

PSIH 08-2-928

Évaluation de combinaisons de moyens de lutte à la gale commune
et à la rhizoctonie de la pomme de terre

Rapport de recherche

Rédigé par Richard Hogue, responsable scientifique
Avec la collaboration des partenaires au projet

Remis à Gilles Hamel, responsable de projet
Requérant : Les Pros de la pomme de terre

27 mars 2009

Table des matières du rapport final	Page
Résumé du rapport final	3
Partenaires de réalisation.....	4
Mise en contexte.....	4
Dispositif expérimental dans trois régions.....	5
Difficultés rencontrées pour la mise en place des précédents culturels non-conventionnels.....	6
 Méthodologie	
Mise en place du dispositif expérimental et échantillons de sols et de tubercules.....	6
Méthodologie d'évaluation de l'indice de gale commune.....	7
Méthodologie d'évaluation de l'indice de rhizoctonie.....	8
Méthodologie d'évaluation des rendements total et vendable.....	8
Méthodologie des analyses de détection des Actinomycètes spp., Streptomycètes spp. et des espèces <i>Streptomyces</i> pathogènes.....	8
 Résultats et discussion	
Caractéristiques des sites expérimentaux.....	10
Impacts des précédents culturels sur la réduction des indices de gale commune.....	12
Évaluation des 6 combinaisons de traitements sur la réduction des indices moyens de gale commune et de rhizoctonie.....	12
A- Évaluation du traitement des semences Agriclax™ A6 (régies de fertilisation confondues).....	13
B- Évaluation des régies de fertilisation (blocs et traitement des semences confondues).....	13
C- Impacts des régies de fertilisation sur l'indice de gale (traitement des semences confondues).....	14
D- Évaluation des combinaisons de traitements pour la réduction des indices de rhizoctonie.....	15
Évaluation des effets des combinaisons de traitements sur les rendements total et vendable.....	15
Détection des espèces de <i>Streptomyces</i> pathogènes.....	16
Impacts des combinaisons des traitements sur les Actinomycètes et les Streptomycètes.....	16
Analyse des profils PCR-DGGE des populations d'Actinomycètes et Streptomycètes.....	19
 Perspectives pour la suite du projet.....	20
Références.....	21
ANNEXE A -	
Tableau A-1.....	22
Tableau A-2.....	23
Figure A-1	24
Figure A-2.....	25
Figure A-3.....	26
Figure A-4.....	27
Figure A-5.....	28
Figure A-6.....	29
Figure A-7.....	30
Figure A-8.....	31
Figure A-9.....	32
Figure A-10.....	33
Figure A-11.....	34

Résumé du rapport final

Le projet a consisté à évaluer l'efficacité de 6 combinaisons de traitements à réduire les symptômes de gale commune et de rhizoctonie dans les champs de pommes de terre de 3 régions; Lanaudière (Joliette), Île d'Orléans et Bas St-Laurent (Lejeune). Dans chacune des régions, 2 blocs de 18 parcelles (6 combinaisons x 3 répétitions) ont été implantés dans un sol dont le précédent cultural conventionnel était une céréale ou du haricot, et 2 autres blocs étaient implantés dans un sol dont le précédent cultural non-conventionnel était deux cultures successives de moutarde brune, ou une culture de crucifère ou d'engrais vert, ces cultures avaient été fauchées avant la formation des graines et enfouies pour générer une biofumigation du sol. Les traitements de semences avec l'Agriclay™ A6 ou de l'eau ont été appliqués à la plantation et combinés avec chacune de trois régies de fertilisation : minérale, MES+Tiger90 et MES+Tiger90+FS (fraction solide de lisier de porc). Des échantillons de sol du billon et de la tuberculosphère ont été prélevés à la plantation, 3 et 6 semaines après le renchaussage et à la récolte. Les analyses minérales de sols Mehlich-3, la granulométrie, le %M.O., le pHeau du sol ont été déterminés. Les indices de gale commune et de rhizoctonie et les rendements totaux et vendables ont été les variables calculées. Les impacts des combinaisons de traitements, dans un contexte de précédent cultural, ont été évalués sur la sensibilité de détection PCR des espèces de *Streptomyces* pathogènes et les variations des profils PCR-DGGE des populations d'Actinomycètes et de Streptomycètes totaux.

Les principaux résultats obtenus sont les suivants:

- a) Les pourcentages de matière organique et les classes de texture des sols sont significativement différents entre les régions mais similaires entre les sites d'une même région.
- b) Au site Lejeune, comparativement au contexte du précédent cultural conventionnel, les deux cultures de moutarde brune successivement enfouies ont abaissé significativement le pHeau et l'indice moyen de gale commune, mais pas l'indice de rhizoctonie, dans les sols cultivés sous une régie de fertilisation minérale et sans traitement de semences.
- c) Le traitement des semences à l'Agriclay™ A6 n'induit pas de réduction significative du pHeau, de l'indice moyen de gale commune ni de l'indice de rhizoctonie des tubercules récoltés dans chacune des trois régions et cela peu importe le contexte de précédents culturaux étudiés. Lors d'essais à la ferme, une réduction significative de l'indice de gale commune a été observée dans 3 essais sur 12.
- d) La régie de fertilisation MES+Tiger90 a acidifié le sol des billons tandis que l'ajout de la fraction solide de lisier de porc (FS) a complètement inhibé le processus d'acidification initié dans 8 des 12 blocs. Les différentiels les plus importants des indices moyens de gale ont été observés dans les parcelles pour lesquelles l'acidification du pHeau, induite par les engrais MES+Tiger90, s'est poursuivie durant au moins les 6 semaines suivant le renchaussage. Cet abaissement continu du pHeau des sols soumis à la régie MES+Tiger90 n'a pas été observé dans les parcelles soumises aux deux autres régies. Cela expliquerait leurs plus petits différentiels d'indice moyen de gale.
- e) Aucun moyen de lutte évalué seul ou en combinaison n'a induit de différences significatives des rendements totaux et vendables. La fertilisation MES+Tiger90+FS génère les rendements totaux et vendables moyens les plus élevés pour 9 des 12 combinaisons étudiées.
- f) La sensibilité de détection des systèmes PCR ciblant les espèces *Streptomyces* pathogènes ou les Streptomycètes totaux n'a permis leur détection que dans des pelures portant des lésions, des sols de la tuberculosphère de tubercules infestés, ou plus rarement dans des sols de parcelles dont l'indice de gale était supérieur à 2,50.
- g) Des variations en nombre et en quantité des populations d'Actinomycètes et de Streptomycètes pathogènes et non-pathogènes ont été liées à la variation des indices moyens de gale commune des tubercules récoltés dans des parcelles soumises à diverses combinaisons de régies de fertilisation dans un contexte de précédents culturaux conventionnels ou non-conventionnels.

Rapport de recherche PSIH 08-2-928

Évaluation de combinaisons de moyens de lutte à la gale commune et à la rhizoctonie de la pomme de terre

Partenaires de réalisation

Gilles Hamel, Les Pros de la pomme de terre, requérant du projet et responsable région Lanaudière

Richard Hogue, IRDA, responsable scientifique du projet

Jean Coulombe, responsable région Ile d'Orléans

Laure Boulet, MAPAQ- BRA Bas Saint-Laurent, responsable région Bas Saint-Laurent

Stéphan Doyon, Agriclay technologies naturelles inc, vice-président R&D

Denis Levesque, SynAgri, responsable des analyses de sol

Carole Beaulieu, U.Sherbrooke, collaboratrice aux études d'écologie microbienne

Sites expérimentaux localisés chez : Ferme JMD, Ferme Valupierre, Ferme Stéphane Gosselin, Ferme Dauphine, Ferme Richard Rondeau et Ferme Steve Racz

Ce projet a été réalisé grâce à la participation financière des partenaires et à une aide financière du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation dans le cadre du Programme de soutien à l'innovation horticole.

Note importante :

Pour préserver le caractère confidentiel des informations, les noms des producteurs ont été remplacés par des numéros.

Mise en contexte

De mai à octobre 2008, diverses combinaisons de moyens de lutte à la gale commune et à la rhizoctonie de la pomme de terre ont été évaluées à l'aide d'un dispositif expérimental implanté dans des champs de pommes de terre de 3 régions du Québec, soit Lanaudière (Joliette), l'Île d'Orléans et le Bas Saint-Laurent (Lejeune). Trois niveaux de moyens de lutte ont été utilisés;

- A- Des précédents culturaux défavorables aux agents pathogènes ciblés dans le sol;
- B- Un traitement des tubercules de semence, l'Agriclay™ A6 ;
- C- Deux régies de fertilisation défavorables aux agents pathogènes ciblés.

Certaines cultures, particulièrement des crucifères, dont des lignées de moutarde brune *Brassicae juncea*, lorsque fauchées et enfouies dans le sol, peuvent avoir un effet biofumigant qui réduit le potentiel d'inoculum ou des agents pathogènes telluriques qui affectent les plants de pommes de terre plantés l'année suivante dans ces sols.

L'Agriclay™ A6, de la compagnie Arclay Technologies Naturelles inc, est un produit à base d'argile et de colloïdes qui a été évalué, depuis 2006 au Canada et aux Etats-Unis, pour sa capacité à réduire les symptômes de gale commune, de rhizoctonie et de tache argentée de la pomme de terre. Les résultats obtenus à ce jour indiquent que les effets de l'Agriclay A6 varient selon les sites expérimentaux et les années d'essais. Des expérimentations sont en cours pour élucider le mécanisme d'action de ce produit.

La littérature scientifique rapporte que l'abaissement du pH du sol dans la rhizosphère des plants de pommes de terre est un moyen de réduire les symptômes de gale commune. De plus, l'utilisation d'amendements organiques riches en composés azotés dans des sols acides peut affecté l'incidence de maladies telluriques, par exemple la gale commune, la rhizoctonie, la verticilliose et la tache argentée.

Dispositif expérimental dans trois régions

Le projet consistait donc à évaluer l'efficacité de 6 combinaisons de traitements à réduire les symptômes de gale commune et de rhizoctonie dans les sols de champs de pommes de terre de trois régions. Ainsi dans chacune des régions, deux blocs de 18 parcelles (6 combinaisons x 3 répétitions) étaient implantés dans un sol sous régie de production de pomme de terre pour lequel le précédent cultural conventionnel était une céréale ou du haricot, alors que deux autres blocs étaient implantés dans un sol sous régie de production de pomme de terre pour lequel le précédent cultural non-conventionnel était deux cultures successives de moutarde brune, ou une culture de crucifère ou d'engrais vert. Les cultures du précédent cultural non-conventionnelle étaient fauchées vertes avant la formation des graines et enfouies pour générer un processus de biofumigation du sol.

Chacune des 6 combinaisons ci-dessous étaient évaluées en parcelle de 2 rangs de 2 m (6 plants/rang). Elle était répétée trois fois par précédent cultural conventionnel et précédent non-conventionnel :

Combinaison 1 : Traitement Agriclay™ A6 ET fertilisation minérale (MAP)

Combinaison 2 : Traitement Agriclay™ A6 ET fertilisation MES + Tiger90

Combinaison 3 : Traitement Agriclay™ A6 ET fertilisation MES + Tiger90 + FS lisier porc

Combinaison 4 : Traitement Témoin (Eau) ET fertilisation minérale (MAP)

Combinaison 5 : Traitement Témoni (Eau) ET fertilisation MES + Tiger90

Combinaison 6 : Traitement Témoin (Eau) ET fertilisation MES + Tiger90 + FS lisier porc

La régie de fertilisation minérale est basée sur l'emploi du sulfate d'ammonium monobasique (MAP) qui suite à l'oxydation microbienne libérera l'ion ammonium ce qui abaissera le pH localement dans le sol. La régie de fertilisation MES + Tiger90 est basée sur l'emploi des engrais MicroEssentiels SZ et Tiger90 Sulphur qui suite à l'oxydation microbienne libéreront des ions ammonium et du soufre élémentaire, ce qui produit de l'acide sulfurique et abaisse de façon rapide et significative le pH dans le sol. Les engrais MES + Tiger90 peuvent réduire le pH du billon et les symptômes de gale commune plus efficacement que l'engrais MAP, tout en favorisant le rendement (5). Le pouvoir acidifiant du mélange Tiger90CR est 4 fois supérieur au MES et 8 fois supérieur au MAP pour des quantités égales ajoutées au sol (6). L'oxydation du Tiger90 conduit aussi à la floculation accrue du sol particulièrement dans les sols à teneur moyenne à élevée en calcium (6). Le pouvoir acidifiant du MES + Tiger90 est plus important dans les sols sableux comparativement aux sols limoneux ou argileux.

