

Rapport de projet
(2020/10/01 - 2024/02/23)

Renseignements sur le projet

Titre du projet:

Améliorer la profitabilité et le bilan agroenvironnemental de la filière Québécoise de pomme de terre en s'attaquant aux maladies asymptomatiques : Identification et réduction de la dépendance aux fumigants

Membres de l'équipe:

Mamadou Lamine Fall, AAC
Benjamin Mimee, AAC
Hervé Van der Heyden, Phytodata Inc.
Pierre Lemoyne, AAC
Nathalie Dauphinais, AAC

Date de début:

2020/10/01

Date de fin prévue:

2024/01/07

Date de fin réelle:

2025/03/31

Agriculture et Agroalimentaire Canada
Centre de recherche et de développement de Saint-Jean-sur-Richelieu

Objectif stratégique:

Élimination des menaces qui pèsent sur la chaîne de valeur des produits agricoles et agroalimentaires

Programme:

Programmes d'innovation
Collaboration avec Consortium de Recherche sur la Pomme de Terre du Québec (CRPTQ)

23 Février 2024

Contexte:

Au cours des dernières décennies, plusieurs fumigants, dont le bromure de méthyle, ont été retirés du marché à cause de leur effet toxique sur l'environnement et la santé humaine. Ils ont été remplacés par des produits moins dommageables comme la chloropicrine et le métham sodium. Par contre, des études récentes ont démontré que la chloropicrine réduisait la capacité des microorganismes du sol à dégrader les pesticides et augmentait leur lessivage dans l'environnement. Les champs fumigés avec la chloropicrine émettraient vingt fois plus de N₂O, un puissant gaz à effet de serre, qui affecte également la couche d'ozone. Ces produits pourraient donc être appelés à disparaître au cours des prochaines années ou les producteurs pourraient vouloir s'en départir afin d'améliorer leur bilan agroenvironnemental et la santé de leurs sols. Cela aurait nécessairement des conséquences sur la gestion des nématodes et de certaines maladies virales. Ainsi, pour se préparer au retrait de ces fumigants, un projet portant sur le « *Potato Early Dying* » financé par Agriculture et Agroalimentaire Canada (CanPEDnet), et l'industrie canadienne de la pomme de terre dont nous sommes parmi les chercheurs demandeurs, étudie, entre autres, la diversité des espèces de nématodes des lésions et l'efficacité de nouvelles molécules comme le fluopyram (velum prime) pour contrôler les nématodes du genre *Pratylenchus*. Cependant, la pathogénicité des espèces autres que *P. penetrans* sur la pomme de terre restait à étudier. Par exemple, les espèces *P. alleni* et *P. crenatus*, entre autres, ont été répertoriées au Québec, mais ne sont pas distingués par le laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection du MAPAQ faute de méthode d'identification fiable et rapide. Ainsi, plusieurs champs sont traités pour les nématodes des lésions avec des fumigants nocifs sans que leur effet sur le rendement n'ait été démontré. Aussi, l'efficacité du fluopyram sur les nématodes vecteurs de virus (*Trichodorus* spp. et *Paratrichodorus* spp.) reste à démontrer. D'ailleurs, les nématodes vecteurs de virus ne sont peut-être pas très bien contrôlés actuellement par la chloropicrine si on se fie à la réémergence récente de certaines maladies virales dans la pomme de terre, comme le virus du bruissement du tabac (tobacco rattle virus) (TRV) dans plusieurs régions. Ce virus n'engendre aucun symptôme visuel en absence de stress climatiques et réduirait le rendement de manière significative. En effet, ce sont les conditions climatiques, telle que la température, qui déclenchent l'apparition de nécroses annulaires liégeuses sur les tubercules qui deviennent alors invendables. Ainsi, avec l'augmentation des températures due aux changements climatiques, le TRV risque de causer de lourdes pertes de rendement puisqu'un champ avec plus de 6% de tubercules symptomatiques est systématiquement dévalué ou rejeté. Il est donc essentiel d'évaluer la prévalence et la distribution de ces maladies asymptomatiques au Québec et d'évaluer l'efficacité des méthodes de lutte à contrôler leurs vecteurs. Malgré les efforts considérables pour inclure des gènes de résistances dans les variétés de pommes de terre afin de limiter la propagation du virus, l'émergence de nouvelles souches du virus constitue un frein, d'autant plus que les changements climatiques risquent d'augmenter significativement la sévérité des symptômes. De plus, les nématodes vecteurs des genres *Trichodorus* et *Paratrichodorus* transmettent différentes variantes génétiques du virus et pour plusieurs variantes du virus, on ignore les espèces de nématodes responsables de la transmission. À l'heure actuelle, très peu d'information existe sur quels cultivars seront affectés par le TRV sous nos conditions climatiques.

Objectifs :

1. Déterminer la prévalence et la distribution du TRV dans la production de pomme de terre au Québec
 2. Déterminer la sensibilité des variétés de pommes de terre québécoises au TRV
 3. Déterminer la prévalence, la distribution et la diversité des espèces de nématodes vectrices des variantes génétiques du TRV détectées au Québec
 4. Évaluer l'efficacité du fluopyram pour contrôler les nématodes des genres *Trichodorus* et *Paratrichodorus*
 5. Déterminer les espèces et la pathogénicité des nématodes des lésions (*Pratylenchus*) présentes au Québec
 6. Développer des outils de diagnostic rapides pour les nématodes des lésions présents au Québec
 7. Élaborer un guide pour la gestion optimale du TRV et des nématodes des genres *Pratylenchus*, *Trichodorus* et *Paratrichodorus* pour réduire la dépendance aux fumigants.
-

Sommaire

La situation sanitaire liée à la COVID19 a forcé des changements dans le calendrier du projet. Néanmoins, tous les objectifs ont pu être réalisés. Des échantillons de sols et de tubercules de pomme de terre ont été collectés en 2019, 2020 et 2021 dans 40 champs couvrant six régions administratives du Québec. Pour ces années d'échantillonnages, les nématodes du genre *Trichodorus* et *Paratrichodorus*, vecteurs du virus du bruissement du tabac (TRV), n'ont pas été détectés dans aucun des échantillons. Par contre, des nématodes phytoparasites (n = 2 255) ont été identifiés au genre à l'aide de leurs caractéristiques morphologiques et moléculaires, et plusieurs élevages d'isolats québécois du nématode des lésions ont été établis. Des tests de pathogénicité ont été réalisés pour les trois espèces de *Pratylenchus* retrouvées au Canada dans l'étude du CanPEDnet, soient *P. penetrans*, *P. crenatus* et *P. neglectus*. Des tests d'interactions avec *V. dahliae* ont également été complétés. La caractérisation moléculaire du gène COI des nématodes a été complétée sur 270 individus en provenance du Québec et 18 individus ont des séquences compatibles avec *P. penetrans*, 251 avec *P. crenatus*, et 1 avec *P. neglectus*. Ces données ont permis d'évaluer la diversité génétique à l'intérieur et entre les champs afin de développer des outils diagnostique pour ce groupe de nématodes.

La prévalence du virus du bruissement du tabac (TRV) a également été testée. Les extractions d'acides nucléiques de 246 échantillons de tubercules de pommes de terre et de sols ont été colligées. Aucun échantillon de tubercules ou de sols ne s'est avéré positif pour le TRV. De plus, la prévalence de six autres virus qui n'étaient pas ciblés par ce projet a été évaluée. Ces virus sont, le virus de l'enroulement de la pomme de terre (PLRV), le virus A de la pomme de terre (PVA), le virus V de la pomme de terre (PVV), le virus X et Y de la pomme terre (PVX et PVY) et le virus du sommet touffu de la pomme de terre (PMTV). Sur le cumul des trois années, 60% des échantillons de tubercules étaient porteurs du PVY, 6% pour le PLRV et 3% pour le PVX. Le TRV et le PMTV ont été détectés sur 0% et 7% des échantillons de sols testés, respectivement. Le PVA et le PVV n'ont pas été détectés, ni dans les échantillons tubercules ni dans ceux provenant du sol. À la lumière de ces résultats, une surveillance plus accrue des pucerons vecteurs du PVY et l'amélioration du programme de certification des semences de pomme de terre s'avèrent nécessaires, puisque le PVY peut causer jusqu'à 80% de perte de rendement. Malgré une prévalence faible du PMTV (7%), ce virus devrait faire l'objet d'une surveillance plus serrée pour atténuer les risques d'épidémies dans la production de pomme de terre au Québec, puisque le PMTV peut causer 100% de perte de rendement. D'ailleurs, dans le cadre du projet CanPEDnet, nous avons pu établir et tester des protocoles de détection quantitative de *S. subteranea*, vecteur du PMTV, sur trois types de sols (sablonneux, minéral et organique). *S. subteranea* est présent dans une proportion relativement importante des échantillons, soit 30% des échantillons testés. Aussi, d'autres agents pathogènes (*Fusarium solani*, *Verticillium dahliae*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* et *Colletotrichum coccodes*) responsables de maladies pouvant impacter négativement le rendement ont été détectés dans nos échantillons.

État d'avancement par activité.

Échantillonnage et choix de variétés.

L'échantillonnage de tubercules de pomme de terre et de sol a été effectué avec notre partenaire Phytodata Inc. Un total de 124 échantillons de tubercules (54 en 2019, 36 en 2020 et 34 en 2021) et 122 échantillons de sols de 40 champs provenant de 6 différentes régions administratives du Québec ont été reçus dans les installations d'AAC de St-Jean-sur-Richelieu. En partenariat avec le Consortium de Recherche sur la Pomme de Terre du Québec (CRPTQ) et des conseillers en production de pomme de terre, nous avons fait la sélection de 5 variétés de pommes de terre (Chieftain, Russet, Goldrush, Mystere et Superior) cultivées au Québec, qui ont été utilisées pour faire les tests de sensibilité au virus du bruissement du tabac (TRV).

Objectifs 1. Déterminer la prévalence et la distribution du virus du bruissement du tabac (TRV) dans la production de pomme de terre au Québec.

