

# Liens entre les semences contaminées et les maladies à *Alternaria* spp. dans le brocoli et stratégie de lutte adaptée.

Andréanne Sauvageau – Compagnie de recherche Phytodata



17 avril 2024



# COMPAGNIE DE RECHERCHE PHYTODATA



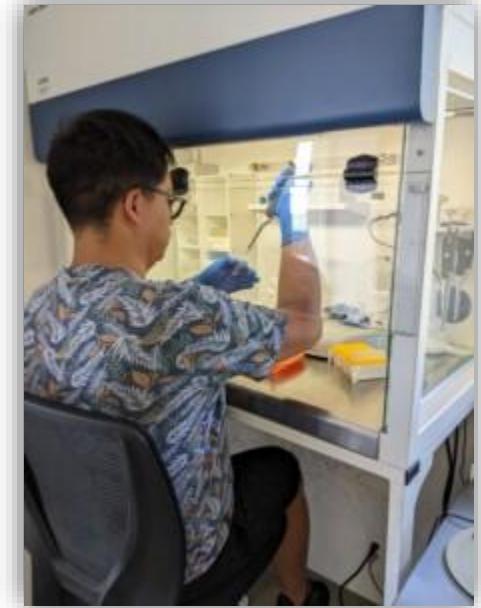
## Compagnie du PRISME (Productions en Régie Intégrée du Sud de Montréal enr.)

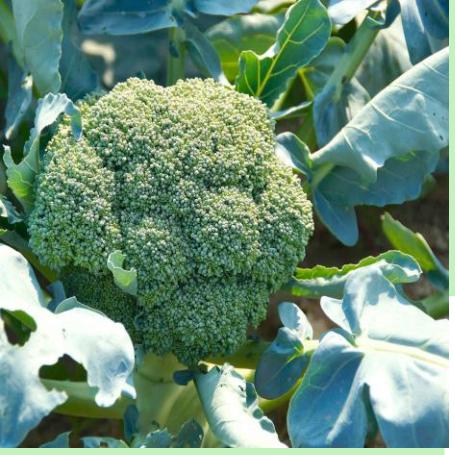
Situé dans les Jardins de Napierville, plus grand bassin de terres noires du Québec

Projets de recherche en lutte intégré, en phytopathologie et en entomologie pour le secteur maraîcher

### Expertises

- Utilisation de la biologie moléculaire (PCR quantitatif) pour la quantification des pathogènes dans le sol, l'air et les tissus (semences)
- Réseau de capteurs de spores pour le suivi des pathogènes aériens
- Évaluation de la résistance aux fongicides



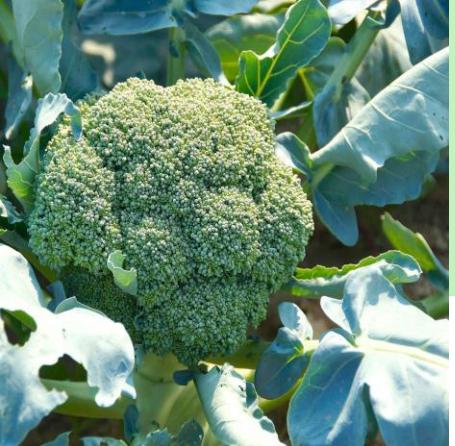


## Maladie causée par *Alternaria spp.* dans le crucifère

- Tache noire, tache grise, tache alternarienne, brûlure alternarienne
- *Alternaria brassicicola* (80%) et *A. brassicae* (20%) et autres (*A. alternata*, *A. japonica*)



1572859



## Conditions favorisant le développement de la maladie

### Températures optimales:

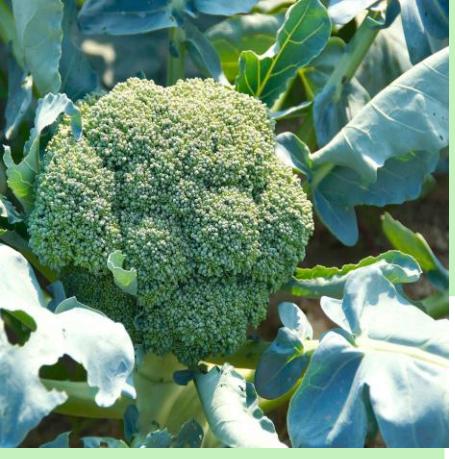
- *A. brassicicola* : 20-25°C
- *A. brassicae* : 15-20 °C
- *A. alternata* : 20-30 °C

- Vieilles feuilles plus susceptibles
- Co-infection possible entre les deux espèces

Blagojevic et al. 2020

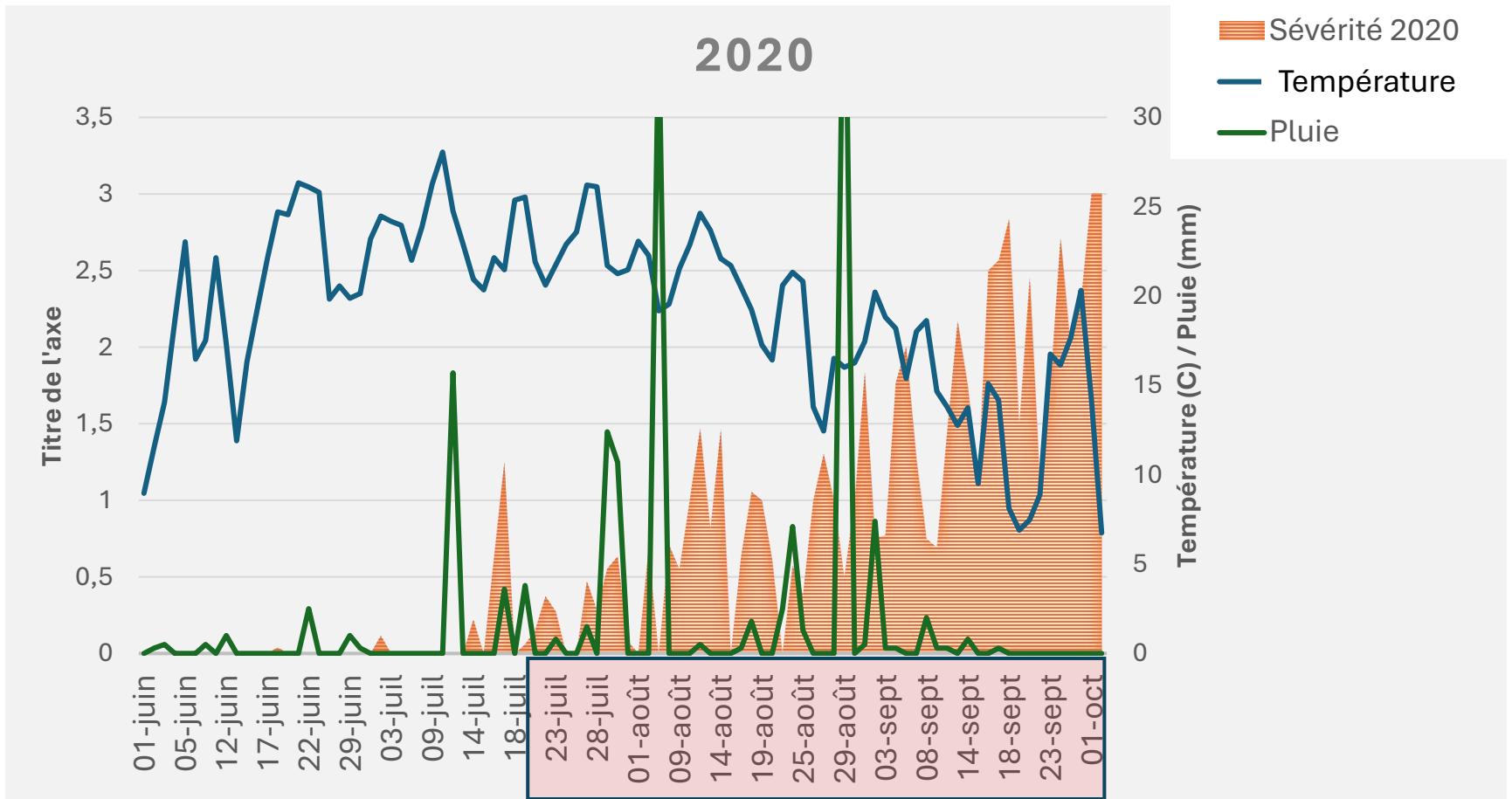
- Humidité élevée (70% - 90%) pendant une période prolongée (20-36H) = Favorise symptômes et production de spores