Le traitement de fertilisation MES + Tiger90 + FS lisier de porc ajoute l'équivalent de 3,5 t/ha de fraction solide de lisier de porc assainie et compostée depuis 1 an. Cela accroît le taux de matière organique et l'activité microbienne du sol du billon. Une hausse importante de l'activité microbienne peut influencer sur le processus d'oxydation et de transformation du soufre élémentaire et affecter le pH du sol. Cette hausse d'activité microbienne conjuguée à la présence des constituants organiques de la fraction solide de lisier de porc pourrait contribuer à réduire les symptômes de gale commune dans certains sols ou à les accroître dans les sols où la matière organique est récente et non stabilisée.

Difficultés rencontrées pour la mise en place des précédents culturels non-conventionnels

La culture de la moutarde brune n'est pas une pratique répandue au Québec et les producteurs ne réussissent pas tous à obtenir les taux de biomasse ciblés pour obtenir, suite à la fauche et à l'enfouissement de la moutarde, l'effet de biofumigation voulu. Ainsi, l'implantation des bandes de moutarde brune à l'été 2007 ne s'est pas avérée un succès pour les sites ciblés dans les régions de Lanaudière et de l'Île d'Orléans. Dans ces régions en 2008, nous avons donc évalué l'impact de cultures enfouies à titre d'engrais verts à titre d'alternative à l'emploi des lignées de moutarde brune. Dans la région de Lanaudière (Blocs expérimentaux # 2 et # 4) l'impact de deux cultures successives de millet perlé enfouies vertes a été évalué tandis qu'à l'Île d'Orléans une succession haricot – brome dactyle enfouies (bloc # 6) ou une culture de chou chinois enfouie (bloc # 8) ont été évaluées. L'enfouissement des cultures à titre d'engrais verts accroît le pourcentage de matière organique du sol, la biodisponibilité des composés azotés et l'activité microbienne dans les sols l'année suivante.

L'une des conséquences de l'emploi des engrais verts a été de ne pas pouvoir implanter les 4 blocs (2 blocs précédent cultural conventionnel et 2 blocs précédent cultural non-conventionnel) au sein d'un même grand champ tel que prévu initialement pour les bandes de moutarde brune. L'implantation du dispositif expérimental de 18 parcelles a donc permis d'évaluer les impacts des 6 combinaisons de traitements décrits ci-haut dans un contexte de précédent cultural conventionnel ou de précédent cultural non-conventionnel pour trois types de sols et sous trois climats et environnements de culture.

L'implantation de moutarde brune a été réussie au site de Lejeune (blocs # 10 et # 12) dans le Bas Saint-Laurent, ce qui nous a permis d'implanter les 4 blocs au sein d'un même champ. L'enfouissement de deux cultures successives de moutarde brune, enfouies vertes avant la formation des graines, accroîtrait l'impact du processus de biofumigation, du fait du taux plus élevé de glucosinolates dans les tissus hachés de moutarde brune. L'efficacité accrue de la biofumigation peut être plus performante à réduire le potentiel d'inoculum des agents pathogènes ciblés par notre projet.

Méthodologie

Mise en place du dispositif expérimental et échantillons de sols et de tubercules

Des échantillons de sols ont été prélevés dans le rang de droite de chaque parcelle à la plantation, à 3 et 6 semaines après le renchaussage. Les échantillons de sol ont été utilisés pour faire les analyses de granulométrie, du pourcentage de la matière organique, du pH_{eau}, du pH_{tampon}, ainsi que les analyses de détection des *Streptomyces* pathogènes et non-pathogènes, de même que les analyses de la diversité des populations bactériennes, particulièrement les Actinomycètes et les Streptomycètes. Les tubercules des 6 plants du rang de gauche de chaque parcelle ont été récoltés pour évaluer le rendement total et vendable, les symptômes et les indices de la gale commune et de la rhizoctonie.

Le cultivar de pomme de terre Yukon Gold a été utilisé dans les parcelles de 2m, tandis que des tubercules de semence des cultivars Norland ou Chieftain (peau rouge) ont été utilisés pour combler les espaces inter-parcellaires et inter-blocs des sites expérimentaux. Les producteurs ont maintenus une régie phytosanitaire et une régie de culture conformes aux bonnes pratiques agricoles. Pour tous les essais, les fertilisants et les moyens de lutte antiparasitaires ont été appliqués selon les recommandations du CRAAQ et en tenant compte des besoins spécifiques des cultivars de pomme de

terre, de la texture et de l'analyse physico-chimique des sols utilisés. Les tubercules ont été récoltés, lavés et séchés environ 3 semaines après le défannage.

Méthodologie d'évaluation de l'indice de gale commune

Suite à la récolte des tubercules de 6 plants de chacune des parcelles expérimentales, les symptômes de gale commune ont été observés sur l'épiderme de 25 tubercules prélevés au hasard parmi ceux récoltés. Les tubercules ont été classifiés selon trois types de lésions (superficielles, à pustules et creuses) et cinq classes de recouvrement de la surface du tubercule (entre 1 et moins de 5%, entre 5 et moins de 10%, entre 10 et moins de 25%, entre 25 et moins de 50%, plus de 50%). Les tubercules n'ayant aucun symptôme ou des lésions sur moins de 1% de leur surface étaient classés sains.

Le nombre et le poids des tubercules de chacune des classes de recouvrement ont été déterminés et ce nombre ou ce poids a été multiplié par un facteur de conversion lié à chaque classe de recouvrement. Si les valeurs des indices estimés avec le nombre ou le poids diffèrent, les conclusions sont identiques. Pour simplifier la présentation du présent rapport et sauf indication contraire, les indices moyens de gale commune des tableaux du rapport ont donc été estimés en utilisant le nombre plutôt que le poids de tubercules pour chacune des cinq classes de recouvrement des trois types de lésions observées.

Tableau 1 Facteurs de conversion associés aux classes de recouvrement du tubercule en fonction du type de lésions de la gale commune de la pomme de terre.

Classe (%)	1 < x < 5	5 < x < 10	10 < x < 25	25 < x < 50	x > 50
Facteur conversion lésion superficielle	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0
Facteur conversion lésion pustule	1,5	2,5	3,5	4,0	5,0
Facteur conversion lésion creuse	1,5	2,5	4,0	4,5	5,0

La valeur du facteur de conversion affectée à chaque classe de recouvrement varie en fonction du type de lésion afin de refléter l'impact négatif de la combinaison du type de lésion et du pourcentage de recouvrement sur la conservation et la qualité du tubercule. L'indice global de gale commune associé aux tubercules récoltés d'une parcelle est calculé par la sommation des trois formules suivantes :

$$\text{Indice de gale lésion superficielle} = \frac{\sum [(\text{nombre tubercules classe})_i \times (\text{facteur conversion})_i]}{(\text{nombre total de tubercules examinés / parcelle})}$$

$$\text{Indice de gale lésion à pustule} = \frac{\sum [(\text{nombre tubercules classe})_i \times (\text{facteur conversion})_i]}{(\text{nombre total de tubercules examinés / parcelle})}$$

$$\text{Indice de gale lésion creuse} = \frac{\sum [(\text{nombre tubercules classe})_i \times (\text{facteur conversion})_i]}{(\text{nombre total de tubercules examinés / parcelle})}$$

La valeur de l'indice global de gale commune varie de 0 (sain) à 5 (infection très sévère). Une faible infection affiche une valeur inférieure à 1,0 alors que des infections modérées, moyennes et sévères affichent des valeurs supérieures à 1,5, à 2,5 et à 3,5 respectivement.

Méthodologie d'évaluation de l'indice de rhizoctonie

Suite à la récolte des tubercules de 6 plants de chacune des parcelles expérimentales, les symptômes de gale commune ont été observés sur l'épiderme de 25 tubercules prélevés au hasard parmi ceux récoltés. Les tubercules ont été classifiés selon les types de sclérotés (plats, palpables, en relief) et selon quatre classes de recouvrement de la surface du tubercule (entre 1 et moins de 5%, entre 5 et moins de 10%, entre 10 et moins de 15%, plus de 15%). Les tubercules n'ayant aucun symptôme ou des sclérotés sur moins de 1% de leur surface étaient classés sains.

Le poids des tubercules de chacune des classes de recouvrement a été déterminé et ce poids a été multiplié par un facteur de conversion lié à chaque classe de recouvrement. La sommation de ces produits (poids des tubercules de la classe X facteur conversion) détermine un indice pondéré, I_p pour chaque type de sclérote. L'indice sclérote I_{sp} est estimé en calculant la sommation des trois type d' I_p puis en multipliant le résultat de la sommation par le pourcentage en décimal du poids de l'ensemble des tubercules infestés de la parcelle.

Tableau 2 Facteurs de conversion associés aux classes de recouvrement du tubercule en fonction du type de sclérotés du *Rhizoctonia solani* qui cause la rhizoctonie de la pomme de terre.

Classe (%)	1 < x < 5	5 < x < 10	10 < x < 15	x < 15	
Facteur conversion sclérote plat	1,0	1,5	2,0	3,0	
Facteur conversion sclérote palpable	1,0	2,0	3,0	4,0	
Facteur conversion sclérote en relief	1,0	3,0	4,0	5,0	

La valeur du facteur de conversion affectée à chaque classe de recouvrement varie en fonction du type de sclérotés afin de refléter l'impact négatif de la combinaison du type du type de sclérotés sur la qualité commerciale du tubercule. L'indice sclérote I_{sp} associé aux tubercules récoltés d'une parcelle est calculé par la formule suivante (7) :

$$\text{Indice de Rhizoctonie } I_{sp} = \frac{\sum [I_p \text{ plat}] + [I_p \text{ palpable}] + [I_p \text{ relief}]}{\text{Pourcentage (en décimale) du poids total de tubercules infectés/parcelle}}$$

Méthodologie d'évaluation des rendements total et vendable

Suite à la récolte des tubercules de 6 plants de chacune des parcelles expérimentales, le poids de l'ensemble des tubercules récoltés est déterminé. Les tubercules ont été classifiés selon les classes de rendement adoptées par l'industrie, soit; 1½ po et moins, entre 1½- 2¼ po, entre 2¼ - 2¾ po, et plus de 2¾ po. Le rendement total inclus toutes les classes, le rendement vendable No2 inclue les classes des tubercules de 1½- 2¼ po et plus, le rendement vendable No1 inclue les classes de 2¼ - 2¾ po et plus de 2¾ po, tandis que le rendement vendable Chef cible la classe des tubercules de plus de 2¾ po.

Méthodologie des analyses de détection des Actinomycètes spp., Streptomycètes spp. et des espèces *Streptomyces* pathogènes

Les ADN totaux extraits des sols prélevés dans le billon à différentes périodes de la saison, ou de sols de la tuberculosphère (le sol qui entoure ou adhère au tubercule) ont été isolés et purifiés à l'aide d'une trousse d'isolement des ADN Ultraclean soil DNA isolation (Mobio, Carlsbad, E.U.) selon les instructions du fournisseur. Les échantillons de pelures de l'épiderme des tubercules sains ou de ceux qui portent des lésions de gale commune ou des sclérotés ont été broyés et extraits selon un protocole utilisant des billes d'acier, un tampon CTAB (1) et un mélange de chloroforme-alcool isoamylique. Les ADN totaux extraits des pelures et récupérés dans la phase aqueuse ont été concentrés par précipitation à l'iso-propanol. Les ADN totaux extraits et purifiés autant des sols que des pelures ont été purifiés par centrifugation sur une mini colonne de silice pour éliminer les inhibiteurs de la réaction d'amplification PCR. La qualité des ADN totaux a été analysée par une électrophorèse en gel d'agarose.