Les échantillons pour atteindre cet objectif ont été collectés conformément au plan d'échantillonnage établi dans le projet. Un total de 124 et de 122 échantillons de tubercules et sols, respectivement, ont été traités. Nous avons pu tester la prévalence du virus du bruissement du tabac (TRV) sur un total de 224 échantillons de tubercules et sols. Aucun échantillon de tubercules ou de sols n'a été positif au TRV. De plus, les nématodes vecteurs du TRV n'ont pas été détectés dans ces échantillons de sols. Aussi, puisqu'on a détecté la présence de *Spongospora subteranea*, vecteur du virus du sommet touffu de la pomme de terre (PMTV), dans 30% des échantillons de sol de 2019, nous avons évalué la prévalence de six autres virus qui n'étaient pas ciblés par ce projet. Ces virus sont, le virus de l'enroulement de la pomme de terre (PLRV), le virus A de la pomme de terre (PVA), le virus V de la pomme de terre (PVV), le virus X et Y de la pomme terre (PVX et PVY) et le PMTV. Les résultats d'analyse des 246 échantillons montrent que le PVY est le virus le plus prévalent dans nos échantillons de tubercules infectés d'au moins par un virus, suivi du PVX et PLRV (Figure 1 A-E). En effet, 92%, 8% et 100% des échantillons collectés en 2019, 2020, et 2021, respectivement, sont infectés par le PVY. Pour le PVX 2%, 6%, 6% des tubercules collectés en 2019, 2020, et 2021, respectivement sont infectés, alors que pour PLRV 11%, 3% et 0% des tubercules collectés en 2019, 2020, et 2021, respectivement sont infectés. Des cas de tubercules coïnfectés par au moins deux virus ont été détectés dans 11%, 3% et 5% des échantillons en 2019, 2020, 2021, respectivement. Même si PMTP et TRV n'ont pas été détectés dans les tubercules, 5% des échantillons de sols testés en 2020 et 2021 étaient positifs au PMTP.

Objectifs 2. Déterminer la prévalence, la distribution et la diversité des espèces de nématodes vectrices des variantes génétiques du TRV détectées au Québec.

Aucune espèce du genre *Trichodorus* ou *Paratrichodorus* (espèces vectrices du TRV) n'a été détectée, ce qui est une bonne nouvelle pour l'industrie de production de pomme de terre du Québec. Toutefois, la réalisation des tests subséquents reliés à l'objectif 3 dépendait de la détection du virus dans les échantillons collectés. Une mesure alternative est proposée pour réaliser l'objectif 3.

Objectifs 3. Déterminer la sensibilité des variétés de pommes de terre québécoises au TRV.

Puisqu'aucun nématode vecteur du virus n'a été détecté dans les échantillons de sol, nous avons obtenu des isolats de TRV à partir de la banque des phytovirus d'AAC de la Colombie-Britannique. Ces isolats nous ont permis de réaliser le premier essai de sensibilité variétale en condition de confinement PPC1. La sensibilité au TRV des variétés de pomme de terre (Chieftain, Russet, Goldrush, Mystere et Superior) en comparaison avec celle de l'épinard qui est très sensible au TRV et à celle du tournesol qui est modérément sensible au TRV a été évaluée. Les variétés Chieftain, Russet, Goldrush, Mystere ont une sensibilité au TRV comparable à celle du tournesol à l'exception de la variété Chieftain qui semble être plus résistante au TRV que l'épinard, mais plus sensible au virus que le tournesol (Figure 2). L'infection par TRV ne s'est jamais établie sur la variété Superior malgré de nombreux essais. Ce qui nous laisse croire que cette dernière est à une résistance complète au TRV.

