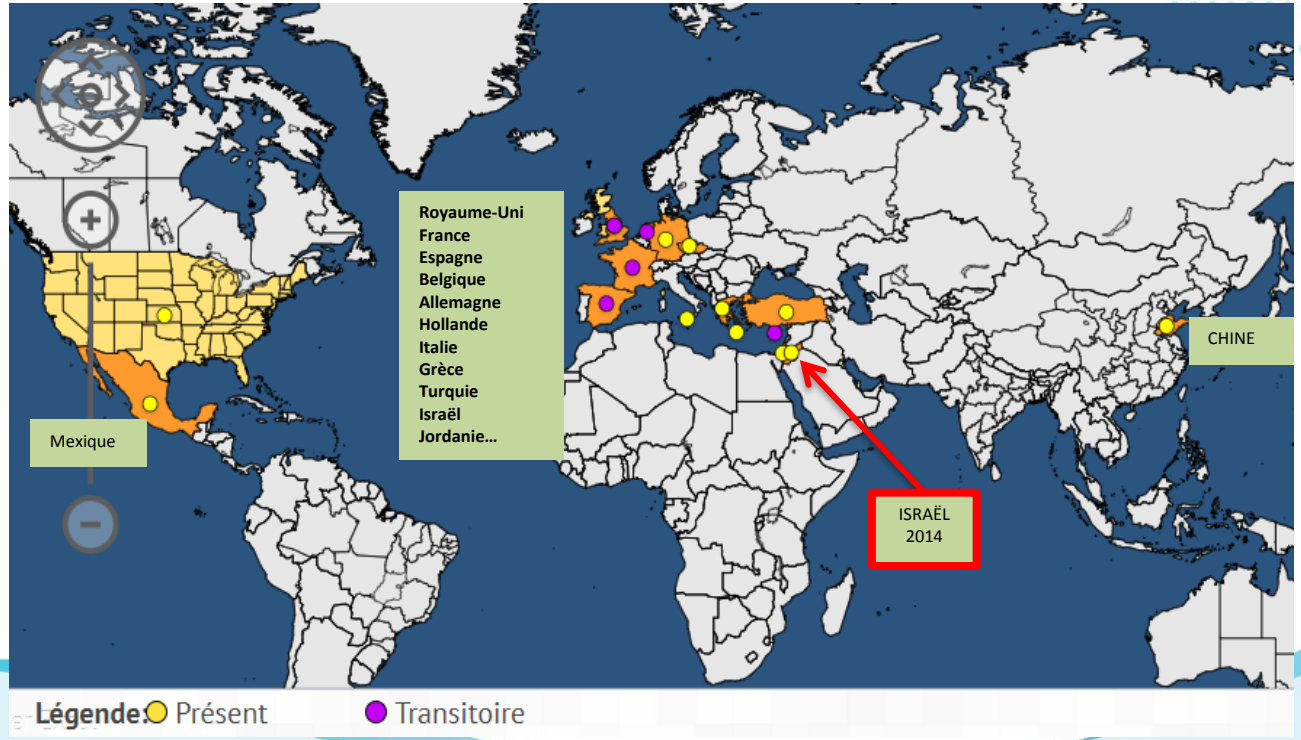
PROVENANCE

Base de données mondiale
52 pays membres - coopération internationale en santé des plantes
Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des végétaux (OEPP)

EWG on 18-21 November 2019
DOMBROVSKY Aviv
GENTIT Pascal
GILTRAP Neil
GUITIAN CASTRILLON Jose Maria
HANSSEN Inge
LEVI Tami
TOMASSOLI Laura
ZIEBELL Heiko

EPPO:
PICARD Camille*,
SUFFERT Muriel

PRAs reviewed by
EPPO Core Members and
EPPO Panel on Phytosanitary Measures (P PM)



Votre gouvernement

Québec

LE VIRUS DU FRUIT RUGUEUX BRUN DE LA TOMATE
'TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (ToBRFV)'

SYMPTÔMES

-Très variables-
Dépendant de la sensibilité variétale

-Variétés et porte-greffes sensibles ? C'est l'inconnu !

…Cas rapportés sur la *variété Beef « Touché » De Ruiter, avec des pertes supérieures à 70%*

-Une variété peut être infectée (forte charge virale) sans montrer de symptômes

-**Déclencheur = Stress climatiques** : **excès de chaleur,** de froid, **faible luminosité**…

-**Infection mixte** avec un autre virus comme le Virus le la mosaïque du Pépino (PEPMV)