La détection des *Streptomyces* spp. pathogènes a été réalisée à l'aide de l'amplification PCR d'une séquence partielle du gène de la thaxtamine spécifique aux *Streptomyces* spp. pathogènes ciblés. Le Tableau 3 présente les différents systèmes d'amplification PCR directe ou nichée qui ont servi à la détection des Actinomycètes et Streptomycètes totaux et non-pathogènes. Les produits d'amplification ont été détectés par électrophorèse en gel d'agarose coloré au bromure d'éthidium puis numérisé par une caméra CCD. Les produits d'amplification ont été quantifiés par l'analyse de l'image numérisée du gel d'agarose à l'aide du logiciel AlphaImager (AlphaInnotech, San Leandro, E.U.).

Les ADN totaux des différents échantillons de sols ou des pelures de tubercules sains et infectés ont été extraits pour évaluer l'impact des traitements sur la diversité des populations d'Actinomycètes et de Streptomycètes. Les ADN totaux extraits ont été soumis à l'amplification PCR directe et nichée utilisant les amorces F243 – R513GC pour l'amplification directe et les amorces Strep B - Strep E suivie de la PCR avec les amorces F243 – R513GC pour la PCR nichée. Le nombre et la diversité des populations d'Actinomycètes et de Streptomycètes ont été estimés à l'aide de la technique PCR-DGGE.

La technique PCR-DGGE consiste à caractériser le profil des produits de l'amplification PCR. Le profil DGGE des produits PCR spécifiques aux populations d'Actinomycètes et de Streptomycètes est obtenu par une électrophorèse en gel de gradient dénaturant et par numérisation des gels par le logiciel Bionumerics (Applied Maths, Austin, E.U.). Un profil électrophorétique de produits PCR est constitué de bandes qui correspondent au nombre de populations d'Actinomycètes et de Streptomycètes détectables par le système d'amplification PCR utilisé. L'intensité d'une bande est une indication semi-quantitative de la proportion qu'occupe la population fongique représentée par cette bande au sein de l'ensemble des populations bactériennes détectées par PCR dans l'extrait d'ADN totaux du sol ou des pelures de tubercule échantillonnés dans la parcelle.

Afin de réduire le coût main d'œuvre des analyses de détection des populations d'Actinomycètes et de Streptomycètes totaux dans les nombreux échantillons de sol, il a été choisi de congeler les extraits d'ADN totaux des différentes dates de prélèvement des sols afin de les regrouper lors des étapes d'amplification PCR et des analyses DGGE pour optimiser le temps de travail technique. Au début de février 2009, plus de 75% des analyses PCR prévues avaient été réalisées. Ces analyses devraient être complétées d'ici la fin de mars 2009. Ces analyses DGGE visent à compléter notre interprétation des impacts des 6 combinaisons des moyens de lutte à la gale commune et à la rhizoctonie dans un contexte de régie ayant des précédents culturels conventionnels ou non-conventionnels.

Tableau 3 Systèmes PCR utilisés pour la détection des Actinomycètes spp. et des espèces de Streptomycètes totaux et pathogènes

Bactéries	Amorces PCR ^a	Gènes ciblés	Amplicon	Réf.
<i>Streptomyces spp.</i> pathogènes	Txt103 / Txt104	thaxthomine	87 pb	2
Streptomycètes totaux et non-pathogènes.	StrepB / StrepE ou StrepB / StrepE-GC	16S rDNA (142-643)	± 500 pb	4
Actinomycètes totaux	F243 / R513-GC	16S rDNA (221-487)	270 pb	3
Streptomycètes et Actinomycètes totaux	1 ^{er} PCR = StrepB / StrepE 2 ^e PCR = F243 / R513-GC	16S rDNA	270 pb	4-3

^a Les amorces suivies de GC sont utilisées pour l'analyse PCR-DGGE

Résultats et discussion *(Les résultats et conclusions clés sont écrits en italique gras.)*

Caractéristiques des sites expérimentaux

Le Tableau A-1 de l'Annexe A présente les résultats de l'analyse minérale des sols prélevés à l'automne 2007 dans les champs où ont été établis les blocs expérimentaux en 2008. Parmi les résultats notables, mentionnons que le pourcentage de matière organique varie de 2,8 % à 4,9%, que les valeurs de pHeau varient de 5,3 à 6,8 et que le P varie de 130 kg/ha à 1030 kg/ha selon les sites.

Le Tableau A-2 (Annexe A) présente les besoins en engrais utilisés pour les traitements Fertilisation.

Le Tableau 4 présente le pourcentage moyen de matière organique ainsi que les caractéristiques de texture des sols des 12 blocs expérimentaux. Le Tableau 4 confirme que les sites retenus pour chacune des régions offrent des caractéristiques qui leur sont propres. ***Les pourcentages de matière organique et les classes de texture des sols sont significativement différents entre les régions mais similaires entre les sites d'une même région.***

Tableau 4 Caractérisation de la structure des sols des 12 blocs expérimentaux en 2008.

Région	Blocs	Culture ^a	% M.O.	% Sable	% Limon	% Argile	Texture
A – Joliette (2 champs)	1	Pdt	2,2	80,0	14,0	6,0	Sable loam
	2	Engrais vert	2,4	93,0	4,0	3,0	Sable
	3	Pdt	2,4	83,0	11,0	6,0	Sable loam
	4	Engrais vert	2,2	95,0	3,0	2,0	Sable
B – Orléans (4 champs)	5	Pdt	3,3	72,0	16,0	12,0	Loam sableux
	6	Engrais vert	3,3	57,0	29,0	14,0	Loam sable argile
	7	Pdt	3,3	43,0	41,0	16,0	Loam
	8	Engrais vert	4,1	54,0	34,0	12,0	Loam sableux
C – Lejeune (1 champ)	9	Pdt	3,3	39,0	49,0	12,0	Loam
	10	Moutarde	4,9	31,0	57,0	12,0	Loam limoneux
	11	Pdt	5,0	38,0	51,0	11,0	Loam limoneux
	12	Moutarde	4,8	37,0	55,0	8,0	Loam limoneux

^a Pdt = précédent cultural conventionnel , Engrais vert / Moutarde = précédent cultural non-conventionnel

Le Tableau 5 présente les valeurs moyennes du pHeau des sols prélevés 6 semaines après le renchaussage et les indices moyens de gale commune et de rhizoctonie des parcelles de la Combinaison 4 : Traitement de semences témoin (Eau) ET fertilisation minérale (MAP). Elles représentent les parcelles témoin de chacun des 12 blocs expérimentaux puisque cette combinaison n'est pas réputée induire une réduction des symptômes des agents pathogènes ciblés par le projet.

À Joliette, les blocs # 1 et # 3 (sable loam) affichent un pHeau de 4,67 à 4,87, soit près de 1,4 unité de pH inférieur au sol des blocs # 2 et # 4 (sable), tout en ayant des indices de gale variant de 0,63 à 0,95, alors que les blocs # 2 et # 4 ont des indices moyens de 2,65 et 3,31. **Il est difficile de déterminer si cette différence des valeurs d'indice moyen de gale des parcelles témoins est causée par la seule différence des valeurs de pHeau des sols ou par le seul impact de l'enfouissement tardif du millet perlé dans des sols sableux, dont le taux de matière organique est inférieur à 2,5%.** Il se pourrait qu'un enfouissement de culture à paille à titre d'engrais vert, lorsque réalisé à un stade trop tardif dans un sol à faible taux de matière organique puisse avoir un effet contraire à l'effet recherché et induire un accroissement des symptômes de la gale commune lors de la culture des pommes de terre.

Tableau 5 Comparaison des pHeau moyen des sols et des indices moyens de gale commune et de rhizoctonie des parcelles témoins (semences traitées à l'eau et engrais minéraux) en fonction des blocs de précédents culturaux à chacun des sites expérimentaux en 2008.

Bloc	Culture ^a	2pHeau ^b	Indice moyen gale	Indice moyen rhizoctonie
1	PDT (avoine)	4,87 ± 0,15 ab	0,95 ± 0,80 abcd	34,18 ± 30,70 bc
2	R1 Engrais vert (millet perlé)	6,17 ± 0,32 d	2,65 ± 0,63 de	41,30 ± 44,49 abc
3	PDT (avoine)	4,67 ± 0,12 ab	0,63 ± 0,21 b	51,11 ± 2,25 c
4	R1 Engrais vert (millet perlé)	6,03 ± 0,29 d	3,51 ± 0,48 e	0,50 ± 0,05 abc
5	PDT (haricot)	6,10 ± 0,35 d	1,75 ± 0,50 cd	16,92 ± 28,43 bc
6	R1 Engrais vert (brome dactyl)	6,53 ± 0,50 d	0,31 ± 0,18 a	12,71 ± 21,15 bc
7	PDT (haricot)	6,37 ± 0,23 d	1,75 ± 0,39 d	55,61 ± 20,39 ab
8	R1 Engrais vert (chou chinois)	5,30 ± 0,46 bc	0,39 ± 0,26 ab	5,48 ± 8,63 bc
9	PDT (blé)	5,53 ± 0,15 c	1,22 ± 0,17 c	34,00 ± 29,08 ab
10	R1 (2 fois moutarde brune)	4,63 ± 0,06 ab	0,35 ± 0,20 ab	43,73 ± 0,71 b
11	PDT (blé)	5,07 ± 0,25 bc	0,81 ± 0,45 abc	13,14 ± 21,88 bc
12	R1 (2 fois moutarde brune)	4,77 ± 0,51 ab	0,51 ± 0,01 b	28,62 ± 32,74 abc

^a Pdt = précédent cultural conventionnel , Engrais vert / Moutarde = précédent cultural non-conventionnel

^b Valeur moyenne 2pHeau des sols prélevés 6 semaines après le renchaussage

Les valeurs de pHeau, d'indice moyen de gale et d'indice moyen rhizoctonie qui partagent une même lettre ne sont pas significativement différentes (p>0,10).

Le Tableau 5 indique **les blocs des précédents culturaux non conventionnels des parcelles témoins des sites Île d'Orléans et Lejeune affichent les indices moyens de gale commune les plus faibles, variant entre 0,31 et 0,51 tandis que les indices moyens des blocs dont le précédent cultural est conventionnel sont plus élevés et varient entre 0,81 et 1,75.**

Les indices moyens de rhizoctonie des parcelles témoins varient beaucoup au sein des répétitions des parcelles témoins et les différences d'indice rhizoctonie en fonction des précédents culturaux ne sont pas significatives pour la majorité des blocs.

Impacts des précédents culturels sur la réduction des indices de gale commune

Compte-tenu de la disposition des blocs expérimentaux, seul le site Lejeune pouvait être utilisé pour évaluer les impacts des types de rotation avec précédent culturel conventionnel ou non-conventionnel. À la saison 2007, deux bandes de sol ont été cultivées en blé dans les blocs # 9 et # 11 à titre de précédent culturel conventionnel d'une régie de culture de pommes de terre, tandis que deux bandes (blocs # 10 et # 12), intercalées entre les blocs # 9 et #11, ont été utilisées pour cultiver successivement deux cultures de moutarde brune qui ont été enfouies vertes avant la formation des graines, à titre de précédent culturel non-conventionnel. En 2008, le dispositif des 4 blocs a été implanté au sein de ces bandes.

Tableau 6 Impact des deux cultures de moutarde brune enfouies durant la saison 2007 sur les valeurs moyennes du pHeau des sols prélevés 6 semaines après le renchauffage des pommes de terres en 2008 et des indices de gale commune et de rhizoctonie des parcelles témoins (semences traitées à l'eau et engrais minéraux) au site de Lejeune.

Site	Précédent culturel ^a	2pHeau ^b	Indice moyen gale	Indice moyen rhizoctonie
Lejeune	PDT (blé)	5,30 ± 0,32 a	1,02 ± 0,38 a	23,57 ± 25,70 a
	R1 (2 x moutarde brune)	4,70 ± 0,13 b	0,43 ± 0,15 b	36,17 ± 22,30 a

^a Pdt = précédent culturel conventionnel , Engrais vert / Moutarde = précédent culturel non-conventionnel

^b Valeur moyenne 2pHeau des sols prélevés 6 semaines après le renchauffage

Les valeurs de pHeau, d'indice moyen de gale et d'indice moyen rhizoctonie qui partagent une même lettre ne sont pas significativement différentes (p>0,10).

Au site Lejeune, les deux cultures de moutarde brune successivement enfouies dans le sol des blocs # 10 et # 12 ont abaissé significativement le pHeau et l'indice moyen de gale commune dans les sols cultivés sous une régie de fertilisation minérale et sans traitement de semences (Tableau 6). Par contre, les deux cultures de moutarde brune successivement enfouies n'ont pas eu d'impacts sur une réduction significative de l'indice moyen de rhizoctonie des tubercules récoltés au site Lejeune.