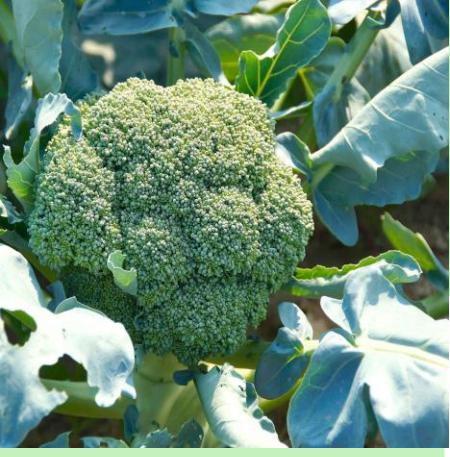
Saharan et al. 2016



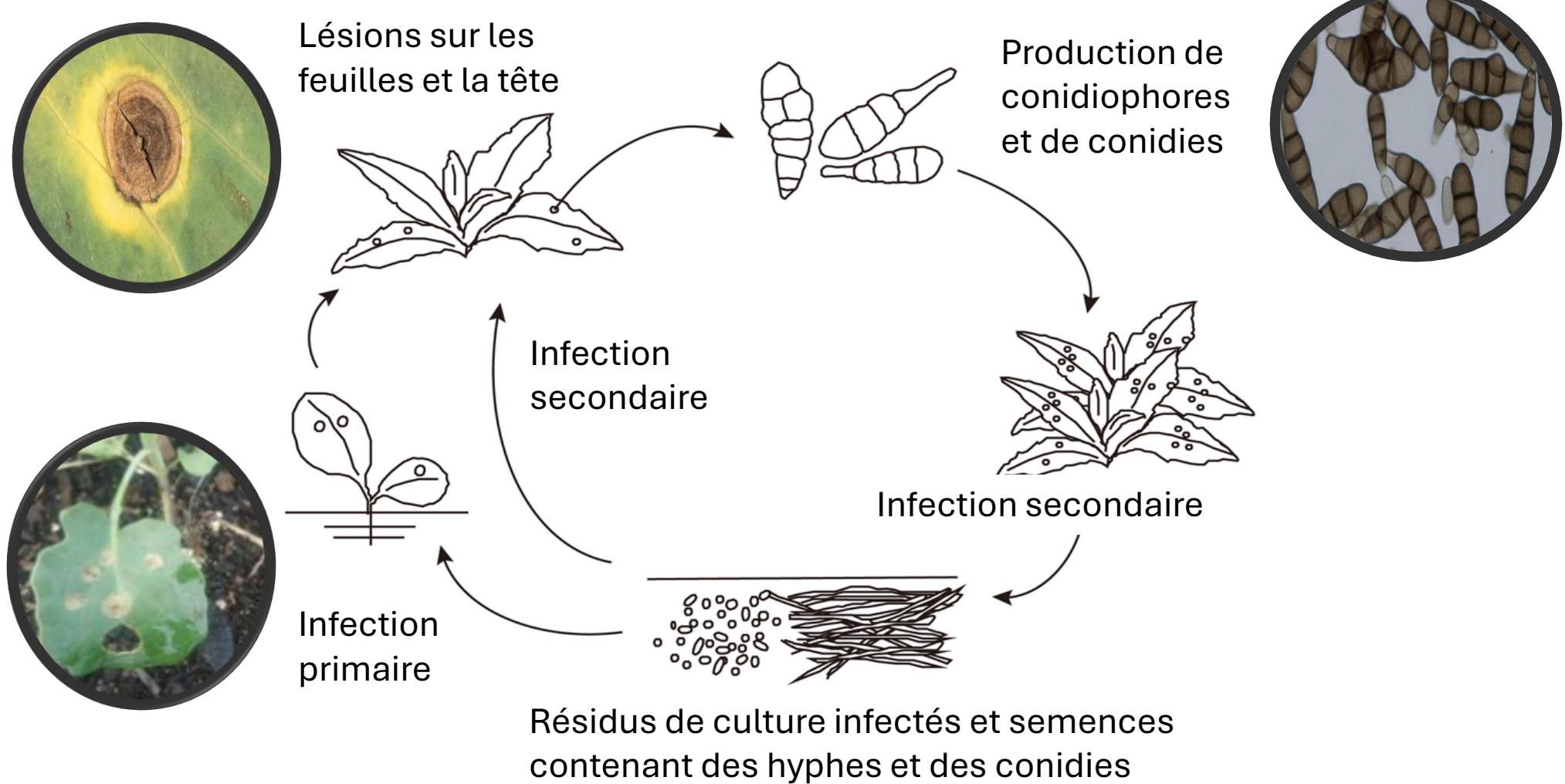
# Conditions favorisant le développement de la maladie

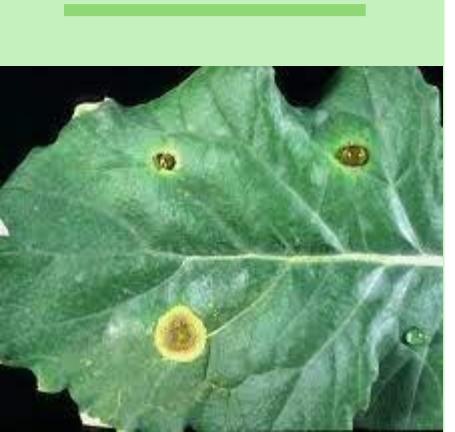
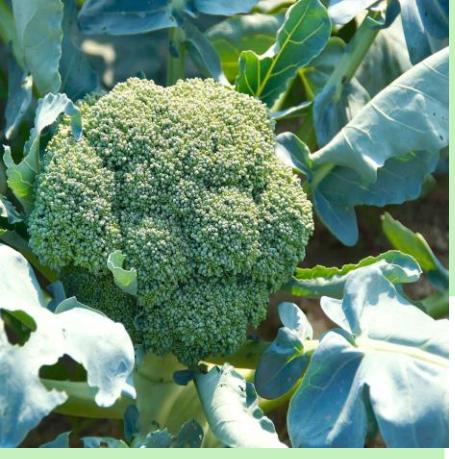
- Températures plus fraîches
- Humidité élevée pendant une période prolongée





# Cycle de vie de l'*Alternaria* spp.





## La semence est une source importante d'inoculum pour *A. brassicola*

Étude de Kohl et al. 2010 sur les infections à partir de la semence  
(chou-fleur)

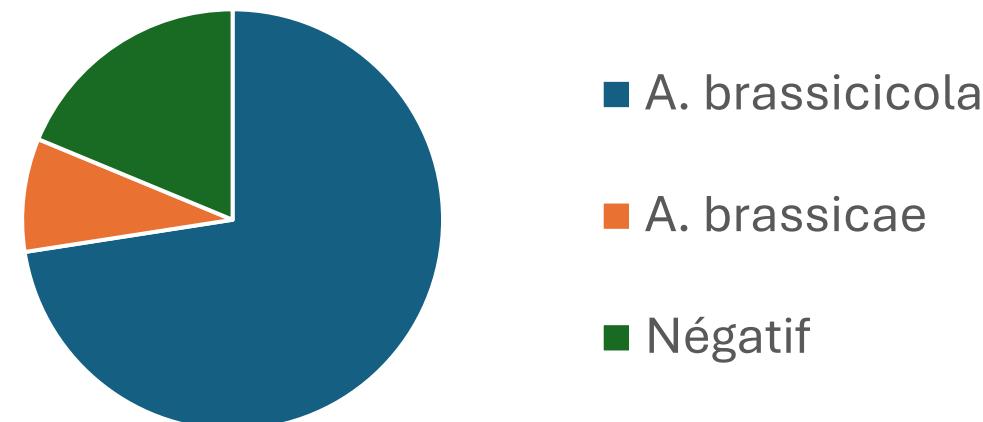
- Détection par PCR : Marqueurs moléculaires spécifiques pour les deux espèces  
(utilisation du marqueur développé par Guillemette et al. 2004 pour *A. brassicae*)
- Incidence de *A. brassiccola* sur la surface des semences = 70-90% et 62-80% à l'intérieur des semences
- Incidence de moins de 3% pour *A. brassicae*

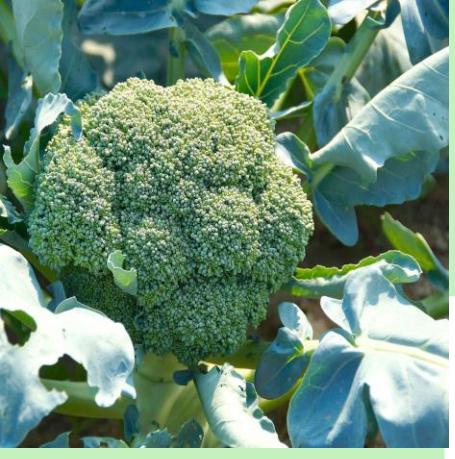


## La semence est une source importante d'inoculum pour *A. brassicicola*

160 lots testés au laboratoire depuis 2018

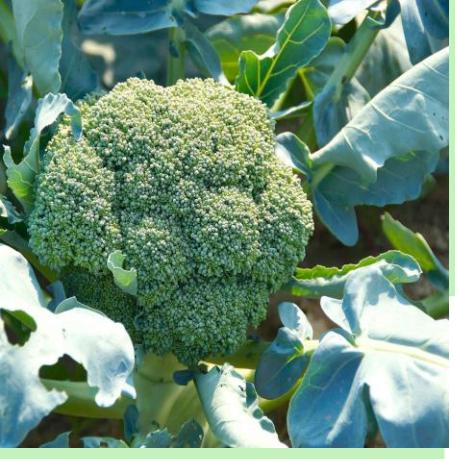
- *A. brassicicola* est détecté dans 75% des lots
- *A. brassicae* est détecté très faiblement dans 9% des lots





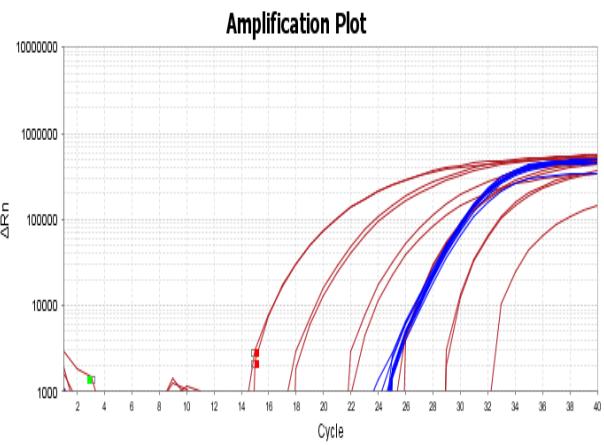
## Plusieurs questions ont conduit à un projet de recherche

- Est-ce que la présence d'*Alternaria brassicicola* dans la semence se traduit toujours en symptômes au champ?
- Est-il possible de faire un lien entre le degré de contamination et la sévérité au champ?
- Y-a-t-il un moyen de diminuer le degré de contamination d'un lot de semence?
- Comment intégrer ces informations dans nos pratiques?