SYMPTÔMES SUR FEUILLES

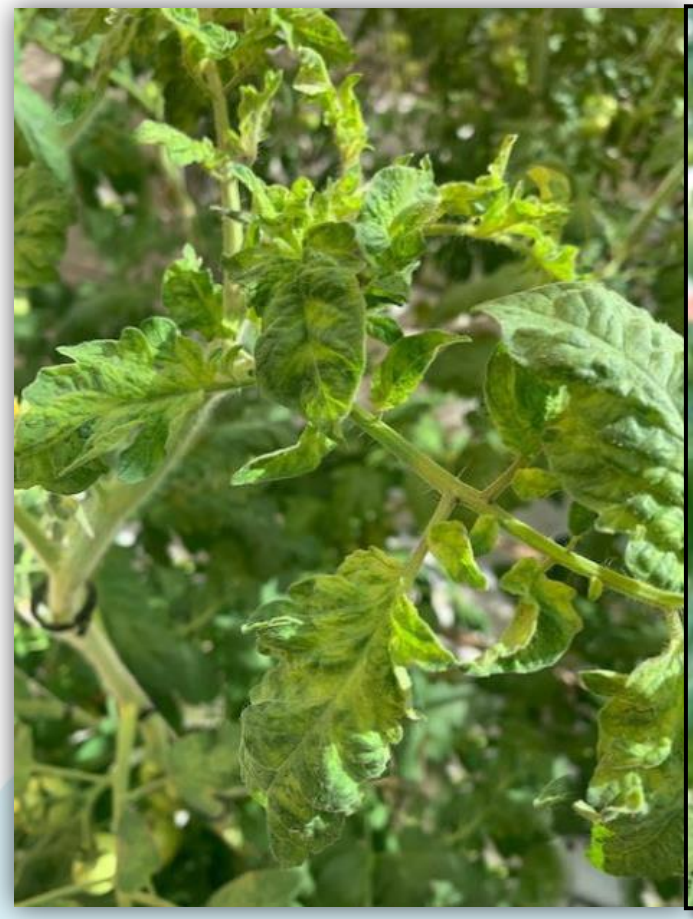
Mosaïque et marbrure, chloroses (jaunissement)- **Symptômes légers**

Votre gouvernement

Québec

SYMPTÔMES

Mosaïque et marbrure, chloroses (jaunissement)



SYMPTÔMES

Mosaïque et marbrure, chloroses (jaunissement)
……**allant jusqu'au dessèchement des folioles**

Votre gouvernement

Québec

SYMPTÔMES

Mosaïque et marbrure, chloroses (jaunissement)
Et ……**déformation des feuilles**

SYMPTÔMES

Déformation des feuilles:

Feuilles en forme **de fougères** avec rétrécissement occasionnel des folioles

SYMPTÔMES

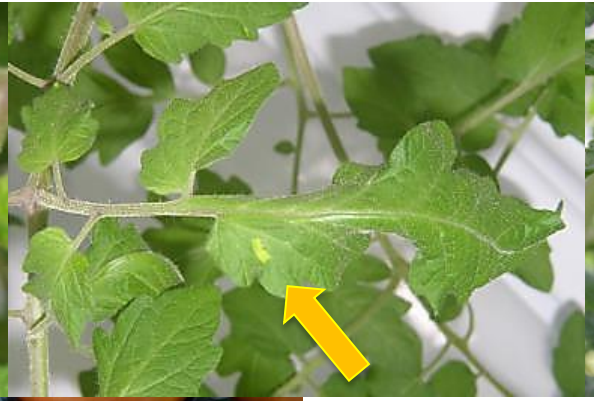
En présence d'infection mixte avec le virus de la mosaïque du Pépino, les symptômes peuvent s'intensifier.

Infection mixte avec le virus de la mosaïque du Pépino (PepMV)

Votre gouvernement

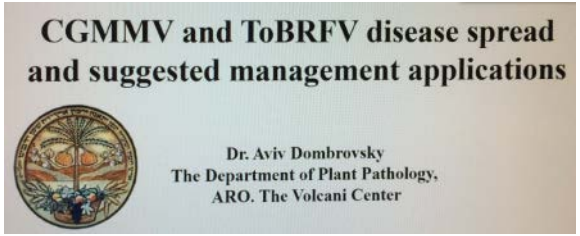
Québec

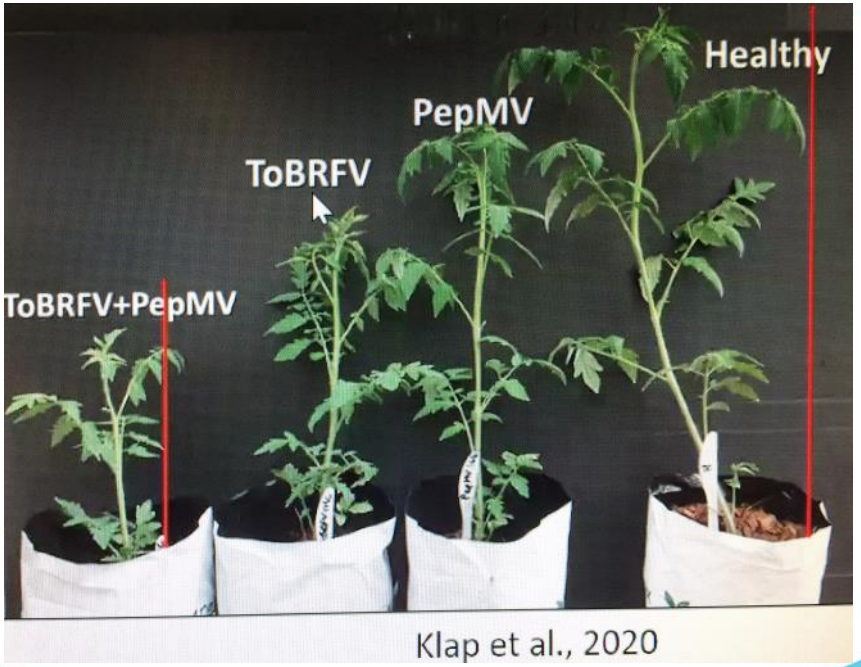
SYMPTÔMES DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU PÉPINO