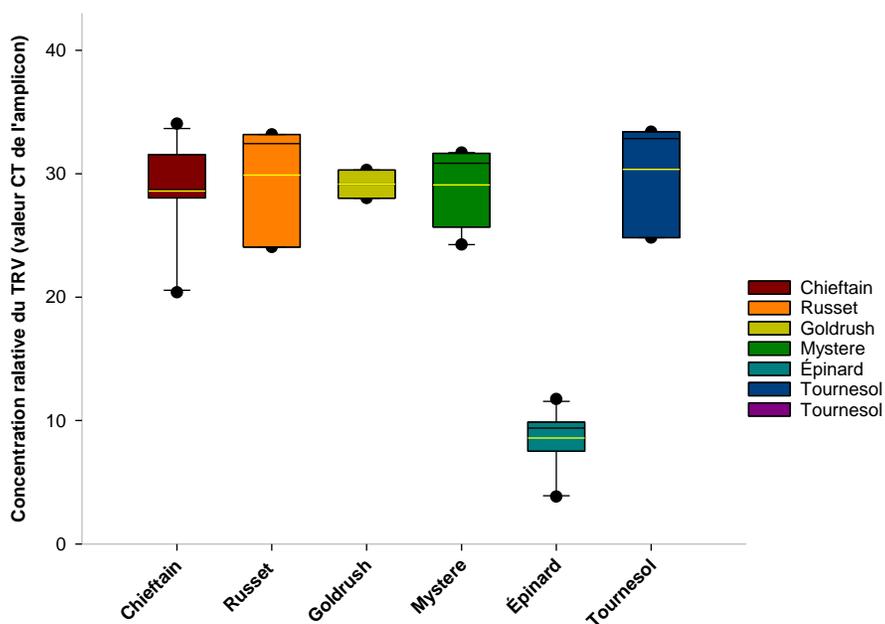


Figure 2. Sensibilité au virus du bruissement du tabac (TRV) des variétés de pomme terre (Chieftain, Russet, Goldrush, Mystere, Superior) en comparaison aux sensibilités de l'épinard et du tournesol. Sur l'axe des ordonnées figurent les valeurs de CT obtenues en RT-PCR pour l'amplicon de 463 pb du TRV. La ligne jaune détermine la moyenne des CT pour chaque espèce de plantes. L'inoculation du virus du TRV a été réalisée artificiellement par frottement sur les feuilles d'extrait de feuilles infectées (SAP) d'épinard maintenues dans une solution tampon. À noter que l'infection par TRV pour la variété "Superior" ne s'est jamais établie malgré plusieurs essais en serre PPC1.

Objectifs 4. Déterminer les espèces et la pathogénicité des nématodes des lésions (*Pratylenchus*) présentes au Québec.

Plusieurs élevages ont été établis et des centaines de nématodes individuels isolés. Les échantillons de sols de 2020 et 2021 en provenance de 64 champs ont été obtenus. Les extractions de nématodes à l'aide d'assiettes de Baermann ont été effectuées. Tous les nématodes phytoparasites (n = 6 450) ont été identifiés au genre à l'aide de leurs caractéristiques morphologiques. Le genre dominant était *Pratylenchus* (52% des individus analysés) suivi de *Paratylenchus* et de *Meloidogyne* (Figure 3A). Aucun spécimen de *Trichodorus* ou de *Paratrachodorus*, vecteurs connus du TRV, n'a été retrouvé. Sur les 62 champs dépistés, 33 (53%) se sont avérés positifs pour la présence du nématode des lésions racinaires (*Pratylenchus spp.*) avec des densités qui variaient entre 10 et 6 975 nématodes par kg de sol. La densité dépassait le seuil de dommages de 1 000 nématodes/kg dans 8 de ces champs.

Des extractions d'ADN ont été réalisées sur 387 nématodes correspondant au genre *Pratylenchus* afin d'en identifier l'espèce à l'aide de techniques moléculaires. Un total de 271 individus ont ainsi pu être identifiés suite au séquençage du gène d'ARNmt de cytochrome oxydase (COI). La majorité des individus (93%) présentaient des séquences compatibles avec l'espèce *P. crenatus* alors que seulement 7% des séquences ont été associées à l'espèce *P. penetrans* (Figure 3B). De plus, l'espèce *P. penetrans*, généralement associée aux dommages causés aux plants de pommes de terre n'a été détectée que dans 5 champs. Quatre de ces champs étaient infestés par des populations mixtes de *Pratylenchus* et un individu de *P. neglectus*, espèce habituellement retrouvée plus à l'Ouest, a été identifié.

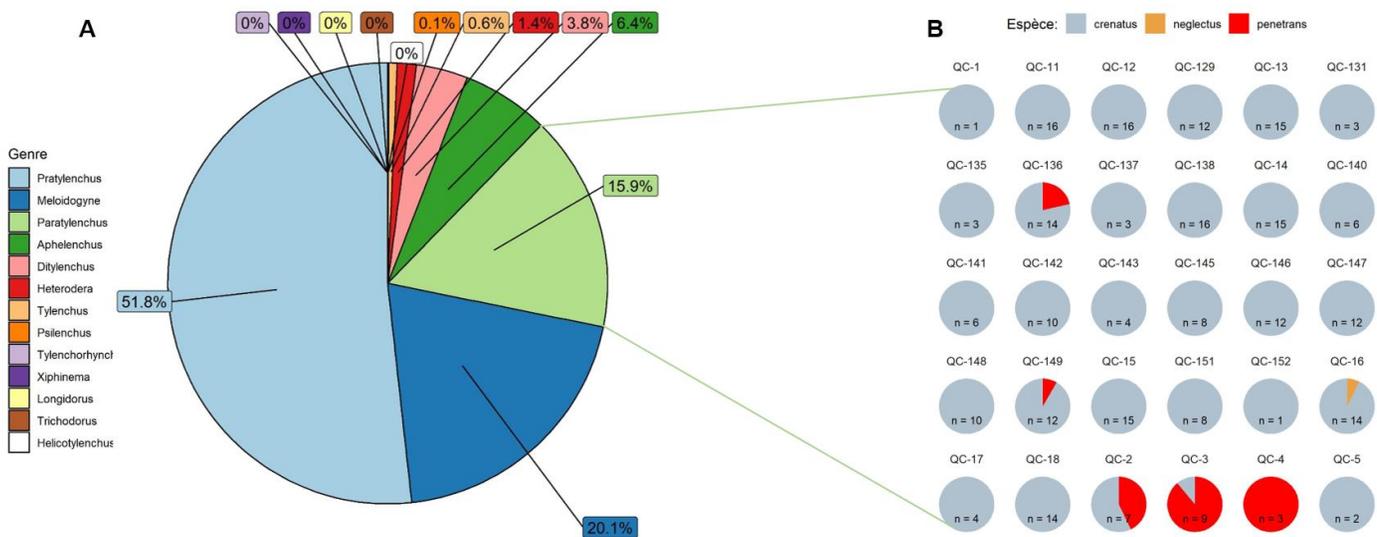


Figure 3. Proportion des nématodes phytoparasites associés à différents genres, basés sur les critères d'identification morphologique(A), proportion et distribution des espèces de *Pratylenchus* détectées dans chaque champ (B) pour un total de 62 champs de pommes de terre du Québec à l'automne 2020 et 2021.

