

## Cultivons l'avenir, une initiative fédérale-provinciale-territoriale

### **FUSARIUM STRIATUM : NOUVEL INTRUS DANS LES SERRES DE TOMATES**

Audrey Boulianne<sup>1</sup>, Laurianne Moine<sup>2</sup>, Caroline Labbé<sup>3</sup> et Dr. Richard Bélanger

No de projet : 11-346

Durée : 03/2012 au 03/2013

#### **FAITS SAILLANTS**

Le projet est parti d'un besoin d'identifier un nouveau pathogène qui causait des dommages importants à la culture de tomates de la serre de Saint-Étienne-des-Grès appartenant aux Serres du Saint-Laurent inc. La compagnie s'est adjoint le Dr. Richard Bélanger et son équipe du Laboratoire de phytopathologie de l'Université Laval afin de démystifier le pathogène.

*Fusarium solani* semblait être l'agent responsable du nouveau type de chancre de tige. N'étant nullement rapporté dans la littérature comme étant un agent pathogène important dans la culture de la tomate de serre, le projet avait pour but de caractériser ce nouvel agent pathogène afin d'en déterminer la provenance, ses conditions de développement (épidémiologie) et aussi de confirmer son pouvoir pathogène à l'aide des postulats de Koch. Pour répondre à ces objectifs, il convenait de mettre au point une méthode de détection rapide et efficace du *Fusarium* détecté. Pour identifier précisément la race de *Fusarium* en cause, il a été décidé de mettre au point une méthode PCR qui devait amplifier uniquement la race qui nous intéresse. Au cours du processus, nous avons été contraints de constater que l'espèce en question n'était pas *F. solani* tel que stipulé dans l'hypothèse, mais conclure que nous étions en présence d'une espèce de *Fusarium* très rare, jamais rapportée au Canada, *Fusarium striatum*.

#### **OBJECTIF ET MÉTHODOLOGIE**

L'objectif précis était de déterminer l'agent pathogène en cause et créer une amorce spécifique à sa détection par analyse PCR. Des chancres de tiges ont été prélevés et mis en culture. Les colonies obtenues ont été isolées pour analyses ultérieures (postulats de Koch). Afin de valider la technique PCR, une quarantaine de chancres obtenus des serres ont été désinfectés en surface, lyophilisés et pulvérisés. Une extraction d'ADN a été effectuée pour chaque chancre et le test de détection PCR a été utilisé. Pour tous les échantillons testés, l'analyse PCR utilisant les amorces ITS s'est révélée positive confirmant la présence du champignon *Fusarium* spp, mais la détection à l'espèce n'était ni négative, ni positive, permettant de croire que nous faisons face à une autre espèce. Certains isolats des chancres testés ont donc été mis en culture afin d'en purifier l'ADN. Une analyse PCR subséquente avec les amorces pTEF a été effectuée avec ces ADN purifiés. Le même résultat a été obtenu à savoir, une amplification, mais inférieure à celle obtenue avec le témoin positif de *F. solani*. Des analyses de séquençage de l'espèce pathogène ont finalement conclu à la présence d'une autre espèce de *Fusarium* soit *F. striatum*.

<sup>1</sup> Directrice de la production, Les Serres du St-Laurent inc.

<sup>2</sup> Étudiante 2<sup>e</sup> cycle

<sup>3</sup> Phytopathologistes, Laboratoire de phytopathologie de l'Université Laval

## RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE

Les différentes analyses ont permis de découvrir une espèce différente de *Fusarium* de celle anticipée (*F. solani*). En effet, une des différences entre *F. striatum* et *F. solani* (même si ce sont deux espèces très voisines) est que la forme téléomorphe de *F. striatum* (*Nectria ipomoeae*) est homothallique tandis que la forme téléomorphe de *F. solani* (*Nectria haematococca*) est hétérotallique (besoin de deux isolats différents pour produire les périthèces). Comme nous étions capables d'obtenir des périthèces in vitro à partir d'un seul isolat, donc homothallique (figure 1), il était bel et bien confirmé que la souche pathogène observée, et par le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation (MAPAQ), et par l'Université Laval, chez Savoura était *Fusarium striatum*.