Québec

SYMPTÔMES





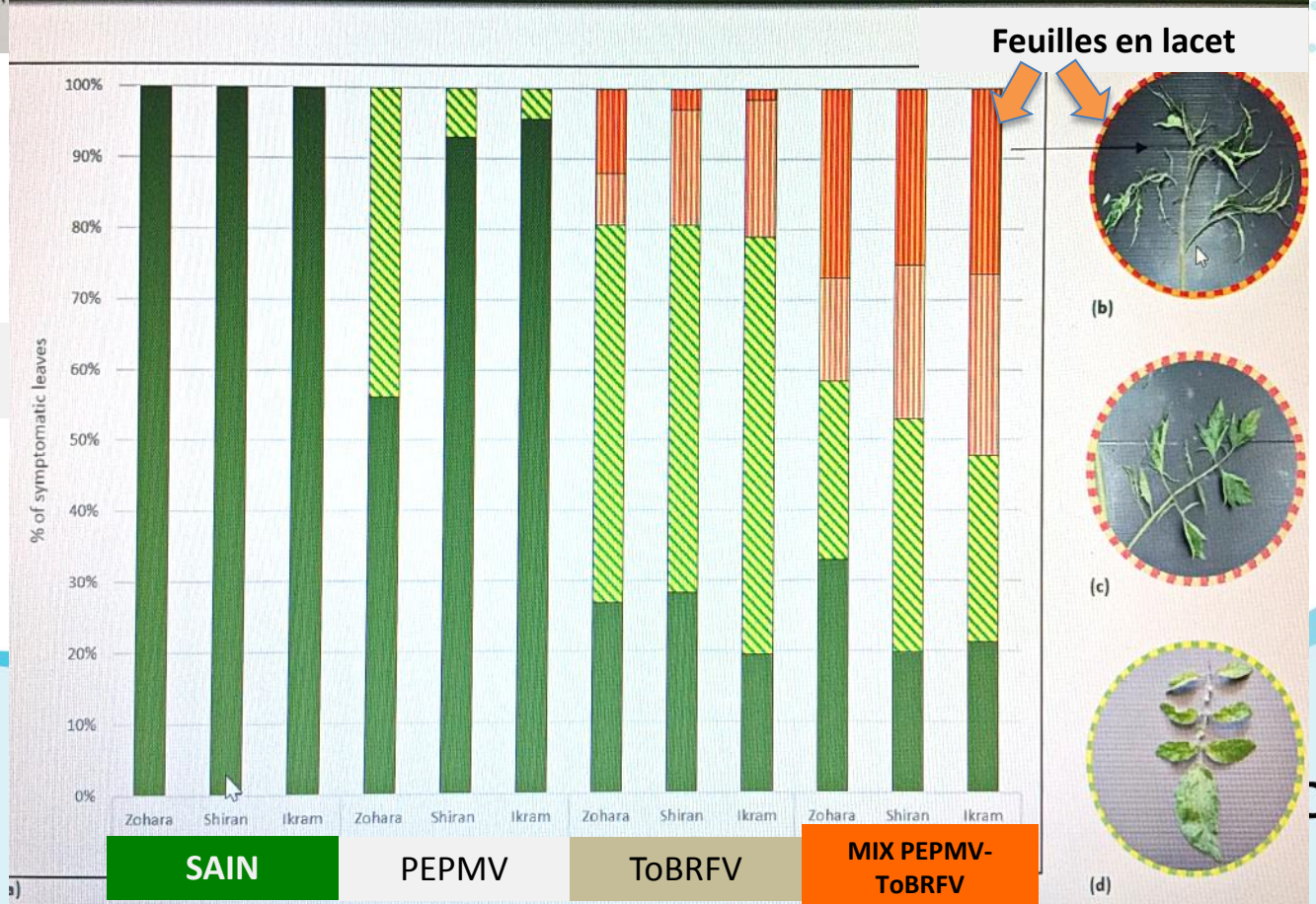
Québec

CGMMV and ToBRFV disease spread and suggested management applications

Dr. Aviv Dombrovsky
The Department of Plant Pathology,
ARO. The Volcani Center

PepMV-ToBRFV co-infections and symptom severity

% feuilles avec symptômes



Feuilles en lacet

Votre gouvernement

SYMPTÔMES SUR FRUITS

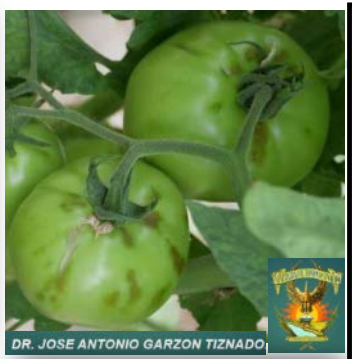
- ***Maturation inégale***
- Taches jaune pâle à brunes

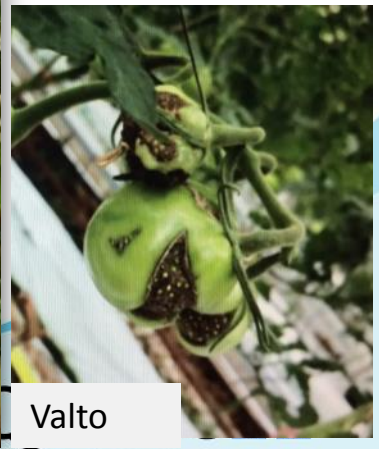
- Marbrures ou stries vertes
- Peut y avoir des symptômes de rugosité sur l'épiderme
- Les fruits peuvent aussi être:
  - Moins nombreux
  - Plus petits
  - Déformés
  - Avortés (aucune nouaison)
- **Sur certaines variétés de tomates cerises**, des symptômes d'hypersensibilité au virus peuvent apparaître très tôt sur les jeunes plants. Puis les symptômes plus typiques se développeront sur les feuilles et finalement sur les fruits.

