

## 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

Anne-Marie Fortier et Hervé Van der Heyden

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 connaît 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 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 97 pb 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.

## RETOMBÉES SIGNIFICATIVES 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***

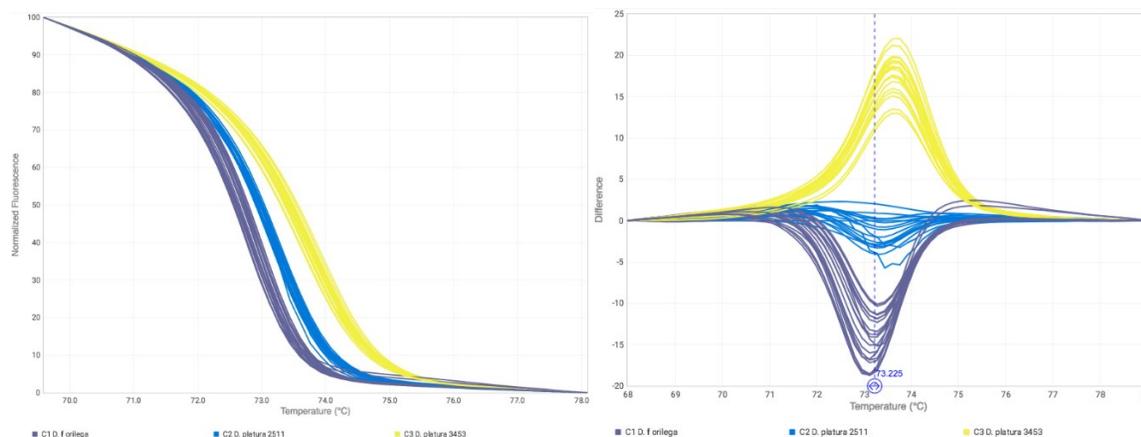
L'intensité des dommages a été divisée en quatre catégories (0 : 0 %; 1 : ]0 %, 1 %]; 2 : ]1 %, 3 %]; 3 : ]3 %, 100 %]), et les variables explicatives étaient l'année, le type d'implantation (transplant vs semis), la date de semis, le nombre de jours entre le semis et le stade étendard, le taux de matière 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 SUIVI À DONNER

Plus de 2100 ha 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 adaptée 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 leurs préférences alimentaires respectifs, en plus de vérifier l'isolement reproductif.

## **POINT DE CONTACT**

Nom du responsable du projet : Anne-Marie Fortier, M.Sc.

Téléphone : 514-809-4263

Télécopieur : 450-454-5216

Courriel : [afortier@phytodata.ca](mailto: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 du Québec, 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.