Objectifs 5.

Sous-activité 5a. Développer des outils de diagnostic rapides pour les nématodes des lésions présents au Québec.

Nous avons isolé 203 larves présentant des caractéristiques morphologiques compatibles avec les genres *Pratylenchus* (nématode des lésions). Un protocole a été établi avec Génome Québec afin de mettre à profit leur plateforme à haut débit pour amplifier différents marqueurs (COI, ITS, 18S) et séquencer chaque nématode individuellement. La diversité génétique des populations de *P. penetrans* a été comparée à travers le Canada afin de déterminer si des adaptations locales avaient eu lieu ou si des sous-espèces existaient (potentiellement de pathotypes différents). Le génotypage du gène COI a permis d'identifier 57 haplotypes à travers le Canada dont 5 étaient présents au Québec. L'analyse de réseau de ces haplotypes n'a révélé aucune structure géographique claire. Une analyse de variance moléculaire (AMOVA) a révélé que les variations génétiques entre les individus d'un même champ expliquaient 58% de la variation totale, que 28% de la variance était associée aux différents champs et seulement 14% entre les provinces. Autrement dit, il ne semble pas y avoir eu d'adaptation locale ou d'isolement géographique, mais il y aurait plutôt un fort flux de gènes entre les différentes régions, du moins basé sur l'analyse de ce gène. Ces données nous ont également permis d'identifier des cibles conservées dans la région d'ARNr 18S qui étaient discriminantes pour les espèces de nématodes des lésions présentes au Québec. Ces informations ont donc permis de développer des outils diagnostiques qui sont actuellement aux dernières étapes de validation et seront éventuellement transmis au laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection du MAPAQ.

Sous-activité 5b1. Optimisation des conditions d'extraction d'ADN du sol.

Cette activité vise à optimiser les protocoles d'extraction d'ADN pour minimiser la variabilité intra échantillon et améliorer la reproductibilité des tests qPCR. Nous avons comparé différentes méthodes d'extraction d'ADN afin d'identifier la méthode la plus appropriée pour différents types de sols et d'agents pathogènes. Sept kits d'extraction d'ADN ont été utilisés : les troussees FAST DNA SPIN pour le sol (MP Biomedicals)(notre standard de laboratoire), DNeasy PowerSoil (Qiagen), DNeasy PowerLyzer PowerSoil (Qiagen), DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen), EZNA soil (OmegaBio-tek), IBI soil DNA extraction (IBI scientific) et Nucleospin pour le sol (Macherey Nagel). Pour chaque trousse d'extraction d'ADN, trois types de sol différents ont été évalués : un sol à forte teneur en matière organique (terre noire), un loam argileux et un loam sableux. Chaque expérience comprenait quatre troussees de sol, la trousse FAST DNA SPIN (MP Biomedicals) a été utilisée comme témoin dans chaque expérience et dix répétitions pour chaque type de sol, et chaque comparaison a été effectuée trois fois. Pour chaque échantillon de sol, 200 mg de sol séché à l'air et homogénéisé ont été pesés et placés dans le tube de matrice fourni pour chaque trousse. Les extractions d'ADN ont été réalisées en suivant le protocole fourni par le fabricant avec quelques modifications. Les modifications étaient les mêmes pour le kit FAST DNA SPIN pour le sol, comme décrit dans l'activité 5b. Pour la trousse DNeasy PowerSoil Pro, au lieu d'utiliser un porte-tube adaptateur vortex, les tubes de matrice ont été placés dans un instrument d'homogénéisation

FastPrep et homogénéisés à quatre m/s pendant 30s. Cette étape a été répétée deux fois, avec une pause de 30s entre les deux. De même, pour la trousse DNeasy PowerSoil, les tubes ont été placés dans un instrument d'homogénéisation FastPrep et homogénéisés à 6,5 m/s pendant 45 secondes au lieu d'utiliser le porte-tubes de l'adaptateur vortex. Pour la trousse DNeasy PowerLyzer PowerSoil, les échantillons ont été incubés à 65°C pendant 10 minutes après l'ajout de la solution C1. Ensuite, les tubes ont été placés dans un instrument d'homogénéisation FastPrep pour l'étape de lyse et homogénéisés à 4 m/s pendant 45 secondes. L'élution finale a été faite dans 100µl du tampon d'élution fourni pour chaque trousse. Pour comparer le rendement et la pureté et évaluer la variabilité intra-échantillon de l'extraction d'ADN réalisée avec chaque kit, la concentration d'ADN (ng/µl) et l'absorbance (A260/A280) ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre Nano-Drop lite (Thermo Scientific, Mississauga, ON, Canada). Enfin, pour évaluer et comparer la sensibilité des niveaux de détection de la qPCR pour les quatre trousse d'extraction d'ADN, trois tests qPCR différents ont été réalisés sur les échantillons d'ADN (*V. dahliae*, *S. subterranea* et *P. ultimum*).

Dans la première série d'expériences, nous avons constaté que le kit d'extraction FastDNA pour le sol fournissait systématiquement plus d'ADN que les autres kits testés (tableau 1) ($P < 0.0001$). Cependant, pour le ratio A260/A280, le kit Pro a fourni des ratios significativement plus élevés ($P < 0.0001$) et plus proches d'un ratio de 1,8, ce qui est attendu pour l'ADN (tableau 1). Le kit FastDNA Spin pour sol a fourni la plus grande quantité d'inoculum de *V. dahliae* pour les sols organiques et les loams sableux lors de la première série de tests. Cependant, le Pro Kit a fourni la plus grande quantité d'inoculum de *V. dahliae* pour les loams argileux (figure 1A). De même, lors de la deuxième série de tests, nous avons également constaté que le kit d'extraction FastDNA pour sol fournissait systématiquement plus d'ADN que les autres kits testés ($P < 0.0001$). Il est intéressant de noter que les kits IBI et Nucleospin ont donné une moyenne de moins de 10ng/ul d'ADN (Tableau 2). Pour le rapport A260/A280, les trousse EZNA et Nuclospin ont fourni des rapports significativement plus élevés ($P < 0.0001$) que les deux autres (Tableau 2). Globalement, pour la deuxième série de tests, la trousse EZNA a fourni la plus grande quantité d'inoculum de *V. dahliae* pour les sols organiques et les loams sableux ($P < 0,0001$) (Figure 4). Avant de conclure sur les meilleurs kits disponibles, nous allons tester d'autres organismes, notamment *P. ultimum*, *C. coccodes* et *S. Subterranea*.

Tableau 1. Résumé des comparaisons des kits d'extraction d'ADN pour la première série de 2021. Chaque répétition contient dix sous-échantillons pour chaque type de sol.

Trousse	Type	Rep1				Rep2				Rep3			
		Concentration d'ADN (ng/ul)	SE	Ratio (A260/A280)	SE	Concentration d'ADN (ng/ul)	SE	Ratio (A260/A280)	SE	Concentration d'ADN (ng/ul)	SE	Ratio (A260/A280)	SE
Fast DNA	Argileux	43.550	2.550	1.483	0.010	63.830	1.745	1.617	0.007	66.440	1.671	1.514	0.010
Powerlyzer	Argileux	15.970	0.559	1.708	0.004	20.890	0.459	1.769	0.007	17.460	0.355	1.757	0.003
Prokit	Argileux	22.050	1.152	1.776	0.008	44.860	1.521	1.912	0.004	43.850	1.056	1.880	0.010
Powersoil	Argileux	7.250	0.642	1.592	0.028	18.590	0.831	1.928	0.010	12.810	0.527	1.964	0.019
Fast DNA	Organique	352.660	22.412	1.278	0.011	336.350	9.491	1.562	0.014	129.290	4.242	1.668	0.007
Powerlyzer	Organique	26.720	2.180	1.180	0.008	94.680	5.122	1.519	0.020	12.650	0.702	1.855	0.018
Prokit	Organique	39.270	2.277	1.546	0.027	86.620	6.104	1.726	0.009	5.060	0.592	1.719	0.043
Powersoil	Organique	15.810	2.488	1.429	0.053	11.340	0.541	1.382	0.022	10.820	1.029	1.860	0.027
Fast DNA	Sableux	49.690	1.052	1.465	0.011	55.440	1.382	1.513	0.006	67.700	1.418	1.549	0.003
Powerlyzer	Sableux	12.620	1.186	1.720	0.017	13.830	0.254	1.945	0.012	17.830	0.284	1.939	0.023
Prokit	Sableux	38.670	0.335	1.833	0.008	32.580	0.669	1.862	0.010	53.420	0.428	1.887	0.005
Powersoil	Sableux	8.940	0.534	1.725	0.010	13.090	0.489	1.726	0.006	18.100	0.277	1.768	0.003

Tableau 2. Résumé des comparaisons des kits d'extraction d'ADN pour la première série de 2021. Chaque répétition contient dix sous-échantillons pour chaque type de sol.