SYMPTÔMES SUR FRUITS MÛRS

Votre gouvernement

SYMPTÔMES SUR FRUITS VERTS





Votre gouvernement

Valto

AUTRES SYMPTÔMES

Brunissement ou lésions nécrotiques sur les sépales (calice des fruits) et les tiges

Votre gouvernement

Québec

Brunissement ou lésions nécrotiques sur les sépales (calice des fruits) et les tiges

SYMPTÔMES SUR L’APEX ET LES FLEURS

- Avortement Dessèchement

SYMPTÔMES SUR PLANTS

Votre gouvernement

Québec

NE PAS CONFONDRE AVEC…

- **Maturation inégale (blotchy) sur tomate** *(absence de symptômes viraux sur feuilles)*
  - Relié au potassium, faible CE, charges élevés en fruits, pré-nuits, excès de vigueur…

Maturation inégale

- **Virus de la mosaïque du Pépino de la tomate**
  (taches jaunes localisées)
- **Chocs ou stress climatiques (abiotiques)**
- **Phytotoxicité (pesticides, engrais, produits autres)**

Chimère (génétique)

- **Désordres génétiques (p. ex. : chimère –** localisée sur quelques feuilles d'un seul plant en général)
- **Problèmes racinaires** (brûlures des feuilles et de l'apex)

SYMPTÔMES SUR POIVRONS-PIMENTS

- *Capsicum annuum* (doux-chili-jalapeno…) et *Capsicum chinensis* (fort- habanero-)
  - *(gène L de résistance les protège)*
- **Moins prononcés que sur la tomate**
- **Même asymptomatiques, ils peuvent contenir et transférer le virus (réservoir)**
- Se développent en fonction de la tolérance des plants, des variétés et de la conduite climatique
- **Feuilles** : mosaïque, légère décoloration des jeunes feuilles, jaunissement, déformation
- **Fruits** : marbrure, mosaïque, déformation
- **Tiges** : brunissement, nécrose à la base des tiges secondaires
- **Points de croissance (apex)** : nécrose partielle

SYMPTÔMES

Réaction d'hypersensibilité au virus:

Réaction d'autodéfense de la plante qui limite l'expansion du virus en tuant la cellule infectée et celles qui l'entourent.

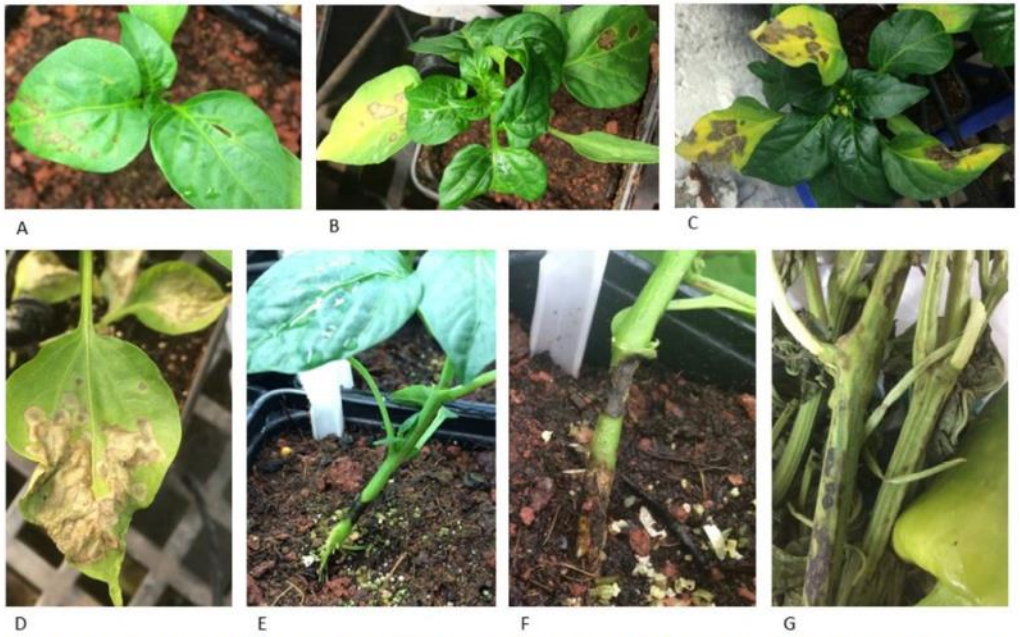


Fig 3. Pepper plants harboring $L^{1,3,4}$ hypersensitivity response (HR) to infection by the new tobamovirus isolate. **(A-D)** Symptoms developed following sap-mechanical leaves inoculation showing **(A)** necrotic lesions; **(B)** yellowing; **(C, D)** dried apoptotic leaves. **(E-G)** HR symptoms developed following root inoculation demonstrating dried spots on stems leading to plant growth inhibition.