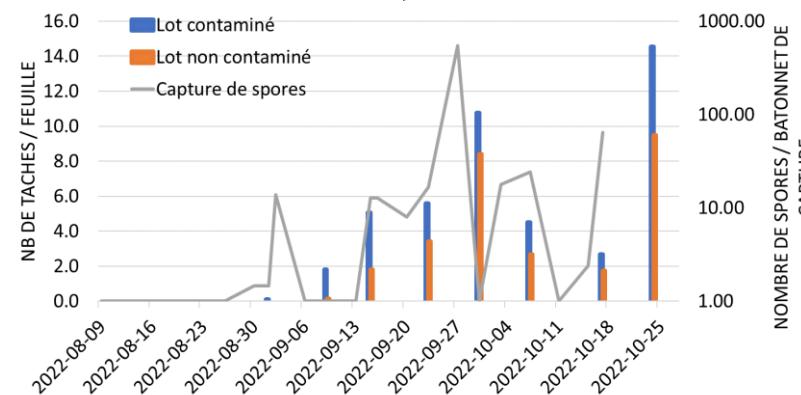
# Composantes du projet

Quantifier les lots  
par qPCR

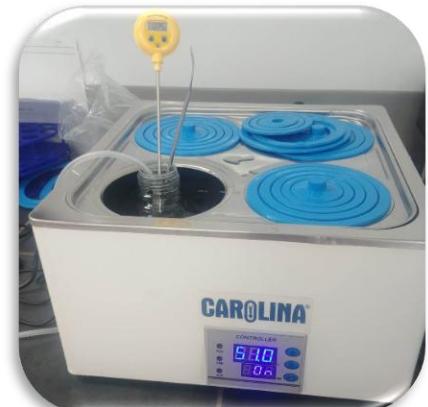


Semences contaminées

Lien entre les semences  
contaminées et le  
développement de la maladie



Évaluation de  
l'efficacité du  
traitement à l'eau  
chaude des  
semences





## Quantifier les lots par qPCR - Construction d'une courbe étalon

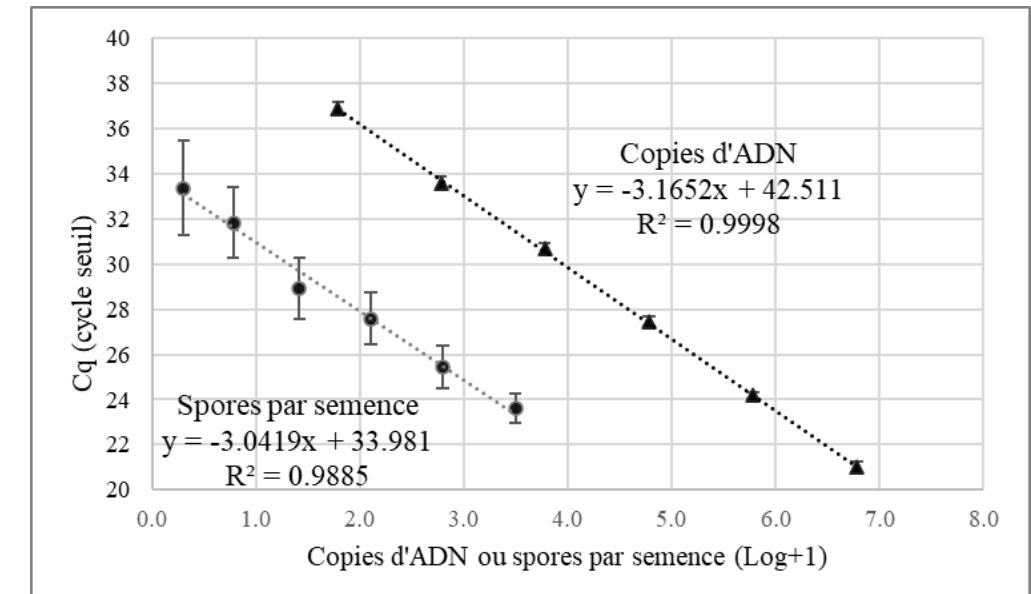
PCR → Copies d'ADN → Nombre de spores par semence

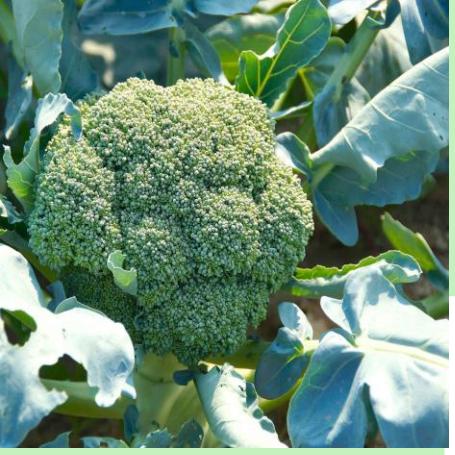


Nombre de spores dans l'air  
(capteur de spores)

Inoculation artificielle de  
semence à différente  
concentration de spores de  
*A. brassicicola*

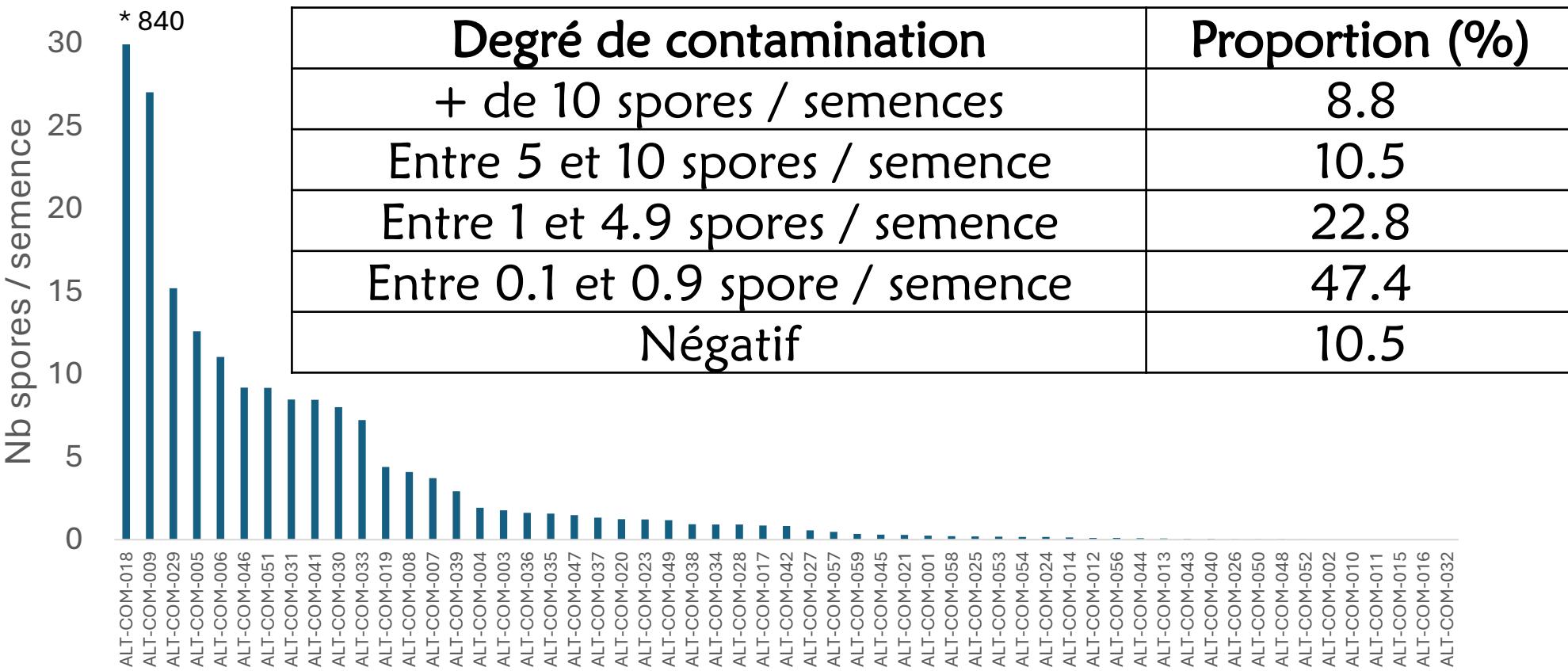
| T1 | T2 | T3 | T4  | T5  | T6   |
|----|----|----|-----|-----|------|
| 1  | 5  | 25 | 125 | 325 | 3125 |





## Quantifier les lots par qPCR pour *A. brassicicola*

- Entre 2021 et 2023 = 57 lots

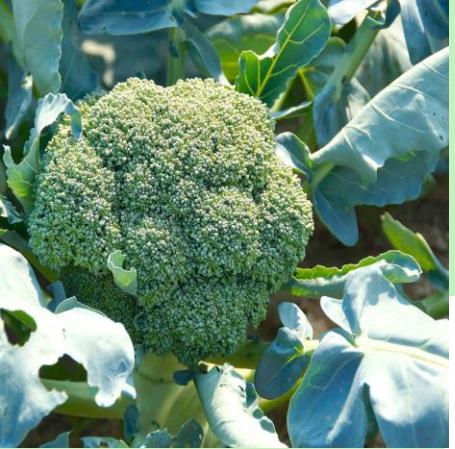




## Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes – Volet conditions semi-contrôlées

### Méthodes

- Comparaison d'un lot très contaminé VS lot sain
- Expérience en bac extérieur loin des champs
- Prise d'échantillon dans les tissus à un stade très jeune
- Observation des symptômes de tache alternarienne du semis à la récolte

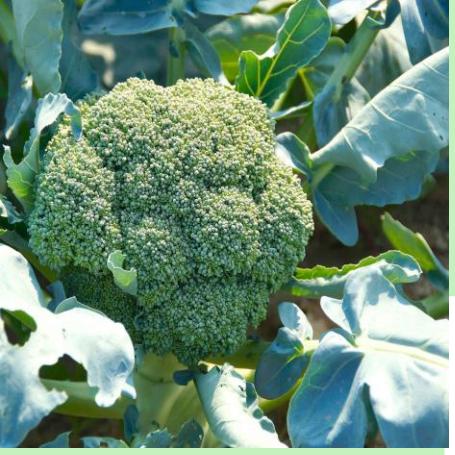


## Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes – Volet conditions semi-contrôlées