Trousse	Type	Rep1				Rep2				Rep3			
		Concentration d'ADN (ng/ul)	SE	Ratio (A260/A280)	SE	Concentration d'ADN (ng/ul)	SE	Ratio (A260/A280)	SE	Concentration d'ADN (ng/ul)	SE	Ratio (A260/A280)	SE
Fast DNA	Argileux	45.04	3.23	1.46	0.04	55.12	1.50	1.59	0.01	68.31	2.14	1.44	0.01
EZNA soil kit	Argileux	14.68	0.41	1.59	0.01	36.70	1.15	1.68	0.01	33.85	1.47	1.56	0.01
IBI kit	Argileux	6.73	0.18	1.63	0.01	2.17	0.16	1.15	0.03	17.34	0.62	1.74	0.00
Nucleospin kit	Argileux	6.67	1.02	1.46	0.05	15.22	1.08	1.72	0.01	11.77	1.47	1.62	0.02
Fast DNA	Organique	566.12	24.68	1.25	0.00	344.73	21.56	1.246	0.00	89.08	3.12	1.49	0.01
EZNA soil kit	Organique	230.57	8.21	1.53	0.01	277.41	5.51	1.48	0.01	82.86	5.69	1.56	0.03
IBI kit	Organique	125.90	1.77	1.80	0.01	141.96	5.28	1.75	0.01	52.76	1.04	1.81	0.00
Nucleospin kit	Organique	91.13	1.49	1.84	0.00	117.97	5.62	1.84	0.01	51.57	0.88	1.81	0.01
Fast DNA	Sableux	45.74	3.34	1.59	0.01	40.58	1.15	1.45	0.01	43.61	1.73	1.44	0.01
EZNA soil kit	Sableux	23.59	0.42	1.60	0.01	22.92	0.47	1.60	0.03	29.14	0.51	1.61	0.01
IBI kit	Sableux	2.65	0.28	1.37	0.02	4.59	0.62	1.43	0.05	5.94	0.56	1.49	0.02
Nucleospin kit	Sableux	8.41	0.47	1.72	0.05	4.89	0.89	1.41	0.04	9.28	0.25	1.62	0.02

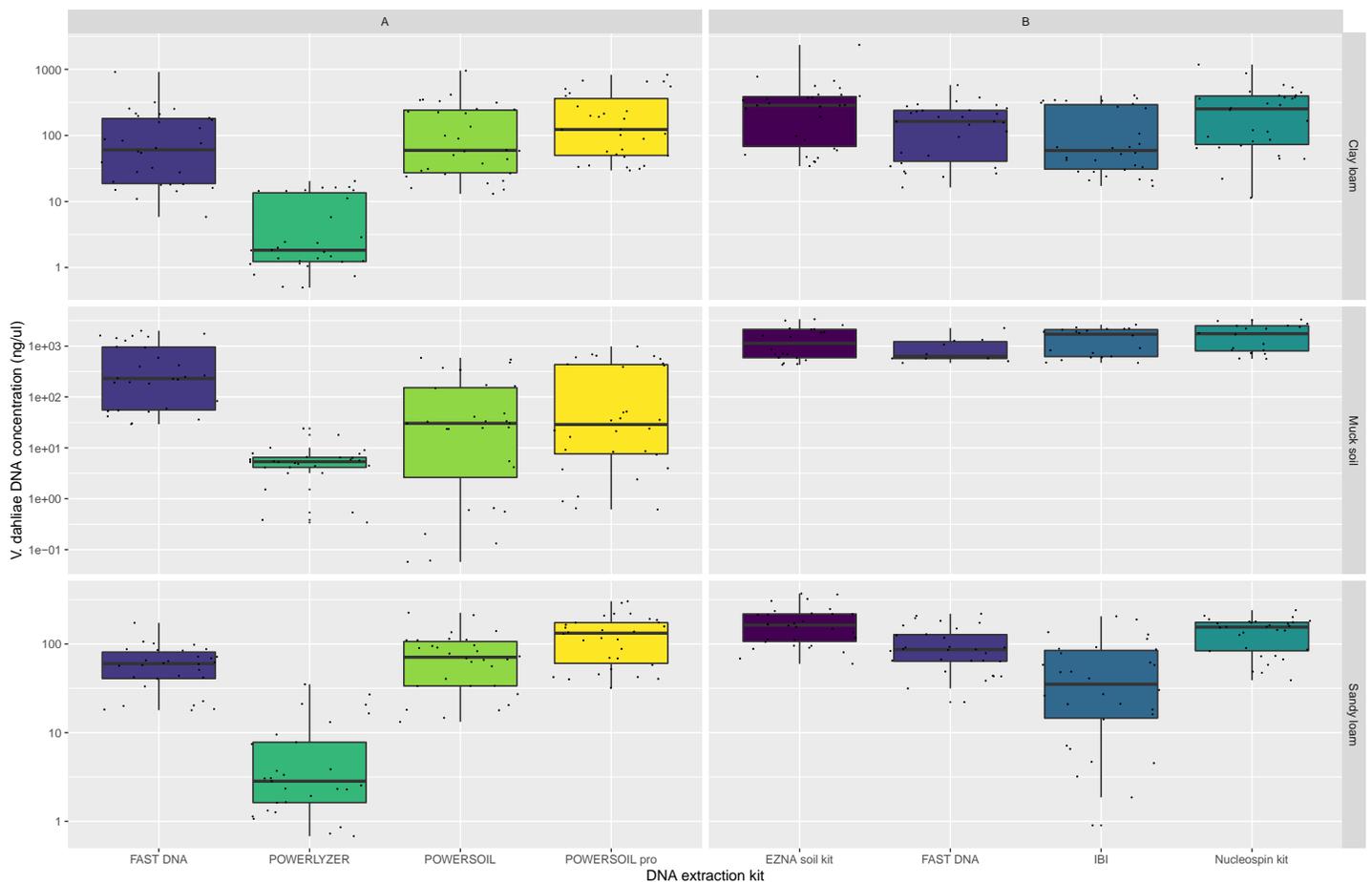


Figure 4. Boîtes à moustaches décrivant les résultats obtenus pour chaque méthode d'extraction d'ADN testée en 2021 contre *Verticillium dahliae*.

Sous-activité 5b2. Autres pathogènes du sol associé au complexe PED

Cette activité vise à exploiter les échantillons recueillis dans le cadre du projet CAN-PED pour déterminer les niveaux d'inoculum d'autres pathogènes du sol de la pomme de terre et examiner leur distribution et leur codistribution. Ces pathogènes du sol comprennent *Verticillium dahliae*, *Collectotrichum coccodes*, *Spongospora subterranea*, *Helminthosporium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora erythroseptica*, *Fusarium solani* et *P. ultimum*. Au total, nous avons reçu 308 échantillons de sol de 125 à 250 g. Dès réception, un sous-échantillon de 100 g de sol précisément a été prélevé sur chaque échantillon et séché dans une plaque d'aluminium à température ambiante pendant 24-48h, en fonction de l'humidité initiale du sol. Une fois sec, chaque sol a été homogénéisé pendant 20 secondes à l'aide d'un moulin à lame jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Après homogénéisation, 500 mg de sol ont été collectés pour l'extraction de l'ADN (200 mg pour les sols organiques). Les échantillons de sol restants ont ensuite été transférés dans un sac en plastique et stockés à 4°C.

Les échantillons ont été traités avec le kit FAST-DNA spin kit for soil (MP-Biomedical). Les échantillons de 200 ou 500 mg ont été placés dans un tube E de matrice de lyse fourni avec le kit. Les extractions d'ADN ont été réalisées en suivant le protocole fourni par le fabricant avec quelques modifications. Tout d'abord, la solution DES a été préchauffée à 55°C avant l'étape d'élution. Ensuite, après l'étape d'incubation

sur un rotateur, une rotation rapide est effectuée, 1000µl de surnageant est retiré, et la solution de matrice de liaison est remise en suspension avant d'être déposée sur un filtre rotatif. L'étape finale d'élution a été réalisée dans 100µl de solution DES préchauffée. Les extractions d'ADN ont été conservées à -20°C jusqu'à leur utilisation. Certains échantillons de sol reçus tardivement et n'ont pas encore été traités. Cependant, à la lumière des résultats obtenus à l'étape précédente, les extractions d'ADN pourraient être reprises. La quantification des agents pathogènes du sol sera effectuée par qPCR en temps réel dans un volume de réaction de 25 µl sur un instrument Quantstudio 3 Real-Time PCR System (Applied biosystems). Toutes les réactions seront réalisées en duplex avec le contrôle interne pour quantifier l'inhibition de la PCR. Toutes les réactions PCR seront ensuite réalisées en utilisant le Master Mix ECO (Thermo Fisher).

Objectifs 6. Évaluer l'efficacité du fluopyram pour contrôler les nématodes des genres *Trichodorus* et *Paratrichodorus*.

Pendant les trois années d'échantillonnage, les genres *Trichodorus* et *Paratrichodorus* n'ont pas été détectés dans les échantillons. Il n'a pas été possible d'obtenir des cultures de *Trichodorus* et *Paratrichodorus* de l'étranger. En contrepartie nous avons évalué la présence des autres espèces de nématodes et développé des outils pour la gestion des nématodes des lésions.

Objectifs 7. Élaborer un guide pour la gestion optimale du TRV et des nématodes des genres *Pratylenchus*, *Trichodorus* et *Paratrichodorus* pour réduire la dépendance aux fumigants.

Deux guides ont été développés pour aider à la compréhension et la gestion du TRV et des nématodes du genre *Pratylenchus*. Le guide sur le TRV intitulé « Maladie virale de la Pomme de terre » comporte huit sections décrivant la biologie, la symptomatologie, la distribution géographique, la gamme d'hôtes, la transmission, les facteurs de risque, la surveillance et la prévention et gestion du virus. Ce guide s'inscrit dans une démarche de prévention (biovigilance) pour prévenir des épidémies de TRV, mais aussi pour la gestion du virus dans l'éventualité de son introduction dans les zones productions de pomme de terre. Le guide sur les nématodes du genre *Pratylenchus* intitulé « Guide de gestion des nématodes des lésions dans la culture de la pomme de terre au Québec » décrit leur biologie, la symptomatologie, l'étendue de la gamme d'hôtes de même que tous les aspects entourant la gestion. Notamment, les méthodes de prévention, de dépistage et les pratiques culturales à adopter comme les rotations, le choix des variétés et le contrôle des mauvaises herbes y sont abordés. Finalement, une section sur la biofumigation décrit les facteurs de succès nécessaires pour cette pratique avant de conclure sur l'utilisation des nématicides en dernier recours. Les guides sont disponibles en français et/ou en anglais. Une version simplifiée, sous forme de pamphlet imprimable et facilement digestible par une majorité de lecteurs non experts de la biologie des organismes en questions a également été produite pour la gestion des nématodes du genre *Pratylenchus*.