doi:10.1371/journal.pone.0170429.g003

Votre gouvernement

Québec

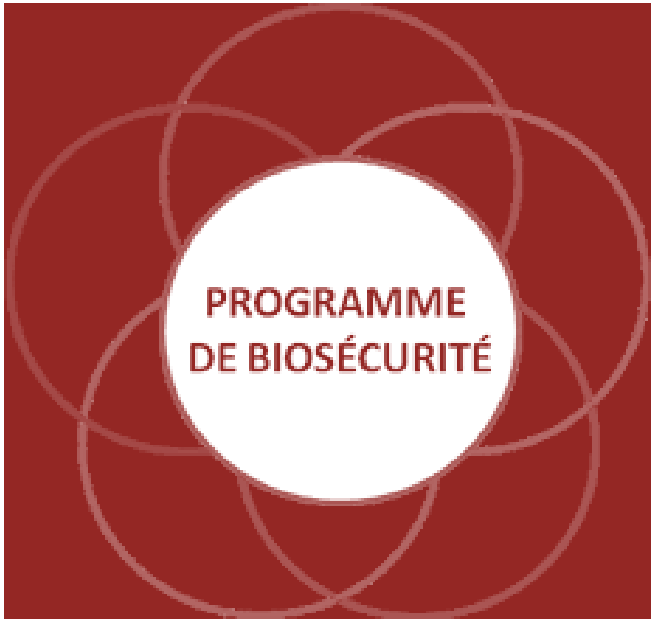
SYMPTÔMES

DR. JOSE ANTONIO GARZON TIZNADO.

Host plant	Early symptoms 4–7 dpi	Systemic symptoms description 7–14 dpi	ELISA
Cappsicum annumm (pepper) *Cv's Maor, (L^1), Fiona (L^3, *Sw-5*), Romans and Lyri (L^4, *Sw-5*)	HR	NS	+

doi:10.1371/journal.pone.0170429.t002

COMMENT S'EN PROTÉGER?



- Réduire le risque de maladies pouvant être transmises sur le site par des véhicules ou des personnes

et

- Limiter le mouvement de matériaux et d'équipement infectés d'une **serre** à une autre

Guide de biosécurité pour le secteur des légumes de serre (ACIA)

COMMENT S'EN PROTÉGER?

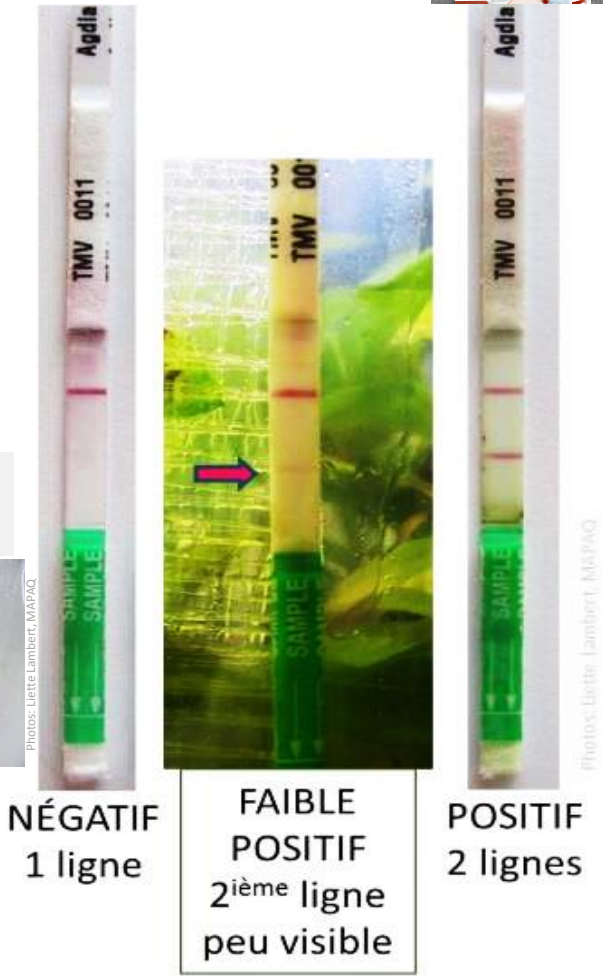
Kits de détection rapide ELISA, commercialisés par AGDIA aux États-Unis, vendus **chez Plant Products** sous forme de bandelettes ImmunoStrip avec pochettes contenant les anticorps réactifs.

Si les tissus contiennent suffisamment de particules virales, ce test pourra les détecter en moins de 15 à 30 minutes.

coût : 5 bandelettes (120 $) ; pour 25 bandelettes (290 $)

Réaction croisée partielle =
indice de la présence d'un Tobamovirus sur les variétés déjà résistantes aux TMV-ToMV

Exemple de test avec les kits Immunostrips de Agdia pour INSV sur Impatiens

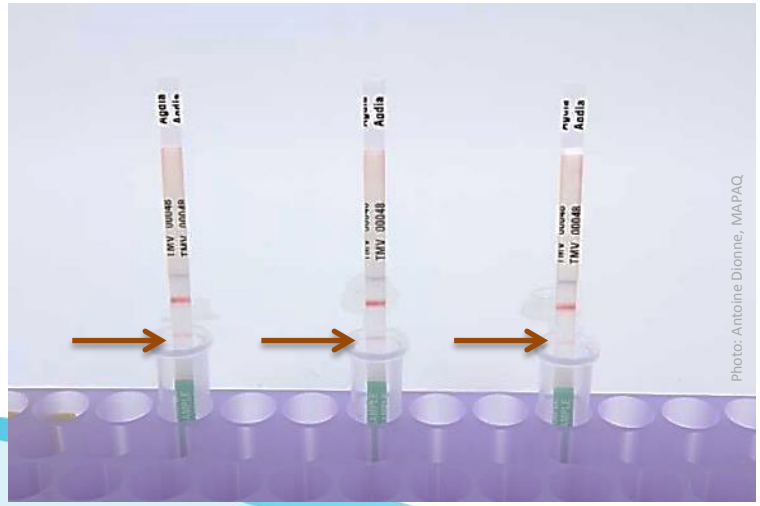


Votre gouvernement

COMMENT S'EN PROTÉGER?

Des doutes ? Laboratoire et tests de détection

Immunostrips TMV de AGDIA validés sur des fruits infectés par ToBRFV

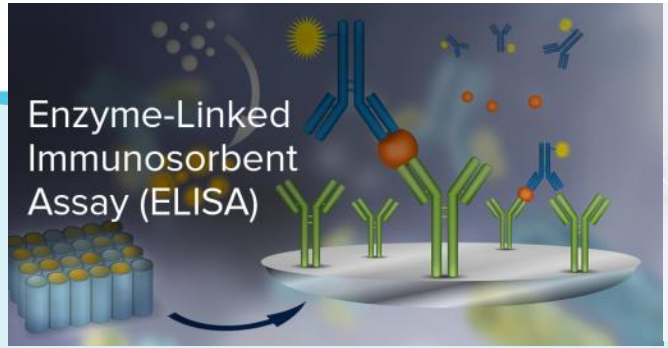


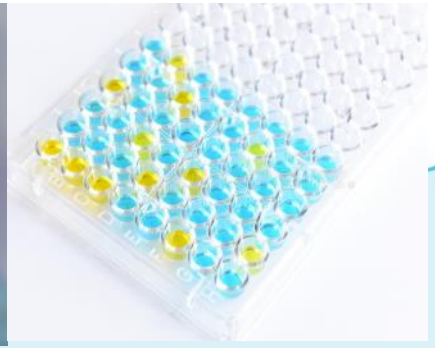
Votre gouvernement

Québec

LA BONNE NOUVELLE

L'Université de Wageningen (*Hortidaily,* 26 octobre 2020) vient de rendre disponibles des anticorps spécifiques au ToBRFV, permettant ainsi aux laboratoires, aux grainetiers et aux douaniers de détecter par ELISA (test immuno-enzymatique) la présence du virus. AGDIA développera certainement des bandelettes ImmunoStrip plus spécifiques au ToBRFV en 2021.





Votre gouvernement

Québec

COMMENT S'EN PROTÉGER?

Variétés – résistance en cours

horti daily

Bayer teste de nouvelles variétés de tomates résistantes au ToBRFV

À la suite des essais, Bayer prévoit que les produits seront disponibles à la vente commerciale au Mexique en 2021, pour être ensuite suivis par des offres sur d'autres marchés importants dans le monde.

Syngenta présente

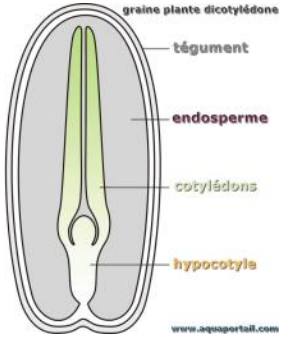
Une variété commerciale de tomate résistante au ToBRFV sera proposée au début de 2021

Quant à savoir si la résistance sera intermédiaire (IR) ou élevée (HR), l'équipe a décidé de réclamer IR pour cette première introduction. «Le niveau intermédiaire est certainement atteint, mais comme il n'y a pas de protocoles officiels spécifiques et de références sur le moment où une variété est HR pour ToBRFV, il est trop tôt pour réclamer HR à ce stade.

Votre gouvernement

Québec

TRAITEMENTS DES SEMENCES?

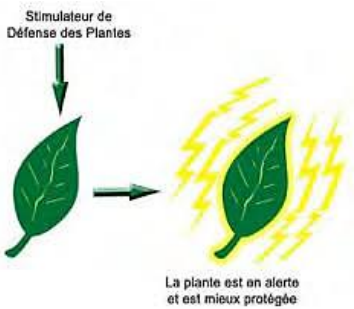


Parce le virus se loge sur les téguments externes (testa) de la semence, rarement dans l'endosperme, jamais dans l'embryon, la désinfection est efficace sans affecter le taux de germination.*(Davino et al., Nov.2020)*

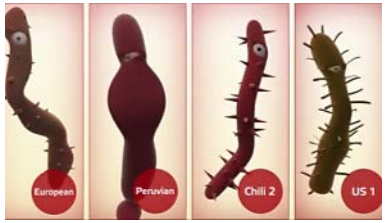
-**T.S.P.** (ou P.T.S. pour phosphate trisodique): 3 heures dans une solution de 10 % (100 grammes/litre de TSP/PTS) tout en brassant régulièrement.

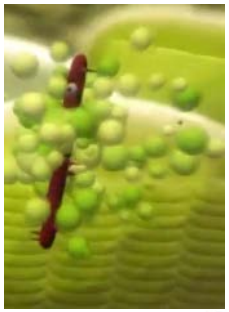
-Traitement à **l'hypochlorite de sodium** 2,5% durant 15 minutes (Davino et al., Nov 2020)

-D'autres études sont actuellement en cours en Israël (Dr. Aviv Dombrovski)



VACCINS ?

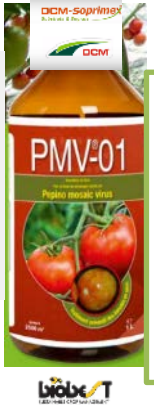




PMV-01

Souche CH2, isolat 1906

Souches: EU, LP CH2 avec suppression US1 (=CH1)

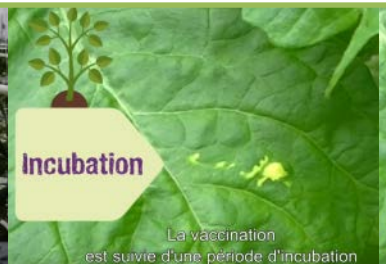


Ces 2 vaccins du PEPMV sont basés sur une protection croisée et contiennent des variantes bénignes (non agressives, non infectieuses) de souches ou d'isolats du virus

PMV-01 = 10 ans de recherches

V10

2 souches VC1 et VX1



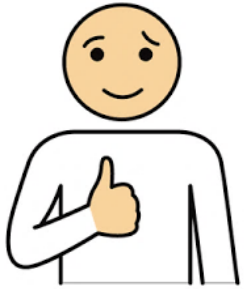
Votre gouvernement

Québec

PRÉVENTION ET BIOSÉCURITÉ

SACHEZ QUE :

- ToBRFV survit sur toutes les surfaces de la serre (verre, béton, aluminium, plastique, polyéthylène et acier inoxydable) pendant au moins 7 jours, jusqu'à plus de 6 mois, surtout sur le béton qui présente des crevasses qui protègent le virus des traitements.
- Le lait écrémé (3,5 % de protéines) ne semble pas efficace sur ce virus (réf. Dr. Ling). On l'utilise normalement pour inactiver les particules virales.
- Aucun désinfectant (ex. : Virkon, eau de javel, TSP) n'est efficace avec une durée de contact de 1 minute.
- Même durant 1 longue minute, le lavage des mains, ne limite pas la transmission du ToBRFV. C'est le frottement physique des mains qui délogent le plus de particules virales. L'ajout d'un désinfectant ou d'un savon efficace améliore le traitement.
- **Le ToBRFV peut survivre sur les mains et les gants pendant <u>au moins</u> 2 heures.**



PRODUITS ACTUELLEMENT RECONNUS EFFICACES

Désinfecter du matériel exempt de matière organique (terre, débris) qui inactive la plupart des produits.

- **Virkon 1 %** (1% = 10 g/litre)**:** une durée de contact d'une heure a détruit ToBRFV sur toutes les surfaces des serres, à l'exception du béton. Toutefois, l'étiquette mentionne de ne pas dépasser un temps de contact de 30 minutes sur les surfaces métalliques. Au Mexique , on rapporte que la dose de 2% est la plus efficace.
- **Eau de javel 10%** ou son équivalent hypochlorite de sodium 12 %
- **Peroxyde d'hydrogène stabilisé à l'argent (HUWA-SAN** certifié ÉCOCERT, vendu chez Global Horticultural)

  (réf. étude réalisée au Royaume-Uni (FERA 2020))
- **Virocid** (ammonium quaternaire de 5ième génération) – *efficace en présence de matière organique*
- **Traitement à l'eau chaude à 90 °C durant 5 minutes;**
  - Sinon à 70 °C durant 5 minutes, suivi d'un traitement au Virkon 1 % durant 1 minute.

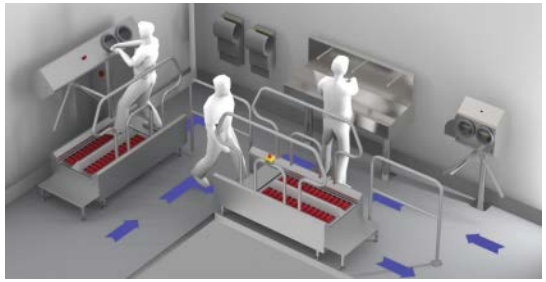
Votre gouvernement

Il est possible que d'autres produits soient efficaces, mais ils n'ont pas encore été testés sur le virus

Québec

PRÉVENTION ET BIOSÉCURITÉ

TRAVAILLEURS



- Formation et sensibilisation
- Affiche montrant les symptômes
- Dépistage systématique
- Identifier et désigner les zones à risque élevé ou faible sur le site
- Les travailleurs assignés à des zones doivent en tout temps travailler dans le même sens du rang
- Utiliser 1 ou 2 couteaux désinfectés par rangée et les laisser tremper lors du changement.
- Porter des gants et les changer régulièrement.
- Nettoyer / désinfecter les équipements entre chaque rangée si possible.

Votre gouvernement

Savoir comment procéder si vous avec des doutes ?

TRAVAILLEURS

- **Nettoyer et désinfecter régulièrement** les zones communes, les outils, les équipements, les allées et toutes surfaces qui pourront être en contact avec les mains, surtout après un contact avec les plantes.
- Lavage des mains, **pédiluves**, port de vêtements de protection à laisser sur place avec lavage quotidien.
- Interdire la consommation sur les lieux de **tomates et de poivrons venant de l'extérieur** car elles sont des sources potentielles de contamination.
- Limiter ou interdire l'utilisation des **téléphones cellulaires** dans la serre. Sinon, les mettre dans un sac Ziploc fermé, facilitant ainsi leur désinfection.
- Tenir les abords et l'intérieur des serres exempts de mauvaises herbes – le **chénopode** est une plante hôte tout comme les pétunias ornementaux !

Votre gouvernement

Québec

PRÉVENTION ET BIOSÉCURITÉ

VISITEURS

- Prudence avec ce qui vient de l'extérieur (matériel, personnes, camions) et pouvant être contaminé.
- Penser à le désinfecter avant de le déplacer dans une zone à risques, y compris le matériel des entrepreneurs.
- Aviser de ne pas visiter d'autres serres de tomate ou poivron la même journée.
- Limiter toutes visites inutiles, sinon le tôt le matin (le 1er).
- Maintenir un registre de chaque visite.
- S'assurer qu'ils respectent les protocoles d'hygiène mis en place.
- Ne pas emballer des produits provenant d'autres endroits.
- Éviter les animaux de compagnies (chiens, chats) qui servent aussi de vecteurs.

PRÉVENTION ET BIOSÉCURITÉ

Foyer suspecté ?

- Identifier clairement les plantes suspectées.
- S'il n'y a qu'un plant, l'enlever en arrachant les racines, puis le déposer dans un sac pour éviter tout contact avec d'autres plants avant de les sortir du rang puis de la serre.

- Si plusieurs plants montrent des symptômes viraux sur un même rang, isoler immédiatement la zone / restreindre l'accès à cette zone et les déplacements entres les zones / prévoir une zone de changement (vêtements, outils, gants) / terminer la journée par cette zone / désigner des équipements et du personnel pour la zone suspectée.

- Prélever un échantillon (jeunes feuilles déployées ou fruits) pour analyse au Laboratoire d'expertise et diagnostic en phytoprotection (LEDP) du MAPAQ et spécifier l'analyse du virus ToBRFV. *Conférence de Antoine Dionne*

Votre gouvernement

Québec

PRÉVENTION ET BIOSÉCURITÉ

Foyer confirmé

- On recommande évidemment d'arracher les plants présentant des symptômes et d'en arracher sur ce même rang, avant et après les plants symptomatiques, et tout autour pour créer une zone tampon
  - sauf que…. Étant donné le mode de transmission très rapide de ce virus, il est probable qu'au moment de la détection, une bonne partie de la culture soit déjà infectée, les ruches de bourdons ayant contribué à la dissémination !
- Sachant qu'une plante stressée construit davantage sa charge virale, limiter les stress climatiques.
- Les plantes infectées doivent être idéalement brûlées ou transportées hors du site dans un camion pour en disposer selon la réglementation de votre municipalité ou vers un lieu d'enfouissement autorisé par le ministère de l'Environnement (MELCC)
- Maintenir les procédures préventives déjà mentionnées.

Fiche technique sur le nettoyage et la désinfection des serres
(Novembre 2020)

Votre gouvernement

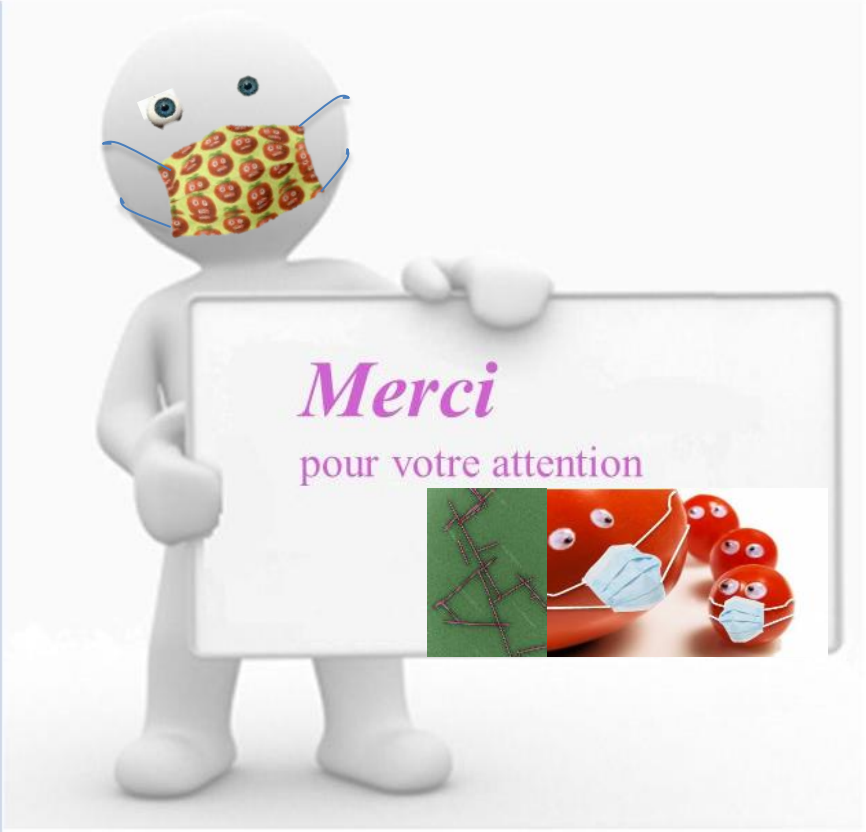
Québec

QUE FAIRE EN PRODUCTION BIOLOGIQUE?

Sachant que les débris de culture et les racines peuvent facilement réinfecter les plants :

- Production en bacs – recouvrir le sol d'un polythène

- Désinfection vapeur
  - Laborieux en sol mais plus facile en bacs de culture: maintenir 80 °C durant 2 heures (technique actuelle pour le tobamovirus CGMMV sur concombre bio)
  - Réinoculer le terreau avec des champignons ou bactéries bénéfiques (ex. : *Trichoderma*, *Bacillus*)
- Rotation avec une culture autre que la tomate et le poivron durant 1 ou 2 ans.
- Partir avec du matériel sain – semences désinfectées
- Avoir fait une désinfection en règle après la culture infectée ….



Votre gouvernement

Québec