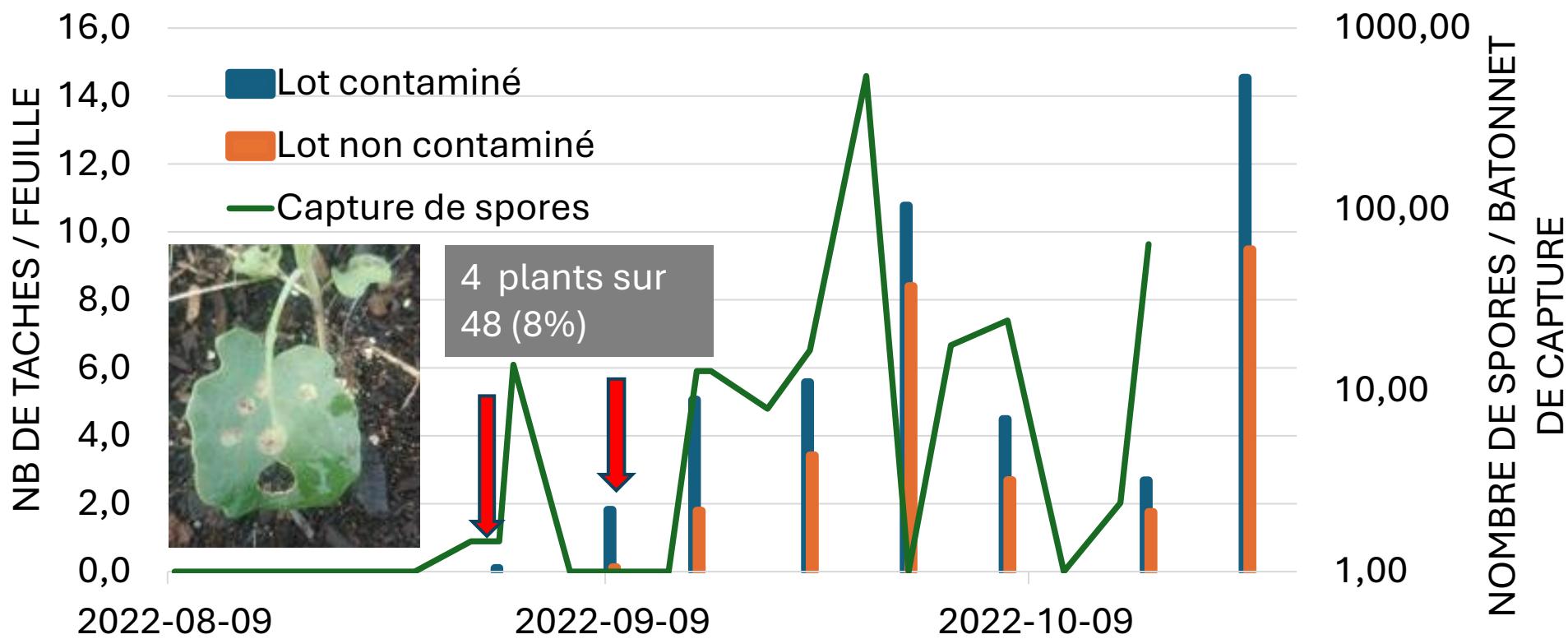
### Détection dans les tissus

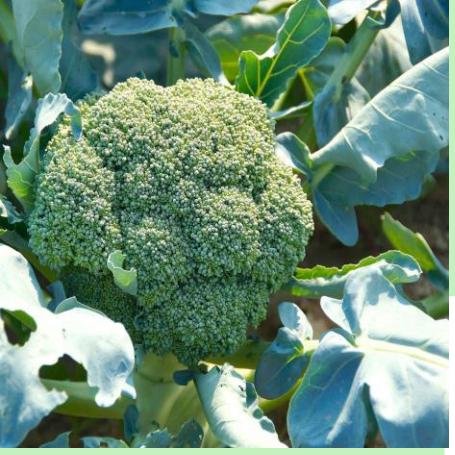
| Réplica      | Stade cotylédon |          | Stade 1 feuille |            | Stade 6-10 feuilles** |            |
|--------------|-----------------|----------|-----------------|------------|-----------------------|------------|
|              | Lot contaminé   | Lot sain | Lot contaminé   | Lot sain   | Lot contaminé         | Lot sain   |
| Expérience 1 | 0/8             | 0/8      | <b>2/8</b>      | 0/8        | <b>3/8</b>            | <b>1/8</b> |
| Expérience 2 | <b>1/8</b>      | 0/8      | <b>3/8</b>      | <b>2/8</b> | 8/8                   | 8/8        |

- Déetecter en premier et à un jeune stade pour le lot contaminé
- Déetecter dans plus de groupes pour le lots contaminé (déjà de la contamination croisée à ce stade?)

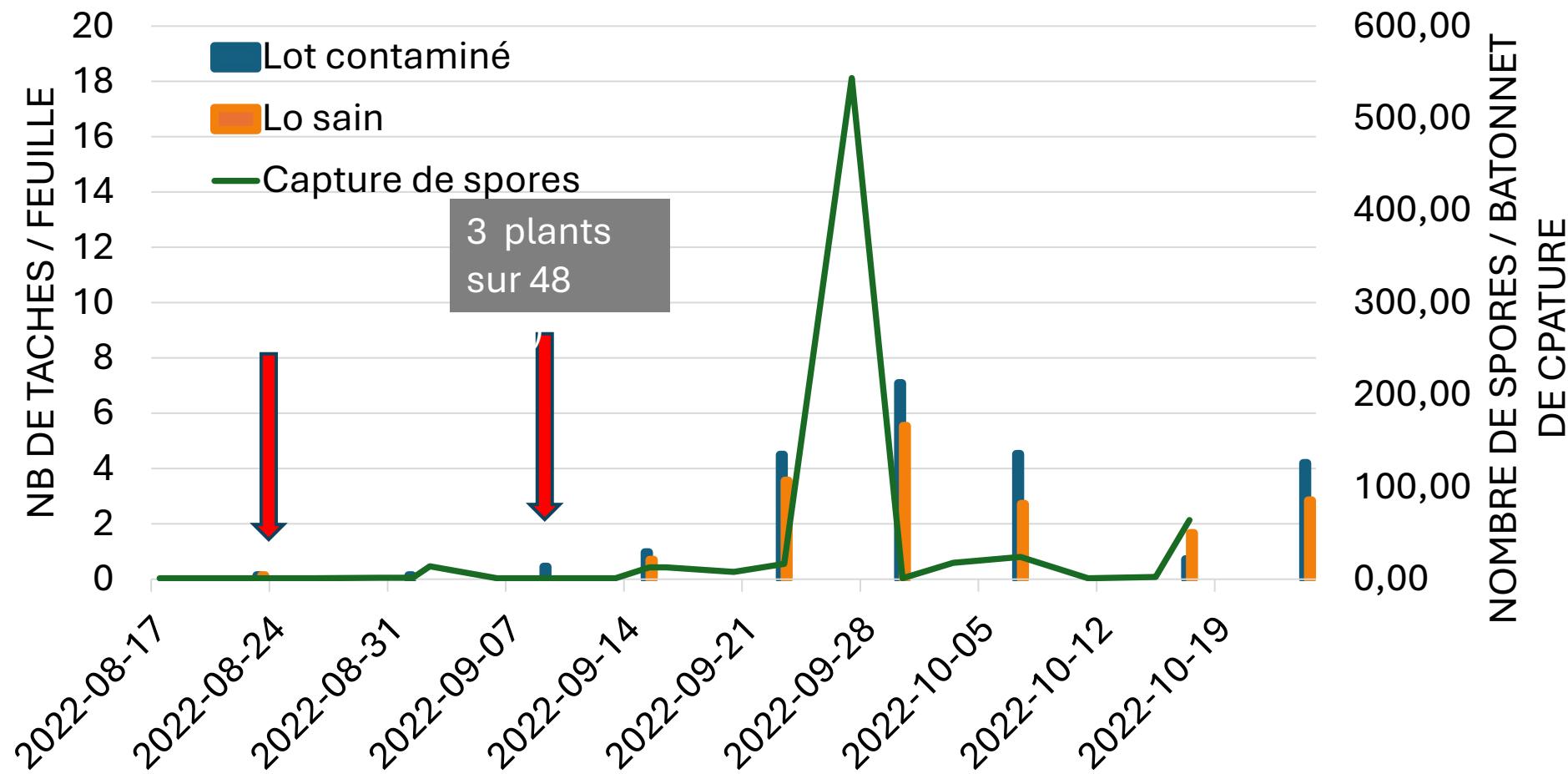


# Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes





## Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes – Volet conditions semi-contrôlées





## Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes – Volet conditions semi-contrôlées

### En résumé

- *A. brassicicola* est détecté dans les tissus dès le stade cotylédon, sans toutefois causer de symptômes
- Les premiers symptômes proviennent du lot contaminé et surviennent en même temps que l'arrivée des premières spores

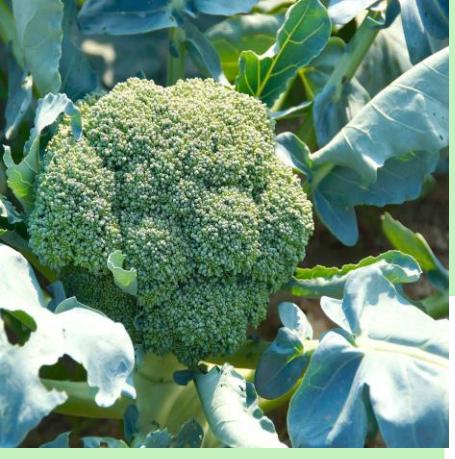


## Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes – Au champ

### Et au champ?

#### Méthodes

- En 2021, 2022 et 2023 = Suivis de 24 lots de semences préalablement quantifiées au laboratoire
- 39 unités de dépistage (semi)
- Dépistage de 40 plants par unité à chaque semaine jusqu'à la récolte
- Capteurs de spores (1 par producteur) (support seulement)



# Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes – Au champ

## Et au champ?

### Résultats

#### Analyse de corrélation de Spearman

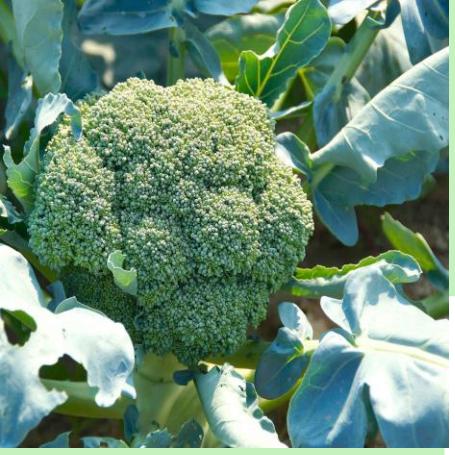
| Variables                  | Degré Contamination du lot | AUDPC Feuille | JJ date plantation |
|----------------------------|----------------------------|---------------|--------------------|
| Degré contamination du lot | 1                          | 0.125         | 0.152              |
| AUDPC Feuille              | 0.125                      | 1             | 0.405              |
| JJ date plantation         | 0.152                      | 0.405         | 1                  |
| Cumul spores               | 0.496                      | 0.085         | 0.305              |

Degré contamination du lot : Nb spores/ semence

AUDPC feuille : Indice de sévérité de la maladie

JJ date plantation : Date de plantation

Cumul spores : Cumul des captures aériennes de spores pendant la période au champ



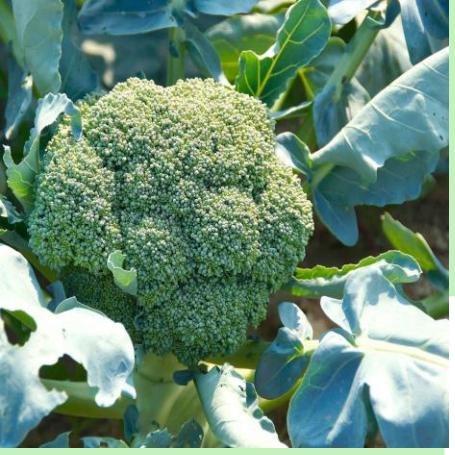
## Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes – Au champ