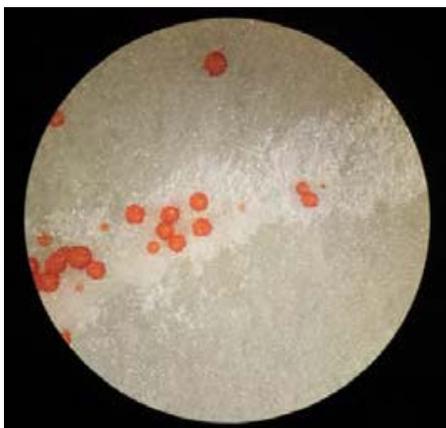


Figure 1. Périthèces obtenus sur gélose PDA à partir d'un seul isolat (homothallique) d'A23a, A24a, A14a ou MAPAQ2880.



Figure 2. Symptôme de *F. striatum* sur plante à Saint-Étienne-des-Grès

Il a donc été nécessaire de créer une amorce spécifique à *N. ipomoeae* (*F. striatum*) et non *N. haematococca* (*F. solani*) pour permettre l'identification éventuelle pour Les serres du Saint-Laurent et les autres producteurs par le laboratoire du MAPAQ. Le génome de *N. haematococca* (anamorphe : *F. solani*) étant disponible au NCBI, nous avons comparé les séquences TEF de *N. haematococca* (NCBI) et de notre souche isolée de la tomate. Nous avons trouvé une zone assez différente dans l'ADN pour pouvoir faire une amorce discriminante spécifique à *F. striatum*.

Nous avons ensuite déterminé le pouvoir pathogène de *F. striatum* (alias *solani*) chez la tomate à l'aide des postulats de Koch. Tous les isolats identifiés comme étant *F. striatum* (ULaval ou MAPAQ) ont induit des lésions identiques à celles retrouvées dans le complexe de serres de Saint-Étienne-des-Grès à l'automne 2012 (figure 2).

Un des objectifs du présent projet consistait à appliquer le système d'identification PCR développé afin de déterminer la source de contamination dans les complexes de serres. Une des hypothèses que nous avions à ce sujet était que la contamination provenait du fournisseur de plants de tomates. Afin de vérifier cette hypothèse, des échantillons de plants fraîchement débarqués du camion de livraison ont été soumis au test de détection. Il s'est avéré que toutes les plantes testées ainsi que tous les explants de chaque plante ont répondu positivement à l'amplification du marqueur de *F. solani* (*striatum*).

En conclusion, lors de ces travaux, il a été permis d'identifier, hors de tout doute l'agent pathogène responsable de l'épidémie de chancres observée au complexe de serres de Saint-Étienne-des-Grès.

Cet agent pathogène, *Fusarium striatum*, a été peu rapporté dans la littérature comme étant un agent pathogène causant des dégâts importants en horticulture. Un article provenant du Japon a été publié

pendant la recherche et les auteurs ont associé le *footrot* de la tomate avec l'agent pathogène *F. solani* f. sp. *eumartii*. La forme téléomorphe de *F. solani* f. sp. *eumartii* ayant été identifiée comme étant *Nectria ipomoeae*, soit le même organisme que pour *F. striatum*, indique que ces deux espèces sont étroitement liées sinon les mêmes.

### **APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE**

Un test de détection spécifique à *F. striatum* et non aux autres organismes du complexe *F. solani* (*N. haematococca*) a été créé. Une amorce a été conçue avec les données *in silico* et ses conditions d'amplification ont été optimisées pour l'analyse PCR. Cependant, il resterait à valider son absence d'amplification chez *F. solani* (*N. haematococca*). Le laboratoire du MAPAQ, avec cette fiche de transfert et le rapport final, sera en mesure d'effectuer ces tests ultérieurement pour l'ensemble des producteurs qui veulent déterminer la présence de ce nouvel agent pathogène.

Également, si jamais on confirme que l'inoculum primaire provient du fournisseur, il serait peut-être bon de prévoir une application fongicide de surface, ou changer de fournisseur pour prévenir l'établissement de la maladie en épidémie en cas de conditions de culture favorables à son développement.

### **POINT DE CONTACT POUR INFORMATION**

Nom du responsable du projet : Audrey Boulianne  
Téléphone : (418) 286-6681, poste 225  
Télécopieur : (418) 286-4275  
Courriel : [aboulianne@savoura.com](mailto:aboulianne@savoura.com)

### **REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS**

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme d'appui pour un secteur agroalimentaire innovateur (PASAI), un programme issu de l'accord du cadre *Cultivons l'avenir* conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada.