

LE DÉPÉRISSEMENT DU FRAISIER : AGENTS CAUSALS, FACTEURS DE RISQUES ET DÉPISTAGE

Richard Hogue

Projet : IA113103

Durée : 05/2014 – 04/2017

FAITS SAILLANTS

Dans le cadre de ce projet, il y avait quatre objectifs : (1) faire un inventaire des virus, des phytoplasmes, des champignons et des nématodes pour identifier les agents causals du dépérissement des fraisiers; (2) mener une enquête sur les pratiques culturales et les régies de production/protection des producteurs de fraises, et sur les résultats des analyses physico-chimiques de leurs sols; (3) identifier les facteurs biotiques et abiotiques prépondérants dans la cause du dépérissement; et (4) développer des services de dépistage pour l'aide à la décision des producteurs envers des pratiques culturales et des régies de protection existantes ou qui leur sont proposées pour réduire ou éliminer les causes du dépérissement. Nous avons démontré que les infections de deux virus ou plus sont un facteur prépondérant au dépérissement des fraisiers. La seule infection des plants par deux virus ou plus n'est toutefois pas la cause du dépérissement puisqu'un complexe de champignons qui infectent les racines intensifie les symptômes de dépérissement. Il est également ressorti que d'autres facteurs contribuent à induire et à aggraver les symptômes du dépérissement, comme des nématodes pathogènes qui causent des lésions au niveau des racines, créant ainsi des portes d'entrée pour les champignons pathogènes des racines du fraisier. Le risque de développement du dépérissement dans les fraiseraies commerciales est assujéti à trois facteurs : (1) l'introduction de plants déjà infectés par un ou plusieurs virus lors des plantations; (2) la présence de plantes infectées par les virus dans l'environnement immédiat des champs, ainsi les fraisiers sauvages se sont avérés d'importants réservoirs de virus; (3) les déplacements des pucerons et aleurodes, vecteurs de virus, qui envahissent des champs contenant des îlots de plants virosés alors que chaque îlot est infecté par un virus différent.

Le Laboratoire d'analyse biologique (LAB) de l'IRDA a transmis à ses partenaires des protocoles de prélèvement d'échantillons et de dépistage moléculaire de sept virus. Le LAB offre un service de dépistage des virus à tous les producteurs, agronomes ou conseillers désireux d'identifier les virus présents dans les fraisiers introduits ou déjà plantés dans leurs champs. Ce service d'analyses, combiné à un protocole d'évaluation des risques posés par la présence de nématodes et champignons pathogènes ou d'insectes vecteurs ou de fraisiers sauvages infectés permet d'identifier des facteurs de risques. Ce protocole et le service d'analyses permettent au producteur d'évaluer l'efficacité de ses régies de production et ses régies de protection à réduire ou à éliminer les sources de risques d'infections virales.

OBJECTIF ET MÉTHODOLOGIE

À l'initiation du projet, une enquête a été effectuée auprès des producteurs de fraises. Sur 30 sites en 2014 et 34 sites en 2015, un inventaire des causes de dépérissement a été réalisé via la sélection de plants, de sol et de feuilles sur des plants adjacents qui ont été prélevés en zones de plants sains ou plants dépéris. L'inventaire des virus a été effectué par la méthode RT-PCR pour obtenir la détection de sept virus (SMoV, SMYEV, SVBV, SCV, SPaV, BYPV, SPV-1) sur huit échantillons de feuilles par zone de plants (sains ou dépéris) et par fraiseraie.

Ces très nombreux tests de détection ont été complétés par d'autres tests RT-PCR réalisés pour faire l'évaluation des risques de transmission des virus posés par les plants introduits ou par les fraisiers sauvages. L'inventaire des phytoplasmes, des nématodes et des champignons pathogènes a été réalisé par des méthodes microbiologiques de culture et par des tests moléculaires basés sur la qPCR et les analyses métagénomiques du microbiome des racines et du sol.

RETOMBÉES SIGNIFICATIVES POUR L'INDUSTRIE

Les résultats de l'enquête menée dans le cadre du projet ont montré que 75 % des plants utilisés pour l'implantation des fraiseraies qui ont été sélectionnées par les producteurs et agronomes partenaires au projet en 2014 et 2015 étaient du type racines nues frais. Ces plants avaient été achetés, dans 60 % des cas, de pépinières du Québec, tandis que 40 % provenaient de la Nouvelle-Écosse ou des États-Unis.

Bilan de l'inventaire des virus intervenant dans le dépérissement des fraisiers :

L'analyse de l'ensemble des résultats du Tableau 1 indique que l'infection de deux virus ou plus est un facteur prépondérant à l'expression des symptômes de dépérissement, sans en être le seul facteur causal. Toutefois, nous observons que le nombre de plants prélevés en zone de plants sains et infectés par deux virus ou plus demeure assez élevé. Cela indiquerait que l'infection des virus, même si elle implique deux virus ou plus, n'est pas le seul facteur inducteur du dépérissement des plants.

Tableau 1 : Répartition du pourcentage d'échantillons issus de la zone de plants sains ou de plants dépéris et pour lesquels les feuilles étaient saines ou infectées par un, deux, trois ou quatre virus en 2014 et 2015.

Saison 2014				
Nombre de virus/plant	Échantillons globaux (n)	Échantillons globaux (%)	Zone Sains (%)	Zone Dépéris (%)
0	38	7,9%	84,2%	15,8%
1	161	33,5%	67,7%	32,3%
2	186	38,8%	37,1%	62,9%
3	81	16,9%	32,1%	67,9%
4	14	2,9%	28,6%	71,4%
Total	480	100,0%		
Saison 2015				
Nombre de virus/plant	Échantillons globaux (n)	Échantillons globaux (%)	Zone Sains (%)	Zone Dépéris (%)
0	224	41,2%	58,0%	42,0%
1	208	38,2%	54,3%	45,7%
2	88	0,2%	29,5%	70,5%
3	24	4,4%	12,5%	87,5%
4	0	0,0%	0,0%	0,0%
Total	544	100,0%		

Le nombre d'échantillons pour lesquels aucun virus n'a été détecté est beaucoup plus élevé en 2015, autant pour les plants issus de la zone des plants sains que de la zone des plants dépéris (Tableau 1). Le virus SMoV est le virus le plus souvent détecté dans les fraisiers au Québec. Il est près de deux fois plus souvent détecté dans les plants de la zone de plants d'apparence saine. Les virus SMYEV et SPaV, lorsqu'ils sont détectés seuls dans les plants,

infectaient surtout des plants d'apparence saine en 2014, tandis qu'ils infectaient surtout des plants issus de la zone de plants dépéris en 2015 (Tableau 3). Cela pourrait être une conséquence de la différence des taux de dépérissement observés dans les champs de 2014 versus ceux de 2015.

Tableau 3 : Répartition du nombre de champs et du nombre d'échantillons pour lesquels aucun, un, deux, trois ou quatre virus ont été détectés dans les feuilles prélevées sur huit plants/zone de plants/champ/an.

2014 Zone	Nb Champ	Nb Echant	SMoV	SMoV	SMoV	SMoV	SMoV	SMoV	SMoV	SMoV	SMYEV	SMYEV	SMoV	SMYEV	SMoV	SMoV	SMoV	SMYEV	SVBV	SCV	SPaV	Aucun virus
			SVBV	SVBV	SVBV	SVBV	SVBV															
Sain	30	240	0	4	13	2	8	3	31	15	1	0	0	22	96	10	0	0	3	32		
Dépéris	30	240	5	8	25	4	15	8	95	18	0	0	0	4	48	4	0	0	0	6		
	Ratio	D/S	5x	2x	2x	2x	2x	3x	3x	1x	0,5x	1x	1x	0,2x	0,5x	0,4x	1x	1x	0,3x	0,2x		

2015 Zone	Nb Champ	Nb Echant	SMoV	SMoV	SMoV	SMoV	SMoV	SMoV	SMoV	SMoV	SMYEV	SMYEV	SMoV	SMYEV	SMoV	SMoV	SMoV	SMYEV	SVBV	SCV	SPaV	Aucun virus
			SVBV	SVBV	SVBV	SVBV	SVBV															
Sain	34	272	0	0	0	0	1	2	6	8	3	0	0	9	102	6	0	0	5	130		
Dépéris	34	272	0	0	11	0	8	2	39	10	2	1	1	8	71	12	3	0	10	94		
	Ratio	D/S	1x	1x	11x	0x	8x	1x	6x	1x	1x	2x	2x	1x	0,7x	2x	3x	1x	2x	0,7x		

Le nombre de plants infectés par les combinaisons de deux virus ou plus, sauf la combinaison du SMoV+SPaV, est toujours plus élevé en zone de plants dépéris en 2014 et en 2015 (Tableau 3). Ce constat est plus significativement observé en 2014 lorsque la sévérité d'expression du dépérissement est plus élevée et que l'état sanitaire des plants issus de la zone de plants dépéris est plus significatif que celui des plants de la zone de plants d'apparence saine. L'observation voulant que des plants issus de zones de plants d'apparence saine puissent être infectés par des combinaisons de deux virus ou plus, indique bien que la seule infection par deux virus ou plus ne peut à elle seule expliquer les taux de dépérissement observés dans les champs en 2015 ou surtout en 2014 (Tableau 3). La réduction substantielle du nombre de plants infectés par deux virus ou plus issus de la zone de plants d'apparence saine en 2015 indique que si ces combinaisons de virus sont absentes dans les plants, ces derniers expriment moins les symptômes de dépérissement.

Ces résultats supportent et confirment l'hypothèse que les infections de deux virus ou plus sont un facteur prépondérant au déclenchement du dépérissement du fraisier, mais l'intensité du dépérissement des fraisiers ne s'explique pas par la seule infection des combinaisons de deux virus ou plus.

Bilan de l'inventaire des champignons et microorganismes pathogènes des fraisiers :

Plusieurs approches techniques ont été évaluées afin de dresser l'inventaire des agents pathogènes autres que les virus. Les outils moléculaires sont apparus comme très pertinents pour identifier les agents pathogènes des racines. Parmi ces outils, les récents développements du séquençage à haut débit nous ont permis d'évaluer douze sites de 2014 et de 2015. Cette approche innovante a l'avantage de pouvoir détecter sans *a priori* l'ensemble des micro-organismes d'intérêts en une seule analyse. Ces approches utilisent des bases de séquences de référence précises et abondantes. Nos données métagénomiques confirment plusieurs des résultats que nous avons obtenus lors du dépistage des champignons et des nématodes avec des techniques d'analyse très différentes. Parmi les principaux résultats, citons :

- 1) Les populations du nématode *Pratylenchus* sp. sont plus élevées dans les zones de plants dépéris des échantillons de racines de 2014;

- 2) Les OTUs homologues aux *Phytophthora* sp. ne sont détectées qu'à de rares occasions, ce qui est conforme avec les très rares détections du *P. fragariae* dans les racines de fraisiers analysées;
- 3) Les populations de *Pythium* sp. sont systématiquement détectées dans la majorité des échantillons de racines issues des zones de plants dépéris prélevés en 2014 surtout. Les populations de *Pythium* sp. sont également bien détectées dans les sols prélevés en 2015.

Détection des virus dans les fraisiers introduits en fraiseraies et dans les fraisiers sauvages. En 2015-2016, nous avons utilisé un protocole d'évaluation du risque de propagation des virus qui soumet des fraisiers nouvellement acquis et plantés en fraiseraies aux tests RT-PCR de détection des virus. Il permet aussi de procéder au dépistage des virus dans des feuilles de fraisiers sauvages. En 2015, des virus ont été détectés dans des plants implantés chez quatre des treize nouvelles plantations et, chez deux fraiseraies, des plants infectés par deux virus ont été dépistés. En 2016, des virus ont été détectés dans des plants implantés chez cinq des 12 implantations et, pour l'une d'elles, des plants infectés par deux virus ont été détectés. En 2015, les producteurs et agronomes collaborateurs de neuf régions du Québec ont aussi échantillonné des talles de fraisiers sauvages localisées dans l'environnement de 12 fraiseraies. Sans surprise, jusqu'à quatre virus, SMoV, SCV, SVBV et SPaV ont été détectés dans près des deux tiers des échantillons composites de feuilles prélevées dans les talles de fraisiers sauvages. Les trois premiers virus sont transmis par des pucerons vecteurs, tandis que le SPaV est transmis par des aleurodes vecteurs. Nous avons détecté deux virus différents dans trois des huit talles de fraisiers sauvages, ce qui représente un grand risque pour la dissémination de virus qui pourront être des facteurs prépondérants au dépérissement des fraisiers des champs commerciaux adjacents aux fraisiers sauvages infectés.

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET/OU SUIVI À DONNER

L'ensemble des outils de diagnostics qui ont été développés dans le cadre de ce projet pour détecter les virus impliqués dans le dépérissement des fraisiers ont été transférés au laboratoire de diagnostic en phytoprotection du MAPAQ. La filière fraise et les membres de l'Association des producteurs de fraises et framboises du Québec sont désormais mieux équipés pour prévenir le dépérissement des fraisiers. Les données produites dans ce projet ont été fréquemment et largement diffusées afin d'informer les producteurs sur les stratégies de dépistage précoce et efficace des virus et sur les meilleures pratiques de réduction des facteurs de risque au dépérissement des fraisiers. Selon les orientations que décideront de suivre les différents acteurs de la filière, plusieurs des outils développés par le LAB de l'IRDA pourront appuyer la mise en œuvre des stratégies de dépistage et de contrôle du dépérissement des fraisiers.

POINT DE CONTACT

Nom du responsable du projet : Richard Hogue
Téléphone : (418) 643-2380, poste 420
Télécopieur : (418) 644-6855
Courriel : richard.hogue@irda.qc.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.