### Et au champ?

- Effet simultané de la période de plantation et du degré de contamination du lot de semence

Régie conventionnelle (régie du producteur)

| Degré contamination de lot de semence | Indicateur de maladie  | Avril - Mai | Juin - Juillet | Mi-Juillet - Mi Août |
|---------------------------------------|------------------------|-------------|----------------|----------------------|
| 5+                                    | AUDPC min-max          | 0-72        | 34-51          | 136-141              |
| 5+                                    | % Tête Moyenne min-max | 0 - 5%      | 0-3%           | 0%                   |
| 1-4                                   | AUDPC min-max          | NA          | 1-25           | 52-131               |
| 1-4                                   | % Tête Moyenne min-max | NA          | 0%             | 0-5%                 |
| > 1                                   | AUDPC min-max          | 0-26        | 6-9            | 4-530                |
| > 1                                   | % Tête Moyenne min-max | 0%          | 0%             | 0-28%                |



## Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes – Au champ

**Les premières apparitions semblent se faire dans les lots contaminés, même chose au niveau régional?**

- Accès aux données de dépistage de tous les producteurs et de tous les champs dépistés pour les membres du Consortium

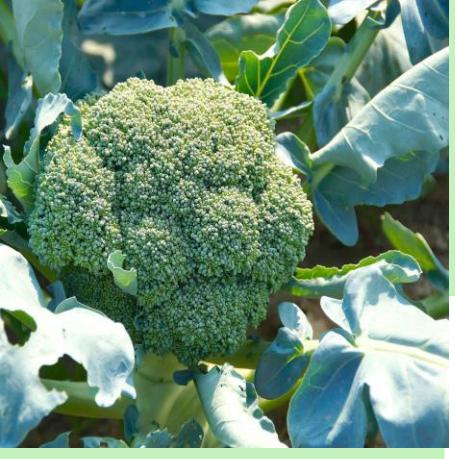


# Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes – Au champ

**2023**

| Date             | Producteur | Champ / semis | Spores / semence | Capture aux environs de cette date           |
|------------------|------------|---------------|------------------|--|
| 10 juillet 2023  | A          | G3            | 9.17             | Première capture sur la ferme le 12 juillet  |
| 11 juillet 2023  | B          | MN1           | 9.19             |  |
| 18 juillet 2023  | C          | D4            | 2.9              | Première capture sur la ferme le 23 juillet  |
| 19 juillet 2023  | A          | 48            | 1.18             |  |
| 20 juillet 2023  | A          | 40            | 1.18             | Première capture dans le champ le 12 juillet |
| 8 août 2023      | B          | TA1           | ND               |  |
| 8 août 2023      | B          | TA2           | ND               |  |
| 8 août 2023      | B          | TA3           | ND               |  |
| 8 août 2023      | B          | TA4           | ND               |  |
| 8 août 2023      | B          | MN6           | ND               |  |
| 8 août 2023      | B          | MN7           | ND               |  |
| 8 août 2023      | B          | CH2           | 0.47             |  |
| 8 août 2023      | B          | MN8           | 1.48             |  |
| 8 août 2023      | B          | CH3           | 0.31             |  |
| 8 août 2023      | B          | CH4           | ND               |  |
| 8 août 2023      | B          | CH5           | ND               |  |
| 21 août 2023     | A          | CM80          | 0.02             |  |
| 23 août 2023     | A          | PB44          | 0.02             |  |
| 23 août 2023     | A          | TU72          | 0.02             |  |
| 24 août 2023     | A          | CM80          | 0.02             |  |
| 24 août 2023     | A          | CM79          | 0.02             |  |
| 24 août 2023     | A          | TU73          | 0.02             |  |
| 29 août 2023     | A          | TU71          | 0.02             |  |
| 9 septembre 2023 | C          | FON3B         | ND               |  |
| 9 septembre 2023 | C          | MAD1          | ND               |  |
| 9 septembre 2023 | C          | B1            | 0.82             |  |

**Capteur au champ à partir du 18 juin**

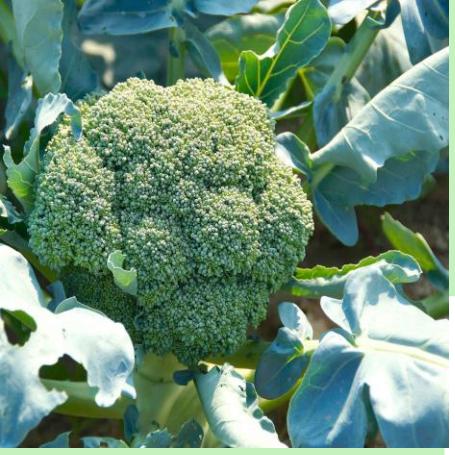


**2022**

Capteur au champ à  
partir du 17 juin

Pas de capture  
de spores sur  
la ferme A  
avant le 30  
juin →

| Date            | Producteur | Degré contamination des lots (spores / semence) |
|-----------------|------------|---|
| 13 juin 2022    | A          | 11.0  |
| 13 juin 2022    | A          | ND  |
| 13 juin 2022    | A          | ND  |
| 13 juin 2022    | A          | 11.0  |
| 13 juin 2022    | A          | 11.0  |
| 13 juin 2022    | A          | ND  |
| 13 juin 2022    | A          | ND  |
| 16 juin 2022    | B          | ND  |
| 20 juin 2022    | A          | ND  |
| 20 juin 2022    | A          | ND  |
| 21 juin 2022    | A          | ND  |
| 21 juin 2022    | A          | ND  |
| 21 juin 2022    | A          | ND  |
| 21 juin 2022    | A          | ND  |
| 24 juin 2022    | A          | ND  |
| 5 juillet 2022  | A          | 8.0   |
| 5 juillet 2022  | A          | 8.0   |
| 13 juillet 2022 | A          | 8.0   |
| 18 juillet 2022 | A          | 8.0   |
| 22 juillet 2022 | C          | ND  |
| 23 juillet 2022 | A          | 8.0   |
| 23 juillet 2022 | A          | 8.0   |
| 23 juillet 2022 | A          | 8.0   |
| 30 juillet 2022 | A          | ND  |
| 1 août 2022     | A          | 8.0   |
| 1 août 2022     | A          | 8.0   |
| 1 août 2022     | A          | ND  |
| 5 août 2022     | A          | 4.1   |
| 5 août 2022     | A          | 4.1   |



## Lien entre le degré de contamination et l'apparition des symptômes – Au champ

### En résumé

- Premières apparitions de symptômes semblent provenir de lots fortement contaminés
- Corrélation entre le cumul des spores dans l'air et le degré de contamination du lot
- Le lien est ensuite difficile à faire dû aux contaminations provenant de l'inoculum secondaire (sporulation et propagation aérienne de la maladie)

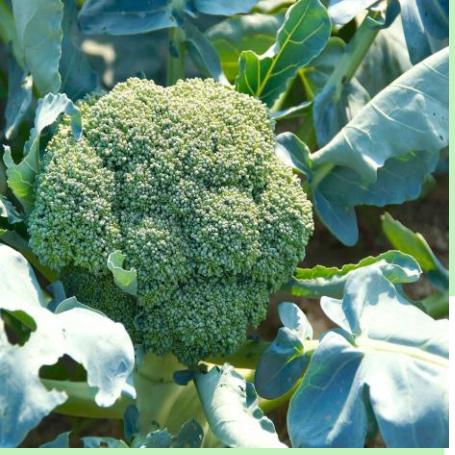


# Stratégie de lutte dans une régie à moindre risque Évaluation de l'efficacité du traitement à l'eau chaude

## Méthodes

- Protocole de l'université du Massachusset:
  1. Préchauffage de 10 min à 37.8°C (100°F)
  2. Chauffage de 20 min à 50°C (122°F)



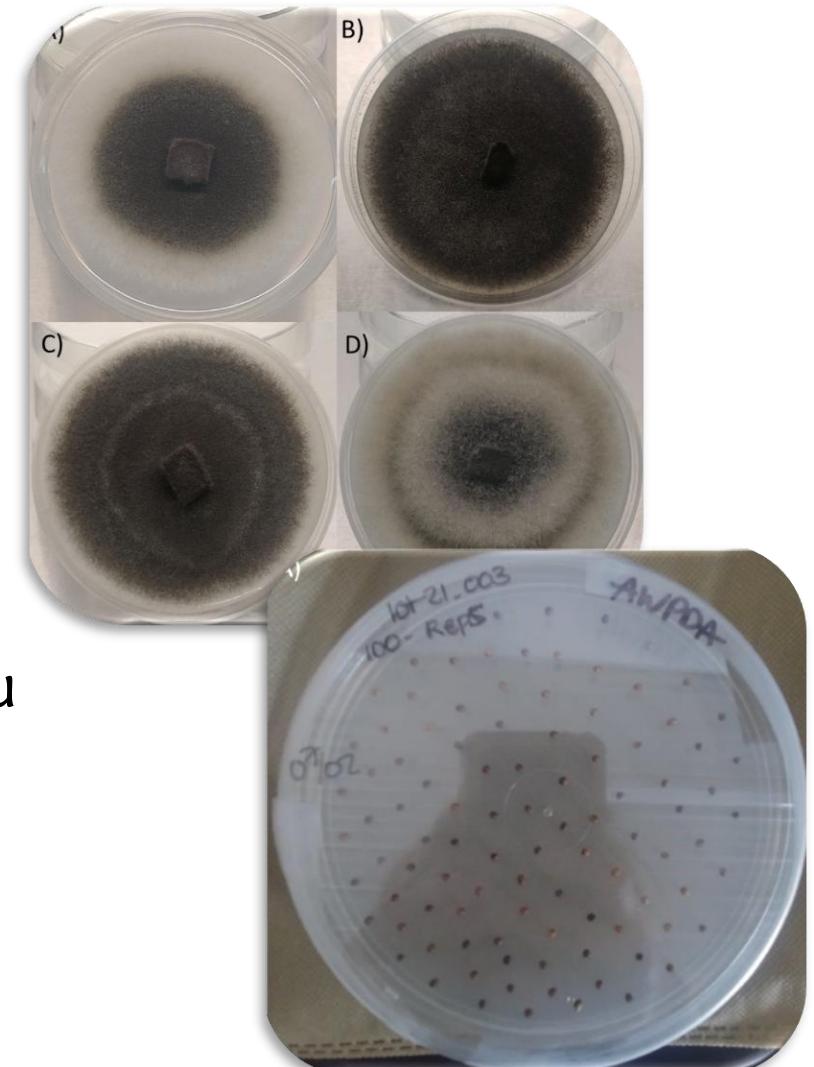


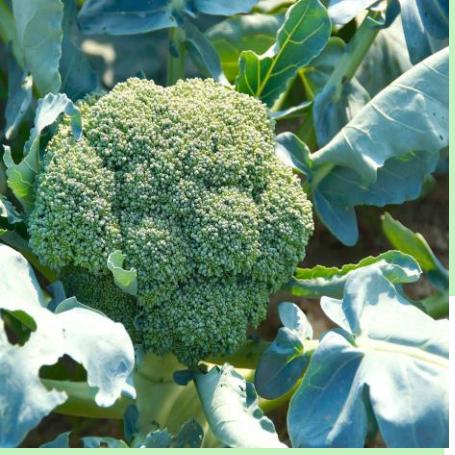
# Stratégie de lutte dans une régie à moindre risque

## Évaluation de l'efficacité du traitement à l'eau chaude

### Méthodes

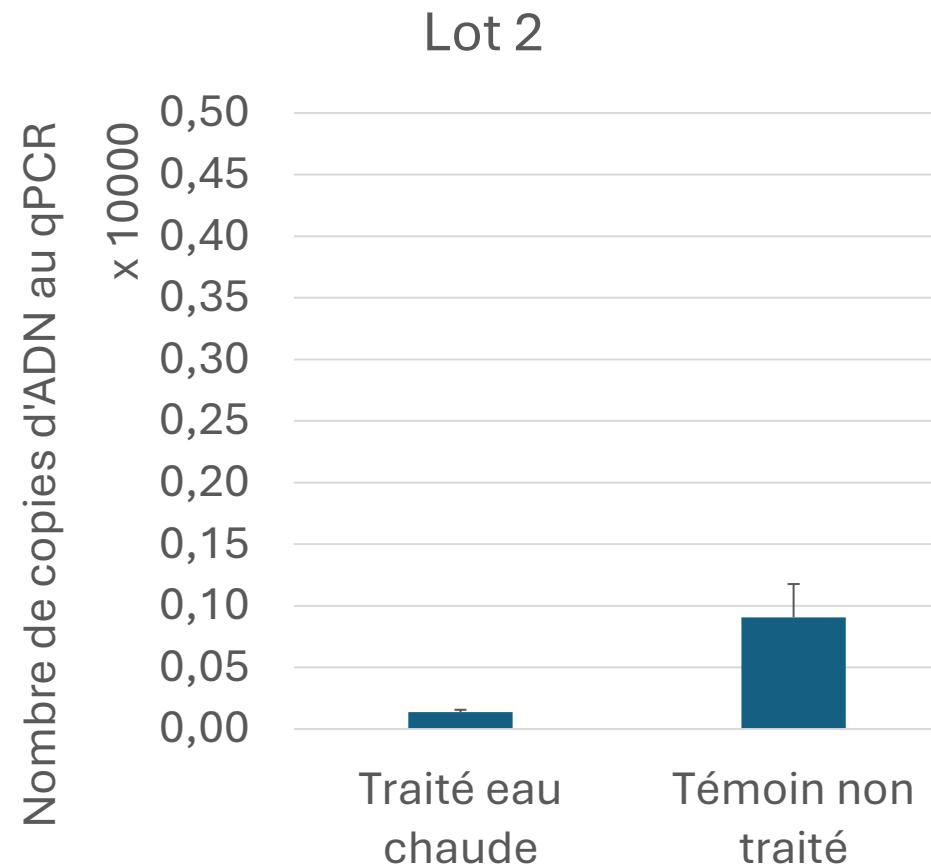
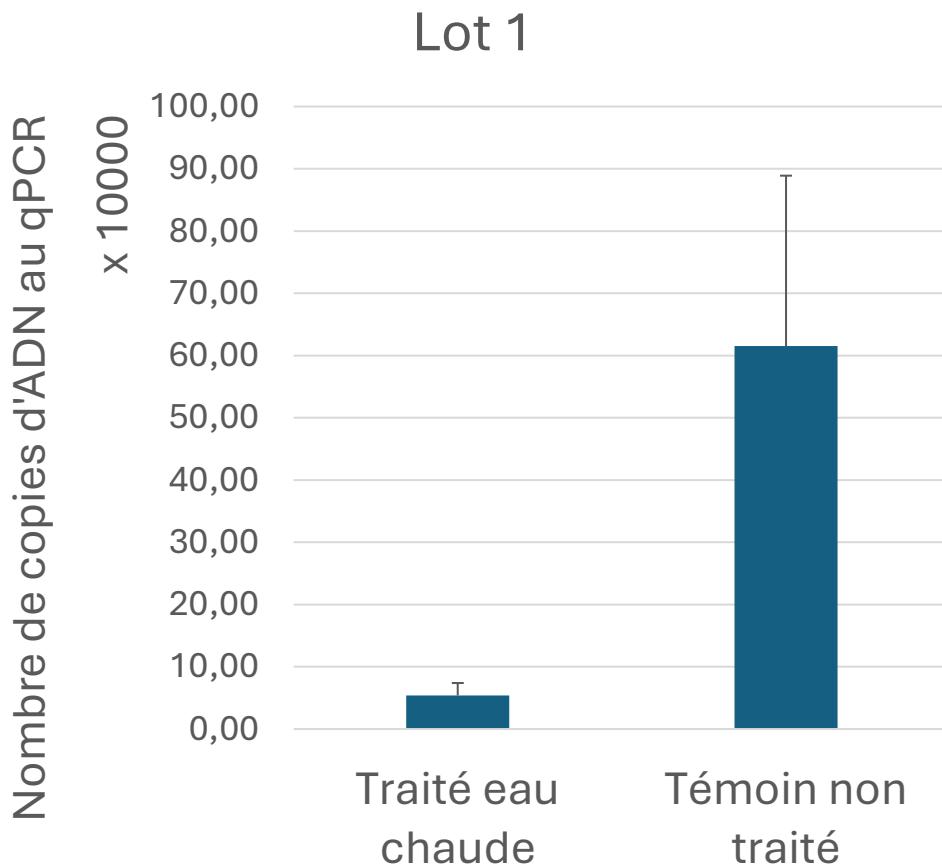
- Laissez sécher les semences pour 5 jours à température ambiante
- Évaluation et comparaison témoin non traité VS semences traitées
  - Quantification par qPCR
  - Croissance de *A. brassicicola* sur milieu de culture
  - Évaluation de la germination sur milieu de culture

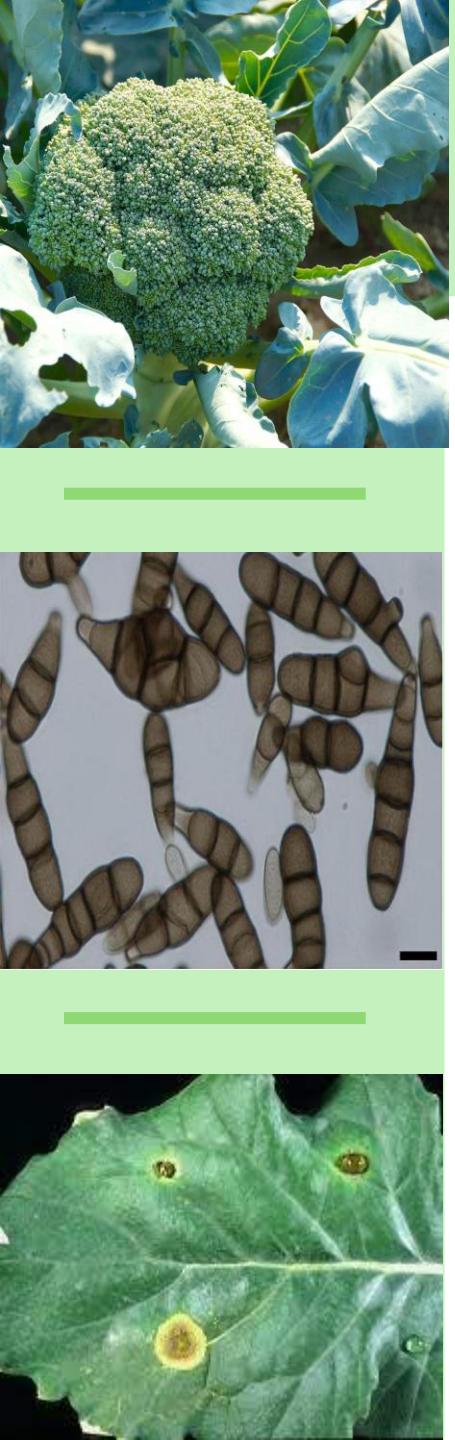




# Stratégie de lutte dans une régie à moindre risque

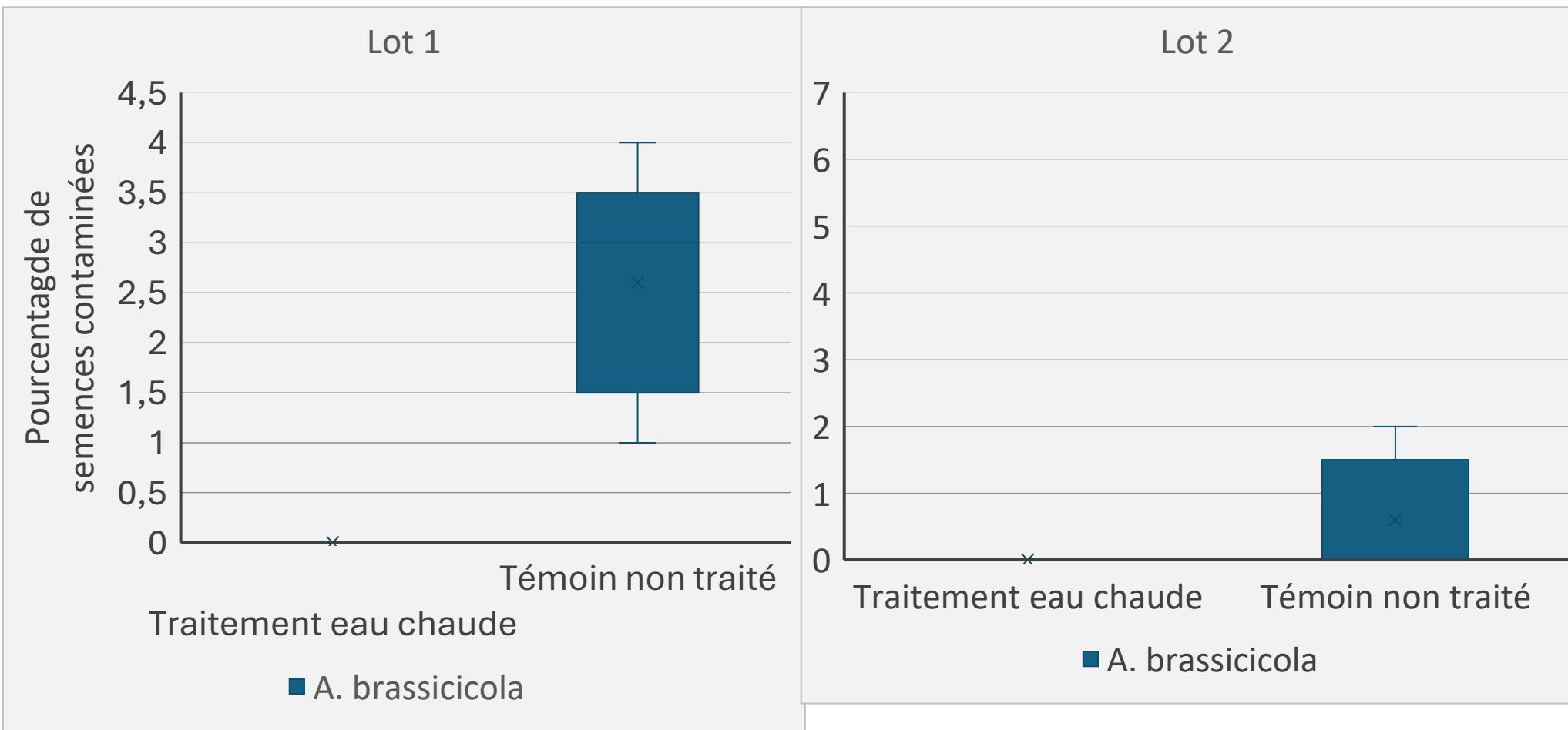
## Évaluation de l'efficacité du traitement à l'eau chaude

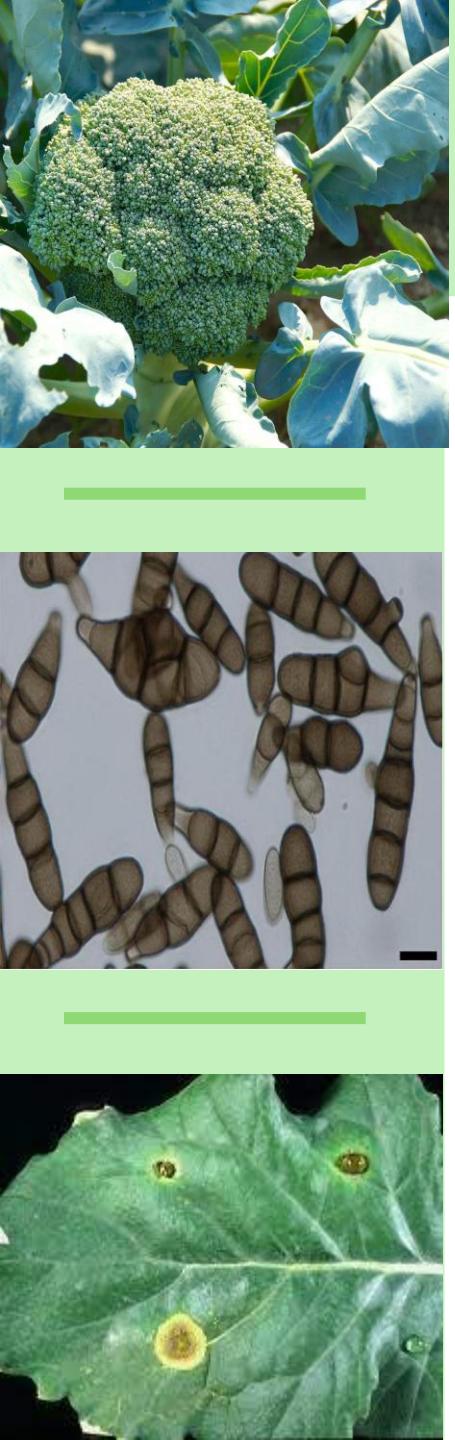




# Stratégie de lutte dans une régie à moindre risque

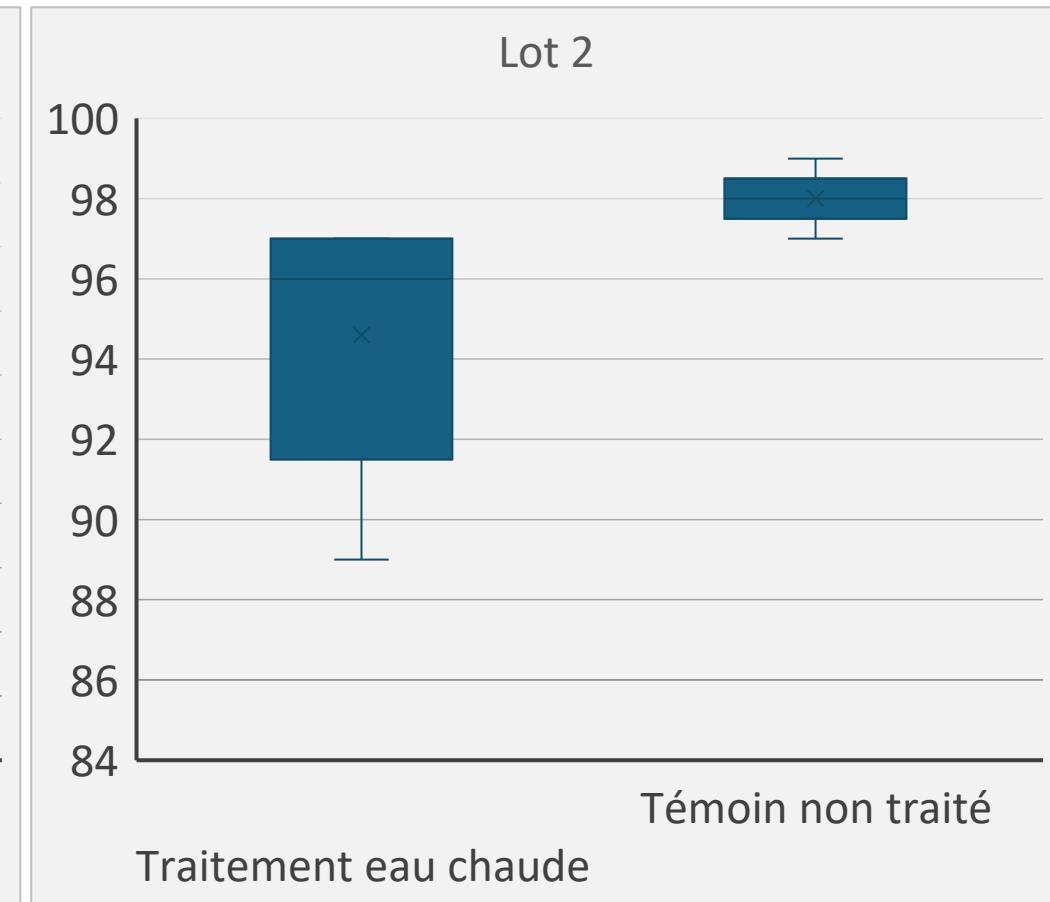
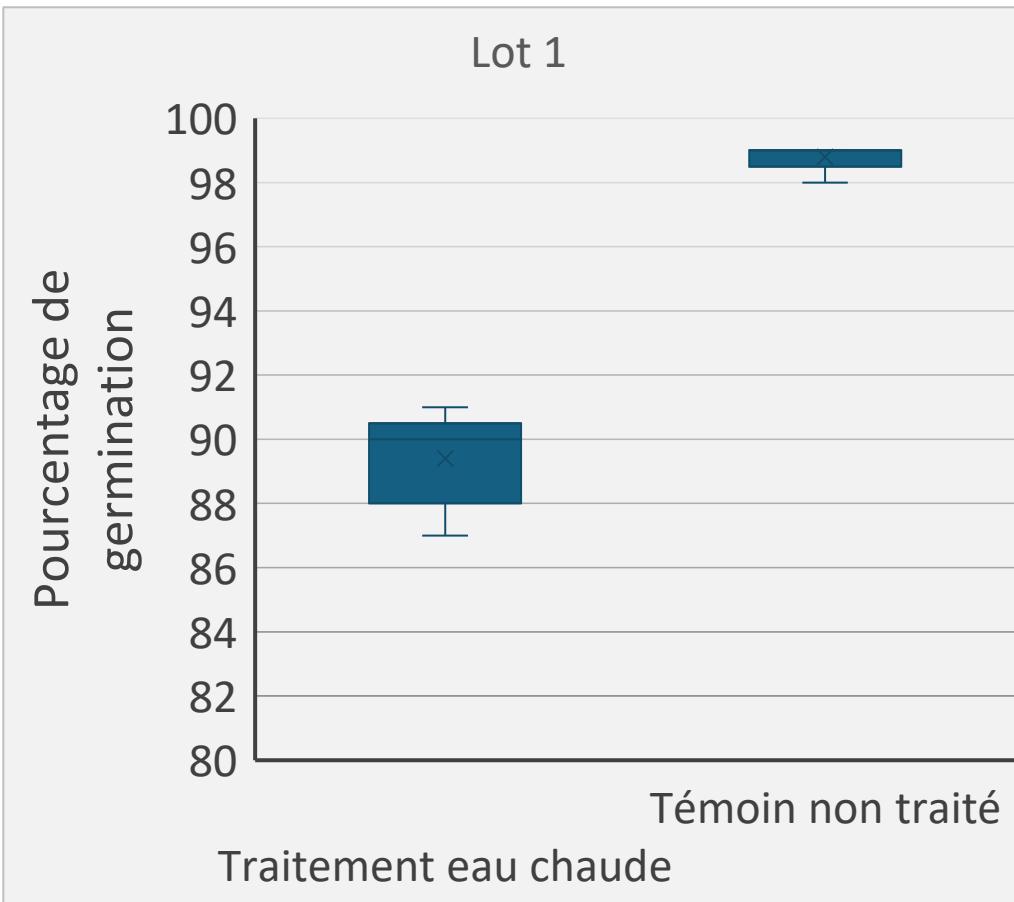
## Évaluation de l'efficacité du traitement à l'eau chaude

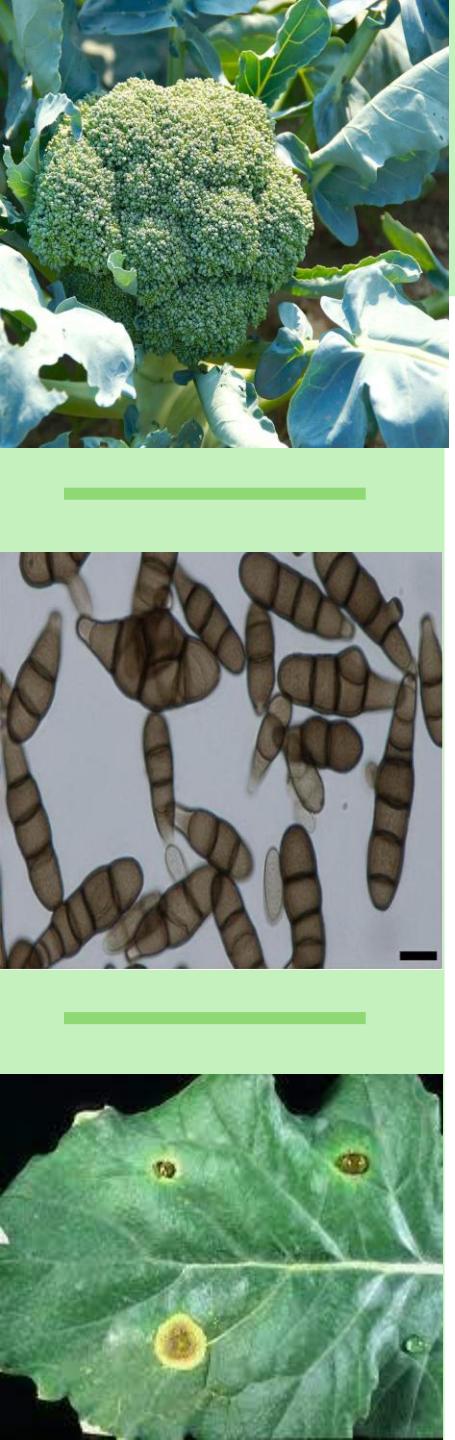




# Stratégie de lutte dans une régie à moindre risque

## Évaluation de l'efficacité du traitement à l'eau chaude

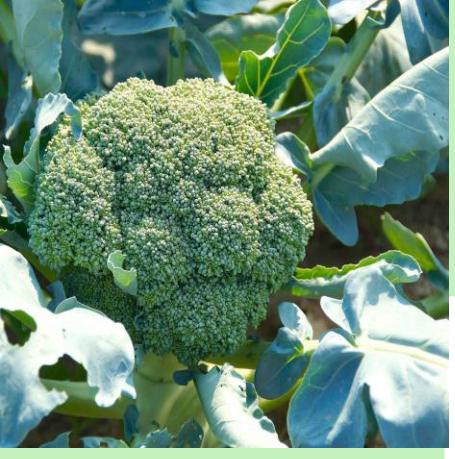




# Stratégie de lutte dans une régie à moindre risque

| Tx | Traitements   |   |  |
|----|---|---|--|
| T1 | Inoculum faible                                     | + | Régie biologique (faible risque)                             |
| T2 | Inoculum faible                                     | + | Non traité   |
| T3 | Inoculum modéré -<br>semence traitées eau<br>chaude | + | Régie bio (faible risque) - Régie<br>chimique (risque élevé) |
| T4 | Inoculum modéré                                     | + | Non traité   |
| T5 | Inoculum élevé - semences<br>traitées eau chaude    | + | Régie bio (faible risque) - Régie<br>chimique (risque élevé) |
| T6 | Inoculum élevé                                      | + | Non traité   |

|         |          |         |         |         |
|---------|----------|---------|---------|---------|
| 1 rang  | 106 -T3  | 206 -T1 | 306 -T6 | 406 -T5 |
|         | 105 -T1  | 205 -T2 | 305 -T4 | 405 -T3 |
|         | 104 -T4  | 204 -T3 | 304 -T5 | 404 -T1 |
|         | 103 -T6  | 203 -T4 | 303 -T3 | 403 -T2 |
|         | 102 -T5  | 202 -T6 | 302 -T2 | 402 -T4 |
|         | 101 - T2 | 201 -T5 | 301 -T1 | 401 -T6 |
| 4 rangs |          |         |         |         |



# Stratégie de lutte dans une régie à moindre risque

## En résumé

Site d'été 2022

| Tx                      | Traitement Eau chaude | 12-juil | 19-juil | 29-juil | 03-août | 10-août | 24-août | 30-août |
|-------------------------|-----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| T1 – T2                 | Semence non traité    | 0       | 0       | 0.2     | 0 B     | 0 B     | 8       | 27 B    |
| T3                      | Semence traité        | 0       | 0       | 0.0     | 0.0 B   | 0 B     | 6       | 23 B    |
| T4                      | Semence non traité    | 0       | 0       | 0.0     | 0.0 B   | 0.2 AB  | 11      | 27 AB   |
| T5                      | Semence traité        | 0       | 0       | 0.0     | 0.2 AB  | 0.7 A   | 8       | 28 AB   |
| T6                      | Semence non traité    | 0       | 0       | 0.2     | 0.3 A   | 0.4 A   | 8       | 32 A    |
| Effet significatif<br>* |                       |         |         |         | *       | *       |         | *       |



# Stratégie de lutte dans une régie à moindre risque

# En résumé

# Site d'automne 2022

# Début des captures aériennes

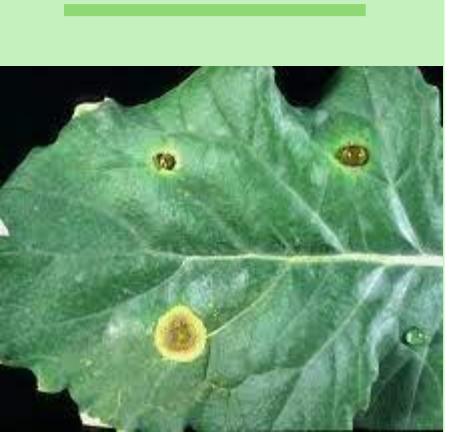
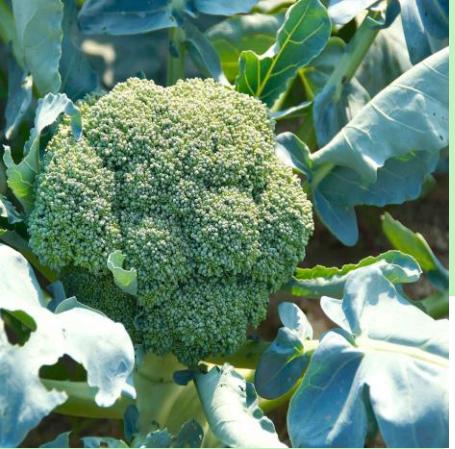
## Application fongicide et bio-fongicide



# Stratégie de lutte dans une régie à moindre risque

## En résumé

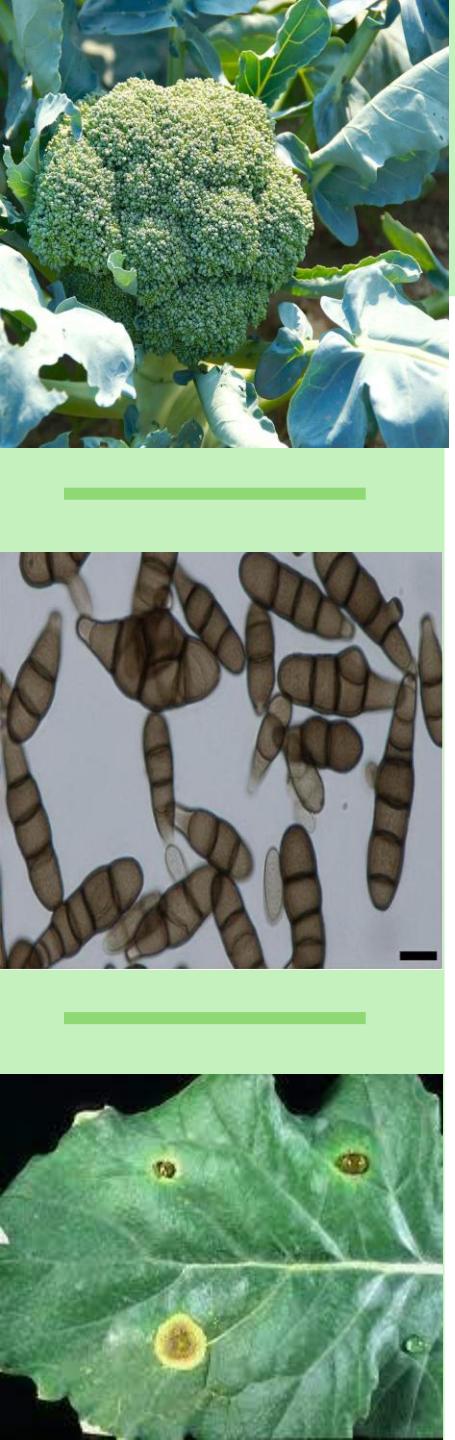
- Diminue la quantité détectée au qPCR mais on n'isole plus le pathogène par méthode sur pétris
- Le traitement diminue légèrement le taux de germination
- Au champ : Effet significatif du traitement de semence à l'eau chaude pour le lot modéré, tendance pour le lot sévère
- Utile pour d'autres pathogènes de semences également (nervation noire, tache bactérienne...)



## Stratégie de lutte dans une régie à moindre risque Évaluation de l'efficacité du traitement à l'eau chaude

### EN CONCLUSION

- Les semences contaminées peuvent bel et bien être une source de premier inoculum
- La quantification des lots de semences devrait être fait pour éviter de planter des lots contaminés (possibilité de faire tester vos lots 2024 chez Phytodata)
- Le traitement à l'eau chaude peut être une avenue intéressante si on veut vraiment pouvoir utiliser un lot contaminé, mais il y a des limites à l'efficacité selon le degré de contamination initial



# MERCI! DES QUESTIONS?

Québec



Producteurs et  
conseillers

*Ce projet a été financé par le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation dans le cadre du programme Prime-Vert et est lié à la Stratégie phytosanitaire québécoise en agriculture 2011-2021.*