Le Tableau 5 illustre les défis inhérents à vouloir évaluer l'efficacité de combinaisons de moyens de lutte lorsque les parcelles expérimentales sont établies dans des champs en production commerciale et pour lesquels les indices moyens de gale commune varient entre 0,31 et 3,51 et ceux de la rhizoctonie entre 0,5 et 55,61. Par contre, pour chaque type de régie de précédents culturels conventionnels ou non-conventionnels au sein d'une région, nous observons des valeurs moyennes de pHeau et d'indice moyen de gale commune similaires. Les 4 blocs de la région de Joliette et ceux de l'Île d'Orléans n'ont pas été disposés dans le même champ, tel que fait pour le site Lejeune, ce qui ne permet pas d'isoler l'impact des cultures de rotation. Toutefois, la similarité des indices moyens de gale des parcelles témoins et la faible variation des pHeau des parcelles témoins, pour un même type de précédent culturel d'une même région, indiquent que les impacts de chacune des 6 combinaisons de moyens de lutte à la gale commune et à la rhizoctonie peuvent être déterminés en fonction d'un contexte de régie de précédent culturel spécifique à chacun de ces blocs.

Évaluation des 6 combinaisons de traitements sur la réduction des indices moyens de gale commune et de rhizoctonie

Les valeurs moyennes des pHeau à chacune des deux dates d'échantillonnage des sols (3 et 6 semaines après renchauffage) et celles des indices moyens de gale commune et de rhizoctonie des tubercules

récoltés ont été estimées pour chacune des régies de rotation, soit les précédents culturaux conventionnels (PDT) et non-conventionnels (R1), en fonction des traitements de semences et des trois régies de fertilisations appliqués en 2008. Les valeurs moyennes des indices de gale commune et de rhizoctonie ont été estimées selon les classes et les facteurs de conversion décrits à la section méthodologie.

A- Évaluation du traitement des semences Agriclay™ A6 (régies de fertilisation confondues)

L'impact d'une dose d'Agriclay™ A6 à 2,48 L/ha (dose recommandée par le fournisseur) appliquée sur le tubercule dans le sillon à la plantation a été comparé à l'impact d'un même volume d'eau appliqué. L'examen des résultats des parcelles lorsque les trois régies de fertilisation sont confondues (Figure A-F1, Annexe A) indique que *le traitement à l'Agriclay™ A6 n'induit pas de réduction significative du pHeau ni de l'indice moyen de gale commune des tubercules récoltés dans chacune des trois régions et cela peu importe le contexte de précédents culturaux étudiés. De même, le traitement de semence à l'Agriclay™ A6 n'induit aucune réduction de l'indice de rhizoctonie (résultats non montrés).*

Les résultats sont similaires lorsque les valeurs moyennes des pHeau et des indices de gale commune et de rhizoctonie sont estimées pour les parcelles de la seule fertilisation minérale.

Dans le cadre d'essais réalisés chez six producteurs en 2008, l'application de cette dose d'Agriclay™ A6 sur le tubercule à la plantation a réduit significativement l'indice de gale commune dans les champs de deux producteurs (Tableau 7).

Tableau 7 Comparaison de l'indice moyen de gale commune des tubercules récoltés de parcelles traitées ou non avec 2,48L/ha d'Agriclay™ A6 dans le sillon à la plantation.

Producteur (cultivar) ^a	Essai 1		Essai 2	
	Agriclay™ A6	Témoin eau	Agriclay™ A6	Témoin eau
C (Marcy)	2,68 a	2,80 a	2,73 a	2,47 a
D (Goldrush)	1,61 a	1,55 a	1,62 a	1,52 a
I (Yukon Gold)	1,70 a	1,67 a	1,76 a	1,62 a
L (FL1879)	2,10 a	2,63 b	2,42 a	2,56 a
M (Snowden)	2,44 a	2,99 b	2,60 a	3,24 b
R (Envol)	1,64 a	1,88 a	1,76 a	1,85 a

^a Pour un même essai chez un producteur, les indices moyens de gale qui partagent la même lettre ne sont pas significativement différents (p> 0,10).

B- Évaluation des régies de fertilisation (blocs et traitement des semences confondus)

La Figure A-F2 (Annexe A) présente les valeurs moyennes des deux pHeau et celles des indices moyens de gale commune observées pour chacun des précédents culturaux conventionnels (PDT) ou non-conventionnels (R1) lorsque les blocs et les traitements de semences sont confondus. Voir le Tableau 5 pour l'identification des cultures plantées dans chacun des 12 blocs. *La régie de fertilisation MES+Tiger90, lorsque comparée aux deux autres régies, a acidifié le sol des billons des blocs des deux types de précédents culturaux de la région de Joliette (Figure A-F2, Annexe A). À l'Île d'Orléans, seuls les sols des blocs des précédents culturaux non-conventionnels ont été acidifiés par la régie de fertilisation MES+Tiger90 comparativement aux sols soumis à la régie de fertilisation*

minérale. Finalement, la régie MES+Tiger90 n'a acidifié que légèrement le sol des blocs des deux types de précédents culturels du site Lejeune (Figure A-F2, Annexe A). Nos résultats concordent avec le pouvoir acidifiant du MES + Tiger90 qui est plus important dans les sols sableux comparativement aux sols limoneux ou argileux.

L'ajout de la fraction solide de lisier de porc (FS) a complètement inhibé le processus d'acidification initié par les engrais MES+Tiger90, sauf pour les sols des blocs des précédents culturels conventionnels de l'Île d'Orléans (Figure A-F2, Annexe A).

C- Impacts des régies de fertilisation sur l'indice de gale (traitement des semences confondu)

Les Figures A-F3 à A-F5 (Annexe A) représentent, pour chaque site expérimental, les valeurs moyennes des deux pHeau et celles des indices moyens de gale commune observées pour chaque bloc lorsque les traitements de semences sont confondus. Ceci afin de tenir compte du fait que les blocs des précédents culturels n'ont pu être disposés dans le même champ pour les sites Joliette et Île d'Orléans.

Au site Joliette, les valeurs moyennes des indices de gale observés dans les parcelles soumises à la régie MES+Tiger90 étaient les plus petites alors que celles des parcelles soumises à la régie MES+Tiger90+FS étaient les plus élevées (Figure, A-F3, Annexe A). La régie MES+Tiger90+FS a complètement inhibé le processus d'acidification des sols prélevés 6 semaines après le renchaussage. Les sols des blocs du site Joliette sont les seuls pour lesquels nous avons observés une acidification qui s'est poursuivie durant les 6 semaines après renchaussage, les valeurs moyennes du 2pHeau étant plus faibles que celles du 1pHeau (Figure A-F3, Annexe A). Les indices moyens de gale étaient plus élevés dans les blocs des précédents culturels non-conventionnels. Toutefois la disposition de ces blocs dans des champs différents de ceux utilisés pour implanter les blocs des précédents culturels conventionnels au site Joliette explique vraisemblablement cette différence. Cette dernière est d'ailleurs contraire à ce qui a été observé au site Lejeune, alors que les 4 blocs étaient disposés dans le même champ.

Au site Île d'Orléans, seules les parcelles du bloc R1 # 6 soumises à la régie MES+Tiger90 ont démontré une acidification de leur sol pour chacune des deux dates de prélèvement de sol. Les tubercules récoltés de ces parcelles sont les seuls à afficher un indice moyen de gale légèrement inférieur à ceux observés pour les tubercules récoltés des parcelles fertilisées avec les deux autres régies (Figure A-F4, Annexe A). De plus, contrairement à ce qui a été observé dans chacun des 10 autres blocs expérimentaux du projet, l'ajout de FS aux engrais MES+Tiger90 n'a pas donné lieu à une inhibition du processus d'acidification du sol. Nous avons plutôt observé une légère acidification des sols soumis à la régie MES+Tiger90+FS, tandis que les sols soumis à la régie MES+Tiger90 affichaient les valeurs moyennes de pHeau les plus élevées parmi les sols prélevés dans les parcelles des blocs # 5 et # 7 du précédent culturel conventionnel (Figure A-F4, Annexe A). Les blocs étant disposés dans des champs distincts, il est difficile de lier les différences observées pour les indices moyens de gale commune à la nature du précédent culturel employé en 2007 dans ces champs.

Au site Lejeune, les valeurs moyennes des pHeau pour les deux dates de prélèvement des sols indiquent que le processus d'acidification a été réalisé dans trois des quatre blocs (sauf bloc #9), mais il a été beaucoup moins important que ce qui a été observé dans les sols du site Joliette (Figure A-F5, Annexe A). Les valeurs moyennes du pHeau des sols prélevés 6 semaines après renchaussage (2pHeau) indiquent que le processus d'acidification s'est maintenu pendant les 6 semaines après le

renchauffage, mais qu'il ne s'est pas accentué comme cela avait été observé pour les sols sableux du site Joliette (Figure A-F3, Annexe A).

L'examen des valeurs moyennes des indices de gale des parcelles soumises à l'une ou l'autre des trois régies de fertilisation dans les 12 blocs expérimentaux du projet indique que *les différentiels les plus important entre les valeurs moyennes des indices de gale ont été observés dans les parcelles des blocs des précédents culturels du site Joliette, pour lesquels l'acidification causée par les engrais MES+Tiger90 s'est poursuivie durant au moins les 6 semaines suivant le renchauffage. Cet abaissement continu des pHeau des sols soumis à la régie MES+Tiger90 n'a pas été observé pour les autres blocs des autres sites, ce qui expliquerait les différentiels plus petits.*

Les résultats illustrés aux figures A-F2 à A-F5 (Annexe A) suggèrent donc un lien entre la réduction progressive et continue du pHeau du sol des billons, sur une période d'au moins 6 semaines, et une réduction des valeurs moyennes des indices de gale commune associées aux tubercules récoltés dans les parcelles soumises à la régie de fertilisation MES+Tiger90. Ce lien a déjà été documenté dans de nombreuses études menées dans plusieurs pays. L'impact de la vitesse du processus d'acidification et sa persistance dans le sol entourant les tubercules en formation sont toutefois moins bien documentés.

L'ajout de 3,5 t/ha de fraction solide de lisier de porc (FS), assainie et compostée depuis un an, a non seulement neutralisé l'action acidifiante du mélange MES+Tiger90, mais il a résulté, 6 semaines après le renchauffage, en un accroissement du pHeau dans les sols des parcelles de 8 des 12 blocs, soit les blocs 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 11 et 12 (Figure A-F3, A-F4 et A-F5). Les indices moyens de gale des parcelles fertilisées au mélange MES+Tiger90+FS, de ces 8 blocs (sauf # 6 et # 11) sont aussi plus élevés que ceux des parcelles soumises aux deux autres régies de fertilisation.

D- Évaluation des combinaisons de traitements pour la réduction des indices de rhizoctonie

Les résultats de l'évaluation des six combinaisons de traitements dans un contexte de régie de précédent cultural conventionnel (PDT) ou non-conventionnel (R1) indiquent que les valeurs moyennes de l'indice rhizoctonie variaient beaucoup entre les parcelles d'une même combinaison et entre les combinaisons elles-mêmes. *Aucune combinaison de traitements n'a eu des effets significativement différents sur l'indice moyen de rhizoctonie.*

Évaluation des effets des combinaisons de traitements sur les rendements total et vendable

La Figure A-F6 (Annexe A) illustre les rendements vendables No 2 moyens obtenus des tubercules récoltés des parcelles des blocs de précédents culturels conventionnels (PDT) ou non-conventionnels (R1) pour chaque région. Puisque le rendement vendable No 2 représente entre 87% et 95% du rendement total, les conclusions tirées du rendement vendable No 2 sont essentiellement similaires à celles tirées des résultats du rendement total moyen (résultats non-montrés).

Le traitement de semence à l'Agriclay™ A6 et l'une ou l'autre des régies de fertilisation évalués seuls ou en combinaison, dans un contexte de précédents culturels, n'ont pas induit de différences significatives pour les rendements vendables No 2 dans chacune des trois régions (Figure A-F6, Annexe A).

Sans surprise, *la régie de fertilisation MES+Tiger90+FS génère les valeurs moyennes de rendement vendable No 2 les plus élevées pour 9 des 12 combinaisons possibles étudiées dans le projet*. Les parcelles du précédent cultural non-conventionnel de la région Joliette ont fourni les valeurs moyennes de rendement vendable No 2 les plus élevées. L'apport de matière organique suite à l'enfouissement de l'engrais vert (millet perlé) a vraisemblablement un impact plus important dans un sol sableux, affichant un taux de matière organique d'environ 2,2%, que peu en avoir les enfouissements d'engrais vert ou de moutarde dans les sols des autres sites expérimentaux qui affichent des taux supérieurs de matière organiques variant de 3,3% à 5,0% (Tableau 2).

Détection des espèces de *Streptomyces* pathogènes

Tous les ADN totaux extraits et purifiés ont été analysés sur gel d'agarose 0,8% (Figure A-F7, sections A-I à A-III, Annexe A). Le système d'amplification PCR avec la paire d'amorces Txt103 / Txt104 cible une séquence partielle de 87 paires de bases (pb) du gène de la thaxtomine et permet la détection de toutes les espèces de *Streptomyces* pathogènes (Tableau 3).

*Le produit d'amplification de 87 pb, spécifique aux espèces de *Streptomyces* pathogènes, a été détecté sur gel d'agarose 2,0% dans tous les échantillons de référence d'ADN génomique des *Streptomyces* pathogènes, soit les *S. acidiscabiei*, *S. scabiei* EF-35 et *S. scabiei* GF-11, alors qu'aucun produit amplifié n'a été détecté pour les espèces non-pathogènes *S. melanosporofaciens* EF-76 et *S. coelicolor* (Figure A-F7, sections C-I, Annexe A).*

Le produit d'amplification de 87 pb a aussi été détecté dans les échantillons d'ADN totaux extraits de pelures de tubercules portant des lésions superficielles ou à pustules (Figure A-F7, section C-I, puits 1 à 4, Annexe A). Une très faible quantité de produits d'amplification de 87pb a été détectée dans l'échantillon d'ADN totaux extraits d'une pelure d'apparence saine d'un tubercule récolté dans une parcelle du bloc 2 du site Joliette, dont l'indice moyen de gale commune était de 2,65 (Figure A-F7, section C-I, puit 6). De faibles quantités du produit de 87pb ont aussi été détectées dans des échantillons d'ADN totaux extraits du sol de tuberculosphère de tubercules porteurs de lésions et récoltés dans des parcelles du bloc 2 (Figure A-F7, section C-II, puits 7 à 10).

*Aucun produit d'amplification de 87 pb n'a été détecté dans les ADN totaux extraits d'une lésion de gale poudreuse, causée par le champignon *Spongospora subterranea*, (Figure A-F7, section C-I, puit 5) ni dans les échantillons d'ADN extraits de sols de tuberculosphère ou de sols de billons prélevés dans les parcelles dont les indices de gale commune étaient inférieurs à 2,65 (résultats non-montré).*

Impacts des combinaisons des traitements sur les Actinomycètes et les Streptomycètes

Le système d'amplification PCR avec la paire d'amorces StrepB / StrepE cible une séquence partielle du gène de la petite sous-unité 16S des gènes ribosomiaux des *Streptomycètes* pathogènes et non-pathogènes (Tableau 3). *Des produits d'amplification d'environ 500 pb ont été détectés sur gel d'agarose 1.6% lorsque nous avons testé des extraits d'ADN totaux extraits d'espèces de *Streptomyces* de référence, de lésions superficielles ou à pustules, ou de sols de tuberculosphère prélevés sur des tubercules récoltés du bloc #2 du site Joliette (Figure A-F7, section BI et B-II, Annexe A). La sensibilité de détection de ce système PCR n'a pas permis de détecter ces produits*

d'amplification dans des échantillons d'ADN totaux extraits de sols prélevés dans les billons des parcelles du bloc #2 du site Joliette (Figure A-F7, section BIIIa, Annexe A).

Lorsque la paire d'amorce StrepB / StrepE-GC a été utilisée pour l'analyse PCR-DGGE des produits d'amplification d'environ 500 pb, des profils DGGE d'une ou deux bandes majeures ont été observés pour les produits PCR issus d'ADN extraits des espèces de *Streptomyces* pathogènes et non-pathogènes de référence, ainsi que des ADN totaux extraits des lésions superficielles ou à pustules (Figure A-F7, section D-I, puits 1 à 4). Les bandes détectées dans les profils DGGE des produits PCR issus des ADN totaux extraits d'une pelure d'apparence saine correspondent au doublet de bandes des profils DGGE obtenus des *S. scabiei* de référence. Par ailleurs, les bandes plus faiblement détectées dans les profils DGGE des produits PCR issus des ADN totaux extraits d'une lésion de gale poudreuse correspondent aux bandes des profils DGGE obtenus des espèces non-pathogènes de référence *S. melanosporofaciens* et *S. coelicolor* (Figure A-F7, section D-I, puits 5 et 6, Annexe A). ***Tant qu'aux bandes détectées dans les profils DGGE des produits PCR issus des ADN totaux extraits des sols de la tuberculosphère de tubercules récoltés dans le bloc # 2 du site Joliette, elles sont similaires à celles du profil DGGE obtenu des *S. scabiei* EF-35 et GF-11 (Figure A-F7, section D-II, puits 7 à 10).***

Le système d'analyse PCR-DGGE, avec la paire d'amorces F243 / R513-GC, cible une séquence partielle de 270 pb du gène de la petite sous-unité 16S des gènes ribosomiaux des Actinomycètes pathogènes et non-pathogènes (Tableau 3). ***L'emploi de ce système PCR-DGGE avec des échantillons d'ADN totaux extraits des sols de billons du bloc # 2 du site Joliette a généré des profils DGGE qui comportent plusieurs bandes majeures*** (Figure A-F7, section D-IIIb, Annexe A). Afin d'identifier dans les profils DGGE qui sont issus d'une PCR Actinomycètes totaux, les bandes DGGE qui dérivent d'espèces de Streptomycètes, nous avons réalisé une PCR nichée avec les mêmes échantillons d'ADN totaux extraits des sols de billons du bloc # 2. Ainsi, les amorces StrepB / StrepE ont amplifié les séquences partielles 16S rDNA des Streptomycètes totaux présents dans les échantillons, puis une 2^e PCR, avec les amorces F243 / R513-GC qui cible les Actinomycètes totaux, a permis d'amplifier spécifiquement la séquence partielle de 270 pb décrite ci-haut. Cette stratégie de PCR nichée offre deux bénéfices; **a)** elle accroît la sensibilité de détection des Streptomycètes totaux, **b)** elle permet d'identifier, parmi les bandes du profil DGGE obtenu du système PCR-DGGE des Actinomycètes totaux, les bandes qui correspondent aux séquences de 270 pb issues des espèces de Streptomycètes pathogènes et non-pathogènes. Les bandes associées aux Streptomycètes totaux se localisent dans la moitié inférieure du profil DGGE des Actinomycètes totaux (Figure A-F7, section D-IIIc).

Le système PCR-DGGE, employant les amorces F243 / R513-GC pour amplifier les Actinomycètes totaux, a été utilisé avec 64 échantillons d'ADN totaux extraits du sol de billons prélevés dans différents blocs expérimentaux. Ceci afin de déterminer la diversité des populations d'Actinomycètes et de Streptomycètes pathogènes et non-pathogènes dans les sols de billons pour lesquels l'indice moyen de gale commune variait de 0,15 à 3,50. ***Les 64 profils PCR-DGGE des Actinomycètes totaux partagent une relative similitude bien qu'ils aient été obtenus d'échantillons d'ADN totaux extraits de sols provenant de champs différents agronomiquement parlant et qui avaient des indices moyens de gale commune variant de très faible à élevé*** (Figure A-F8, Annexe A).

Le logiciel Bionumerics (Applied Maths, Austin, E.U.) a été utilisé pour numériser et normaliser chacun des 64 profils DGGE. L'analyse Bionumerics, grâce aux bandes produites par des produits PCR de référence inclus dans le gel DGGE, en parallèle à l'analyse des échantillons, a permis d'éliminer les biais introduits par l'électrophorèse DGGE. Cette analyse a généré une matrice qui

accorde deux types d'information à chacune des bandes reproductibles; **a)** la distance de migration de la bande, et **b)** l'intensité moyenne de la bande.

Nous avons alignés 64 profils DGGE en fonction d'un gradient croissant de la valeur de l'indice moyen de gale commune associée à chacun des ADN soumis à l'analyse PCR-DGGE. *La normalisation et l'analyse numérique de ces 64 profils DGGE ont généré une matrice qui a permis d'identifier jusqu'à 17 bandes* (Figures A-F8 et A-F9, Annexe A). Parmi ces 17 bandes reproductibles et détectables par le système PCR-DGGE des Actinomycètes totaux, les bandes regroupées dans la moitié inférieure de ces profils DGGE (bandes # 7 à # 17) ont été associées à des Streptomycètes totaux grâce à l'analyse des profils DGGE obtenus par la PCR nichée décrite ci-haut.

La Figure A-F9 (Annexe A) est une représentation schématique des variations observées pour les principales bandes du profil DGGE. Nous avons observé que quatre groupes de bandes pouvaient être constitués sur la base de la variation de la fréquence et de l'intensité de détection de chacune des bandes du profil DGGE (Tableau 8).

Tableau 8 Caractérisation des 17 bandes reproductibles des profils DGGE issus de produits PCR ciblant les Actinomycètes et les Streptomycètes totaux. Les bandes se classent en fonction de leur appartenance à un des deux groupes taxonomiques et de la variation de leur fréquence et de leur intensité de détection dans les profils DGGE.

Bandes associées aux Actinomycètes	Bandes associées aux Streptomycètes	Fréquence de détection	Intensité de détection (unité équivalente de détection)
# 4 et # 5	# 11, # 14 et # 17	Très fréquentes	Varie de 0 à plus de 45 unités
# 1 et # 6	# 9 et # 13	Fréquentes	Varie de 0 à plus de 35 unités
# 2	# 7 et # 10	Peu fréquentes	Varie de 0 à plus de 35 unités
# 3	# 8, #12, #16 et #15	Très peu fréquentes	Varie de 0 à plus de 25 unités

La matrice générée par l'analyse numérique des 17 bandes reproductibles des profils DGGE a permis de qualifier et documenter des variations dans les populations des Actinomycètes et des Streptomycètes totaux.

Une représentation schématique des variations observées pour chacune des 17 bandes a été préparée pour la compilation des 64 profils DGGE analysés à ce jour en fonction de la variabilité;

- a) des indices moyens de gale commune des parcelles (Figure A-F9, Annexe A);*
- b) des sites expérimentaux et des types de précédents culturels (Figure A-F10, Annexe A);*
- c) des régimes de fertilisations et des précédents culturels (Figure A-F11, Annexe A).*

Les représentations schématiques de 30 profils reposent sur l'analyse des 64 profils.

Analyse des profils PCR-DGGE des populations d'Actinomycètes et Streptomycètes

La figure A-F 9 illustre la fréquence et l'intensité de détection de chacune des 17 bandes reproductibles qui constituent le profil DGGE obtenus de l'amplification des ADN extraits à l'aide des amorces F243 / R513, spécifiques aux Actinomycètes totaux. Un profil est constitué d'un maximum de 17 bandes et le sens de lecture du profil est de gauche à droite. Les bandes 1 à 6 sont associées à des

espèces d'Actinomycètes, tandis que les bandes associées aux espèces de référence sont *S. acidiscabiei* (10), *S. scabiei* (11), *S. coelicolor* (9) et *S. melanosporofaciens* (14). La bande BZ correspond à une zone d'artéfact généré par l'analyse DGGE. 30 profils disposés horizontalement dans les schémas (Figures A-F9 à F11, Annexe A) ont été triés en fonction de valeurs croissantes d'indice moyen de gale commune observés sur des tubercules récoltés des parcelles dont sont issus les extraits d'ADN de sol.

La compilation des profils fait ressortir 4 classes de bandes (Tableau 8) et les principales observations suite à ce tri en fonction du gradient croissant d'indices de gale sont les suivantes;

- a) la bande 11 (*S. scabiei*) est détectée dans 24 des 30 profils et avec une intensité souvent > à 25,
- b) les bandes 2, 3, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 15 et 16 sont davantage détectées dans les profils des indices < à 1.00,
- c) Le nombre de bandes et leur intensité est moindre dans les profils des indices > à 1.00, les bandes 4, 5, 9, 11, 14 et 17 sont les seules détectés dans les profils des indices > à 2,00.

La Figure A – F10 illustre un schéma des 30 profils qui ont été disposés horizontalement suite à un tri fait en fonction des régions et des blocs des précédents culturaux (Tableau 5) desquels proviennent les échantillons de sol utilisés pour extraire les ADN totaux et faire un PCR-DGGE des populations d'Actinomycètes totales. La compilation des profils fait toujours ressortir 4 classes de bandes (Tableau 8) et les principales observations suite à ce tri en fonction des régions et des blocs sont les suivantes;

- d) la bande 11 (*S. scabiei*) est détectée dans 22 des 30 profils et avec une intensité souvent > à 25,
- e) les bandes 1 à 6 et 10 et 13 (Actinomycètes totaux) sont peu détectées dans les profils des sols sableux des blocs 1 à 4 du site Joliette, davantage détectées à l'Île d'Orléans et souvent détectées avec une intensité > 25 dans les blocs du site Lejeune, surtout dans les sols des précédents de moutarde (bande 10 davantage détectées dans les parcelles chou-chinois),
- f) Les sols sableux du site Joliette sont ceux pour lesquels la plus faible diversité des populations d'Actinomycètes et de Streptomycètes non-pathogènes est détectée.
- g) La bande 10 (*S. acidiscabiei*) n'est détectée à fréquence élevée que dans les sols du site Lejeune et le site de l'Île d'Orléans cultivés avec du chou-chinois,

La figure A - F11 illustre un schéma de 30 profils qui ont été disposés horizontalement suite à un tri fait en fonction des régies de fertilisation Fert -1 (minérale), Fert-2 (MES+Tiger90) et Fert-3 (MES+Tiger90+FS) et des types de précédents culturaux conventionnels (PDT) ou non-conventionnels (R1). La compilation des profils PCR-DGGE des populations d'Actinomycètes et de Streptomycètes totales fait toujours ressortir 4 classes de bandes (Tableau 8). L'analyse de la répartition des bandes de des profils de cette figure nécessite d'intégrer un plus grand nombre de profils issus de tous les blocs et de toutes les régions afin de pondérer équitablement le poids des 30 profils actuellement disponibles.

Perspectives pour la suite du projet

Les résultats obtenus au site Lejeune pour l'évaluation des impacts des types de précédents culturaux, conventionnels versus non-conventionnels, ont démontré le très grand potentiel qu'offrent les deux cultures de moutardes brunes successivement enfouies pour générer un processus de biofumigation. La réduction significative des indices moyens de gale commune des tubercules récoltés dans les parcelles implantées dans les blocs où les cultures de moutarde brunes avaient été enfouies en 2007, démontre qu'un précédent cultural qui peut générer une biofumigation efficace des sols est le facteur le plus important parmi les combinaisons de moyens de lutte utilisées envers les *Streptomyces* pathogènes.

Lors de la saison de culture 2008, les partenaires au projet se sont assurés de pouvoir implanter dans chacune des trois régions, un champ dans lequel au moins deux bandes de moutarde brune seraient semées adjacentes à des bandes de céréales. Un tel dispositif, où les 4 blocs expérimentaux sont implantés dans un même champ, sera essentiel pour évaluer les impacts des précédents culturaux conventionnels et non-conventionnels lors de nos essais en 2009. Certains des producteurs partenaires, pour accroître l'effet de biofumigation, ont utilisés une lignée de moutarde (*B. juncea* cv. Caliente 199) qui produit davantage de glycosinolates lorsque les plantes sont hachées et enfouies.

Selon nos résultats de 2008, le deuxième facteur qui peut induire une réduction significative des indices de gale commune est la régie de fertilisation basée sur les engrais MES+Tiger90, surtout lorsqu'ils sont appliqués dans les sols sableux. Nos résultats du suivi des pHeau des sols prélevés à 3 et 6 semaines après le renchaussage ont jeté une lumière très intéressante sur la cinétique du processus d'acidification des sols des parcelles des sites expérimentaux. Un tel suivi s'avère essentiel pour juger de l'efficacité de l'apport du mélange MES+Tiger90 dans des sols dont les caractéristiques peuvent grandement influencer le processus d'acidification. Pour nos essais prévus en 2009, nous comptons prélever des échantillons de sol des sites expérimentaux de 2009, et tester les quantités d'engrais MES+Tiger90 requises pour obtenir dans chacun des sols un processus d'acidification significatif. Cet ajustement de la dose de MES+Tiger90 appliquée devrait accroître le nombre de nos parcelles pour lesquelles les effets présomptifs de la régie de fertilisation MES+Tiger90 sont réellement obtenus.

L'apport de la fraction solide de lisier de porc (FS) lors de la plantation a inhibé le processus d'acidification et n'a pas généré non plus les effets escomptés pour accroître la diversité microbienne et le nombre de compétiteurs microbiens. Ceux-ci devaient être des facteurs additifs pour réduire les indices de gale commune. Lors de la poursuite de nos essais en 2009, il serait intéressant d'évaluer un apport de FS à une période ultérieure à la plantation afin de laisser le processus d'acidification des engrais MES+Tiger90 s'amorcer. Le moment le plus stratégique pour les producteurs consisterait à introduire la FS lors du renchaussage. Ceci afin d'incorporer la FS directement sur les flancs du billon et créer un apport de matière organique facilement assimilable par les microorganismes du sol pour induire une croissance et une diversité accrues des populations de compétiteurs potentiels aux espèces de *Streptomyces* pathogènes. Le processus d'acidification induit lors de l'incorporation des engrais MES+Tiger90 serait moins affecté entre la période de la plantation et les quelques semaines suivant le renchaussage. En augmentant les probabilités d'avoir une réelle réduction du pHeau du sol du billon, les conditions défavorables aux *Streptomyces* pathogènes seraient plus déterminantes.

Finalement, les résultats préliminaires tirées des analyses PCR-DGGE nous incitent à poursuivre et amplifier nos études du suivi des modifications des populations des Streptomycètes et des Actinomycètes pathogènes et non-pathogènes pour mieux évaluer les impacts de nos combinaisons de moyens de lutte à la gale commune et à la rhizoctonie.

Références:

- 1. Lee, S.B. and Taylor, J.W..** (1990). Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. A Guide to Methods and Applications , 282-287.
- 2. Lerat, S., Beaulieu, C.** (2007). Communication personnelle.

- 3. Heuer, H., Krsek, M., Baker, P. et al.** (1997). Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* *63*, 3233-3241.
- 4. Rintala, H., Nevalainen, A., Ronka, E. et al.** (2001). PCR primers targeting the 16S rRNA gene for the specific detection of streptomycetes. *MOLECULAR AND CELLULAR PROBES* *15*, 337-347.
- 5. Pavlista, A.D.** 2005. Early-season applications of sulfur fertilizers increase potato yield and reduce tuber defects. *Agron. J.* *97*:599-603.
- 6. Tiger Sul Products (Canada) inc.** 2009. Tiger 90CR: Influence of Tiger 90 Sulfur on potato scab. www.tigersul.com
- 7. Otrysko, B., G.J. Banville, A. Asselin,** 1988, Influence du degré de dépendance des tubercules-fils de pommes de terre vis-à-vis de la plante-mère sur leur infestation par *Rhizoctonia solani*. *Potato Research* *31* :617-625.

ANNEXE A

Tableau A-1 Résultats des analyses de sol fournis par les producteurs

Description	Blocs 1 et 3	Blocs 2 et 4	Bloc 5	Bloc 6	Bloc 7	Bloc 8	Blocs 9 à 12
C.E.C.	8,3	11,2	11,7	25,8	14,4	19,0	18,5
%MO	2,8	4,2	2,5	3,5	2,9	4,9	4,0
pH eau	5,3	6,4	6,8	6,7	6,8	5,6	5,6
PH tampon	6,5	6,7	7,0	6,9	7,0	6,3	6,1
P (kg/ha)	404	945	1030	635	344	213	130
Al (ppm)	1046	1870	1450	1300	1240	1064	1770
% de P (P/Al) x 100	17	22,6	31,7	27,5	12,4	10	3,3
S (kg/ha)	83	33	40	-	42	-	53
K (kg/ha)	110	235	427	760	311	344	462
Mg (kg/ha)	101	313	380	-	352	122	120
Ca (kg/ha)	784	3700	4440	8000	5700	3227	3800
% de K	1,5	2,4	4,2	3,4	2,5	2,1	2,9
% de Mg	4,5	9,4	10,9		8,5	2,4	2,2
% de Ca	21,2	62,7	71,2	69,2	75,2	37,9	41,4
% de H	72,6	25,5	13,8	-	14,2	-	53,6
K/Mg	0,33	0,26	0,38	-	0,30	0,87	1,32
Zn (ppm)	4	10,3	-	-	-	-	2,2
Mn (ppm)	4	10	-	-	-	-	7,5
Cu (ppm)	1,1	3,4	-	-	-	-	1,8
Fe (ppm)	144	228	-	-	-	-	229
B (ppm)	0,4	0,4	-	-	-	-	0,4

NOTE: Les échantillons de sol ont été prélevés à l'automne 2007

ANNEXE A

Tableau A-2 Besoin en engrais pour les essais gale, 2008

Site	Besoin (kg/ha)				Engrais à la plantation (kg/ha)					Engrais au renchassage (kg/ha)		
	N	P2O5	K2O	Mg	N	P2O5	K2O	Mg	5*	N	K2O	Mg
Blocs 1 et 3	185	90	220	40	110	90	130	25	23	75	90	15
Blocs 2 et 4	185	45	220	40	110	45	130	25	23	75	90	15
Bloc 5	160	30	120	40	110	30	70	25	23	50	50	15
Bloc 6	160	45	120	60	110	45	70	35	23	50	50	25
Bloc 7	160	100	120	40	110	100	70	25	23	50	50	15
Bloc 8	160	130	120	60	110	130	70	35	23	50	50	25
Blocs 9 à 12	150	150	120	60	100	150	70	35	23	50	50	25

Source: CRAAQ, 2008. Fertilisation en phosphore de la pomme - Recommandation. Publication N° EVC 028
CRAAQ, 2003. Guide de référence en fertilisation 1ere Édition.

Note: Pour le potassium et le magnasium, les doses ont été ajustées à partir des résultats de recherche conduits à Lanoraie et à l'Ile d'Orléans avec SynAgri

	Besoin (kg/ha)				Engrais à la plantation (% dose totale)					Engrais au renchassage (kg/ha)		
	N	P2O5	K2O	Mg	N	P2O5	K2O	Mg	5*	N	K2O	Mg
Blocs 1 et 3	185	90	220	40								
Blocs 2 et 4	185	45	220	40								
Bloc 5	160	30	120	40								
Bloc 6	160	45	120	60								
Bloc 7	160	100	120	40								
Bloc 8	160	130	120	60								
Blocs 9 à 12	150	150	120	60								

La fraction solide lisier de porc a été calibrées à 3.5 t/ha pour être incluse dans la régie de fertilisation 3 (MES+Tiger90+FS)

ANNEXE A

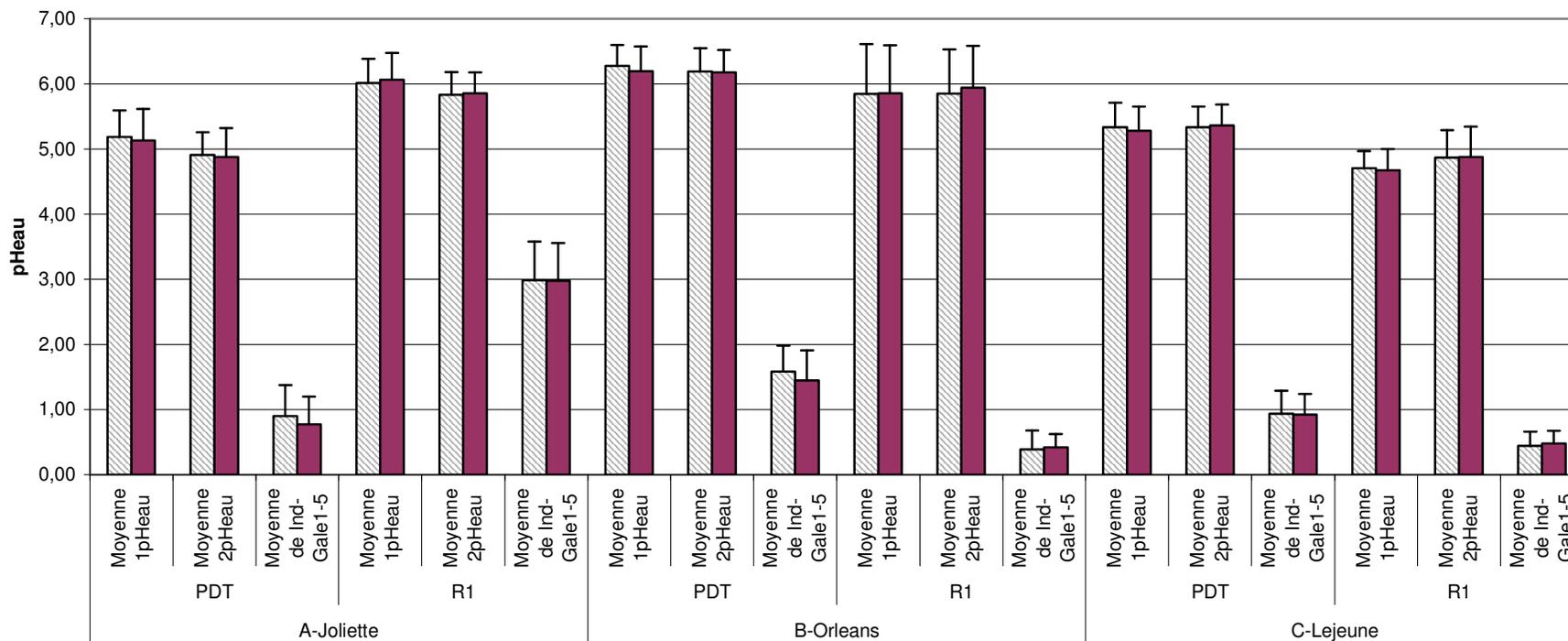


Figure A - F1 Traitements de semence

□ Agriclay A6 ■ Eau

Relation entre le pHeau moyen du sol à deux dates (3 et 6 semaines après renchaussage) et l'indice moyen de gale commune en fonction des traitements de semences pour chaque région de précédents culturaux (PDT et R1) par région lorsque les blocs et les régions de fertilisation sont confondus

ANNEXE A

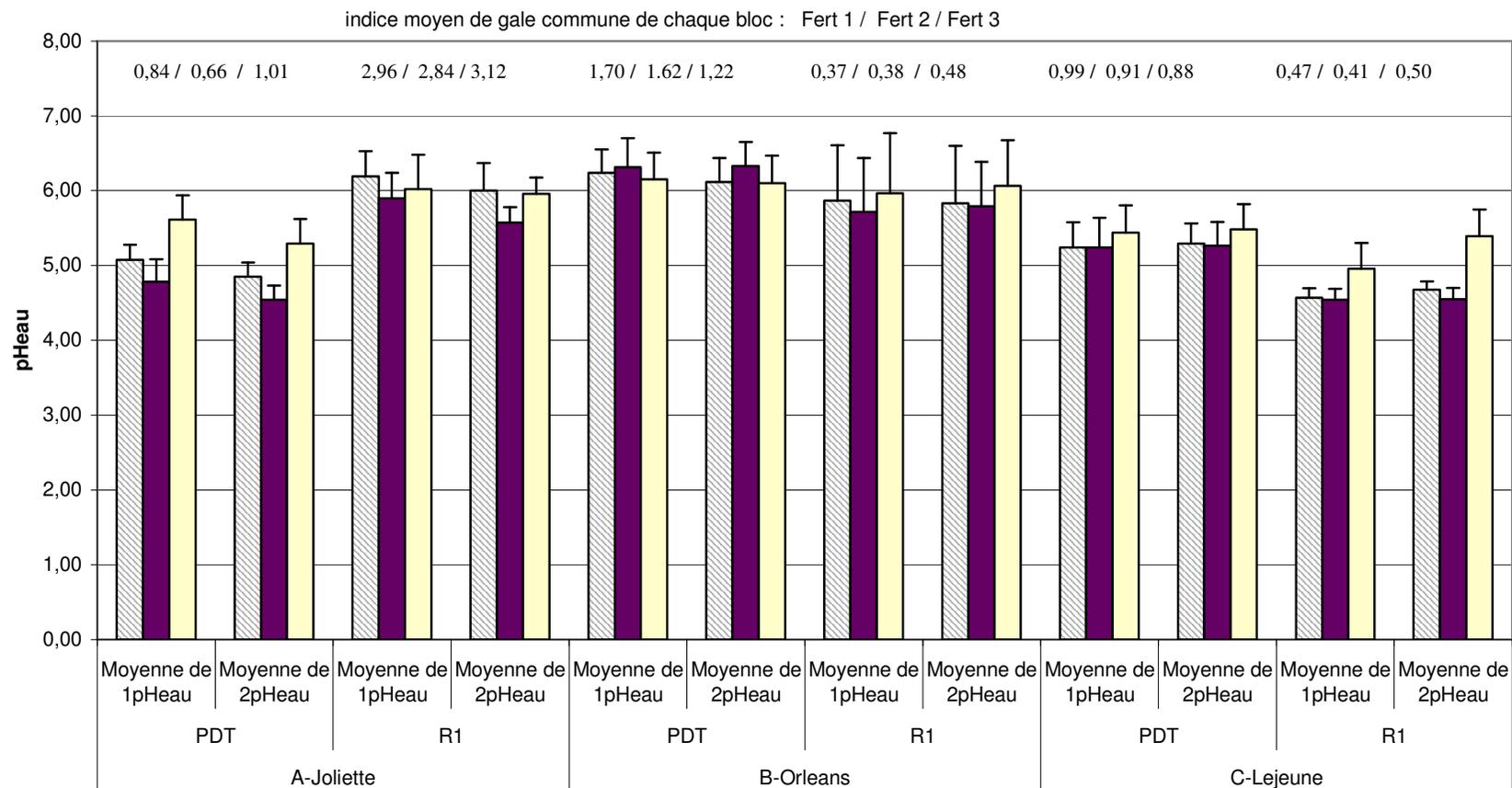


Figure A-F2



Relation entre le pHeau moyen du sol à deux dates (3 et 6 semaines après renchauffage) et l'indice moyen de gale commune en fonction des régies fertilisation pour chaque régie de précédents culturaux (PDT et R1) par région lorsque les blocs et les traitements de semences sont confondus

ANNEXE A

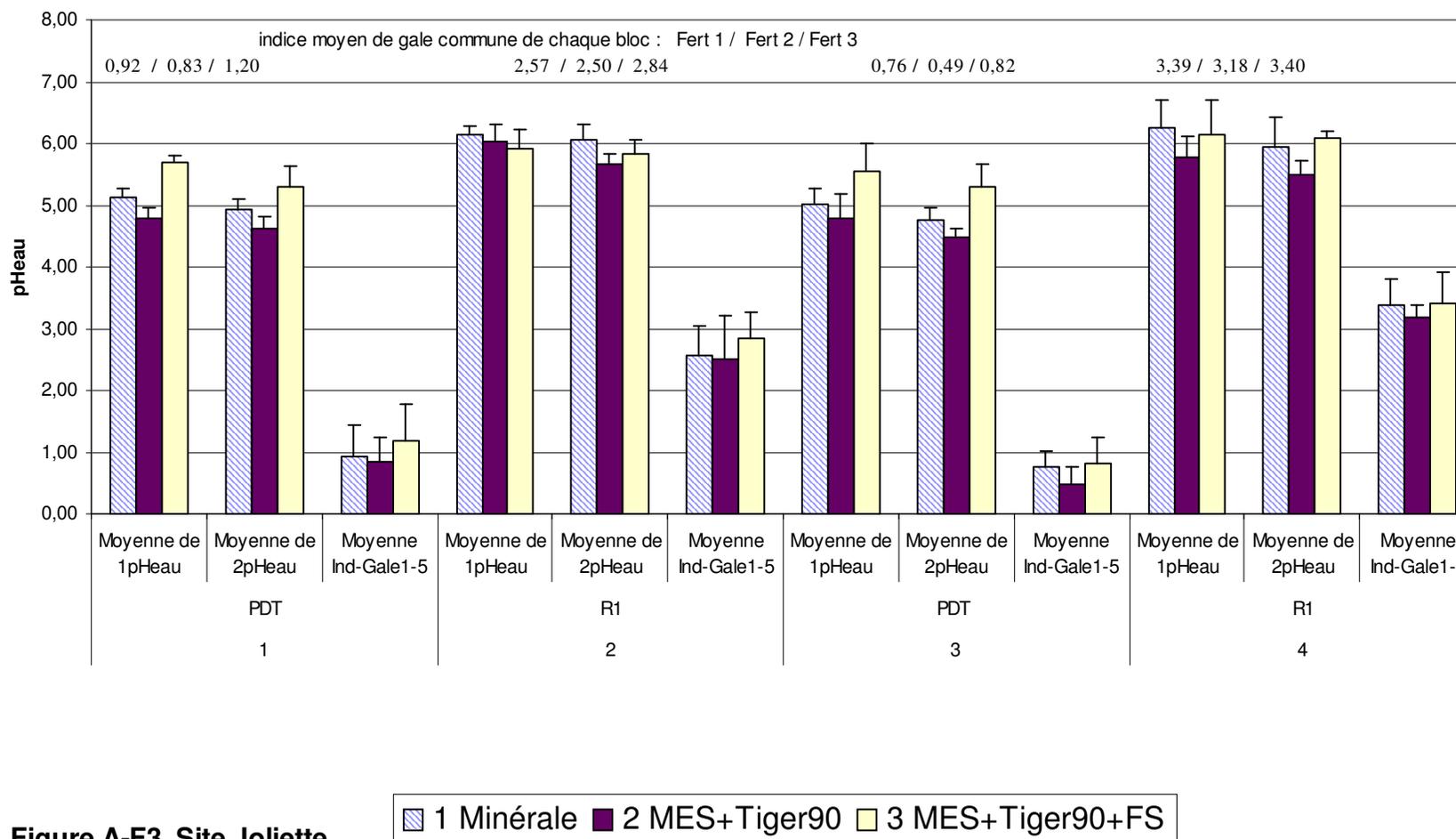


Figure A-F3 Site Joliette
Relation entre le pHeau moyen du sol à deux dates (3 et 6 semaines après renchaussage) et l'indice moyen de gale commune en fonction des régies fertilisation pour chaque bloc de précédents culturaux (PDT et R1) au site Joliette lorsque les traitements de semences sont confondus

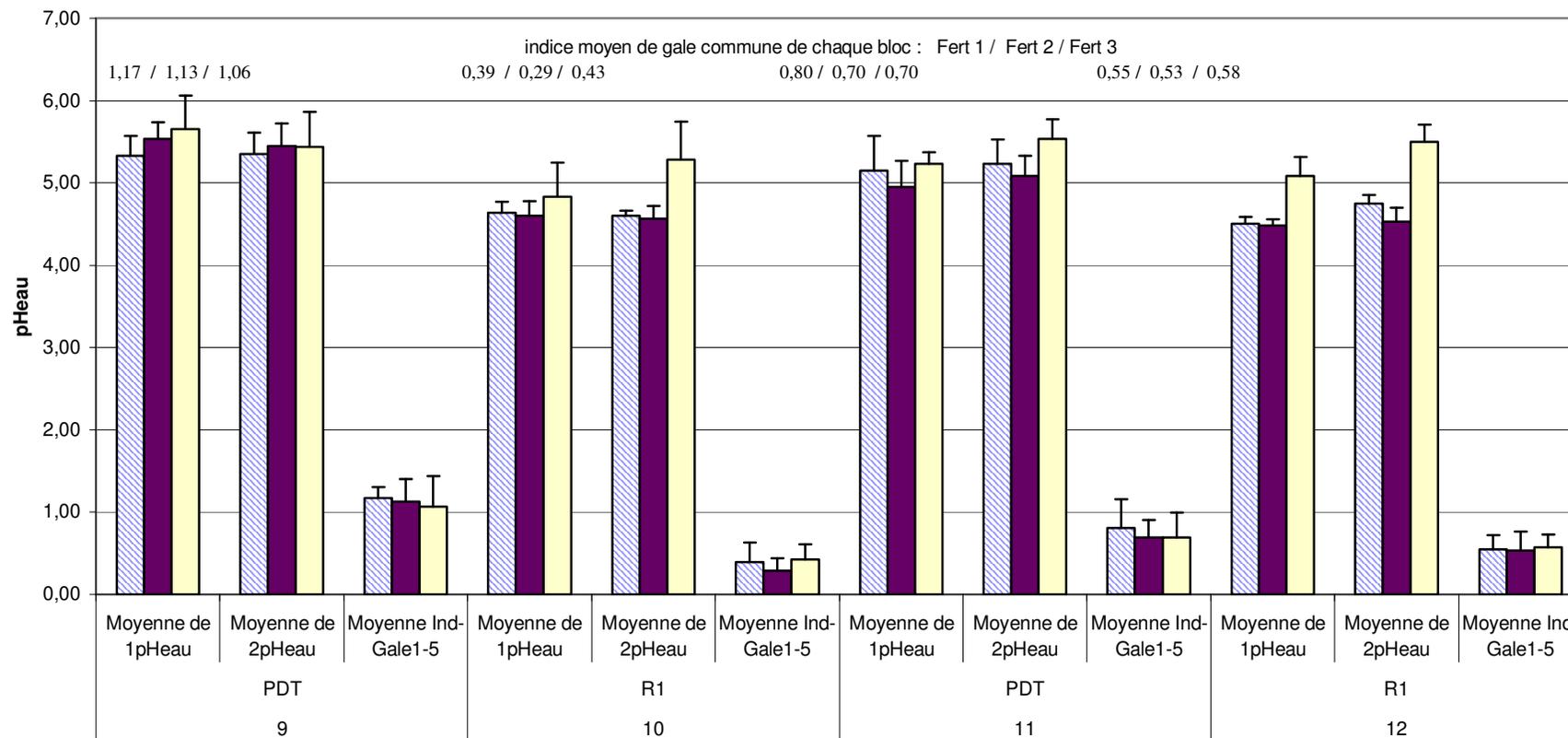


Figure A - F 5 Site Lejeune

1 Minérale 2 MES+Tiger90 3 MES+Tiger90+FS

Relation entre le pHeau moyen du sol à deux dates (3 et 6 semaines après renchaussage) et l'indice moyen de gale commune en fonction des régies fertilisation pour chaque bloc de précédents culturaux (PDT et R1) par région lorsque les traitements de semences sont confondus

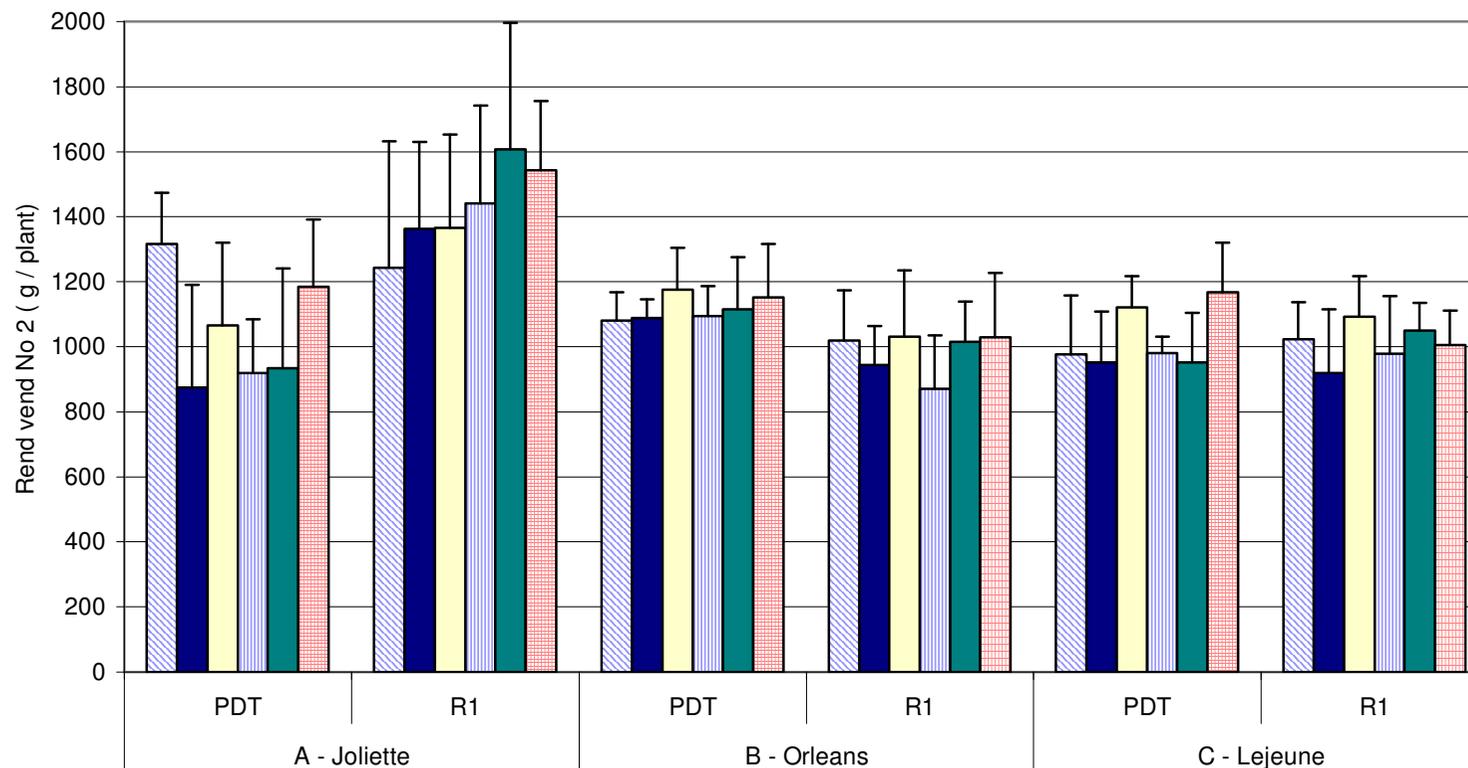
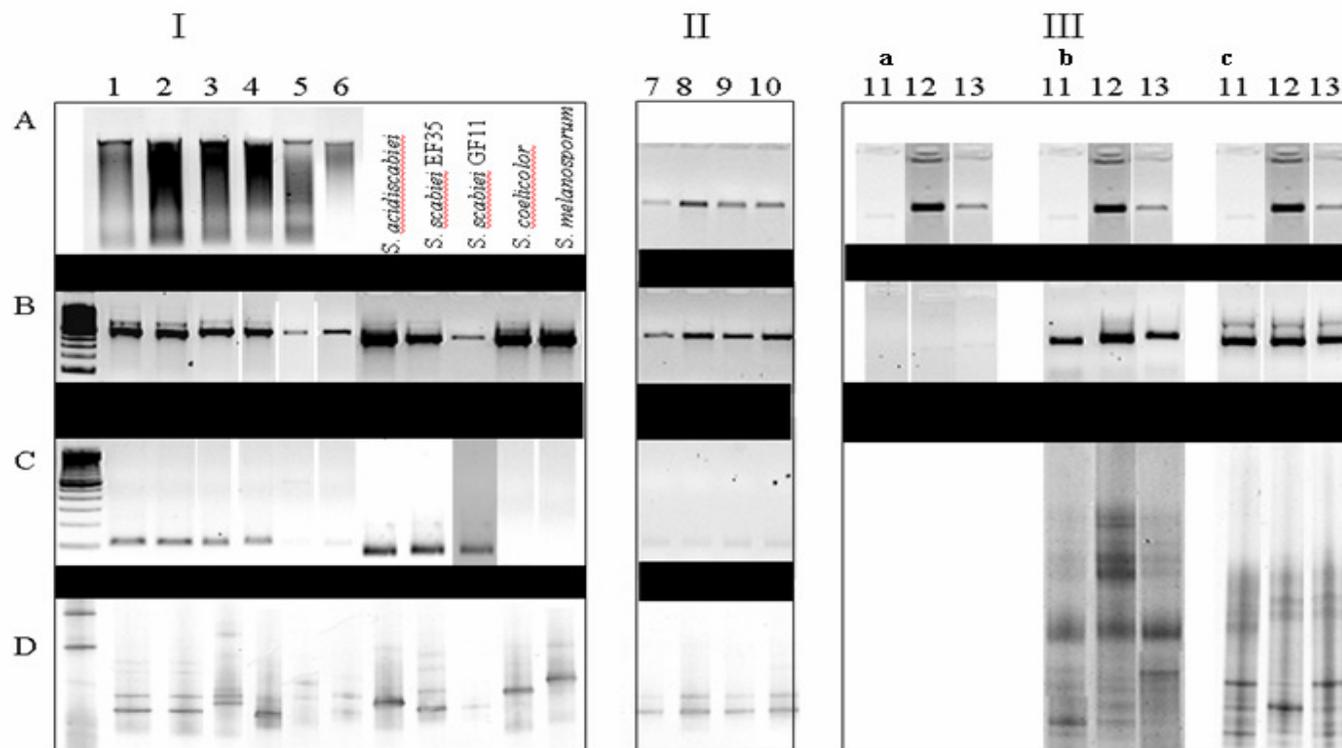


Figure A - F 6 Évaluation du rendement vendable No 2

AgriclayA6 - F-1
 AgriclayA6 - F-2
 AgriclayA6 - F-3
 Eau - F-1
 Eau - F-2
 Eau - F-3

Évaluation des impacts des combinaisons du traitement de semence et des trois régies de fertilisation sur le rendement vendable No 2 (g / plant) en fonction des précédents culturaux conventionnels (PDT) ou non-conventionnels (R1) de chaque région lorsque les blocs sont confondus en 2008.

Le traitement de semence est appliqué à la plantation sur des tubercules soumis à la fertilisation minérale (F-1), MES+Tiger90 (F-2) ou MES+Tiger90+FS (F-3). Le rendement vendable No 2 regroupe tous les tubercules de 1/2 po et plus.



ANNEXE A

Figure A – F 7. Sections A-I , A-II et A-IIIa Analyses sur gel d'agarose 0,8% des ADN génomiques extraits des souches de *Streptomyces* de références, ou des pelures portant des lésions superficielles (1, 2), à pustules (3, 4), des lésions de gale poudreuse (5) ou de pelure de tubercule sain récolté dans une parcelle du bloc # 2 du site Joliette (6), ou de sols de tuberculosphère (7 à 10) ou de sols de billons de parcelles du bloc #2 pour lesquelles les tubercules ont un indice de 2,34 (11 à 13). Sections B-I, B-II et B-III Analyse sur gel agarose 1,6% des produits d'amplification du système PCR ciblant les *Streptomyces* totaux. Des bandes intenses sont détectées dans tous les échantillons tel qu'attendu mais seules de très faibles bandes sont détectées dans les sols de billons (11 à 13). Sections C-I, C-II Analyse sur gel d'agarose 2,0% des produits d'amplification du système PCR ciblant la thaxtomin et spécifique aux *Streptomyces* pathogènes. Les bandes ne sont pas détectées dans les extraits d'ADN des *Streptomyces* non-pathogènes *S. coelicolor* et *S. melanosporofaciens* et dans les ADN extraits de lésions de gale poudreuse (5). De très faibles bandes sont détectées dans les extraits (6) et (7 à 10). Sections D-I, Analyse sur gel DGGE des profils des produits amplifiés par le système PCR spécifique aux *Streptomyces* totaux pour établir correspondance entre les échantillons des espèces de *Streptomyces* de référence et les profils obtenus des ADN extraits des pelures et (D-II) des sols de tuberculosphère de tubercules infestés. Section D-IIIb Analyse DGGE des produits d'amplification PCR spécifique aux Actinomycètes totaux. Section D-IIIc Analyse DGGE des produits de la PCR nichée qui amplifie d'abord les *Streptomyces* totaux puis en 2^e PCR les Actinomycètes totaux.

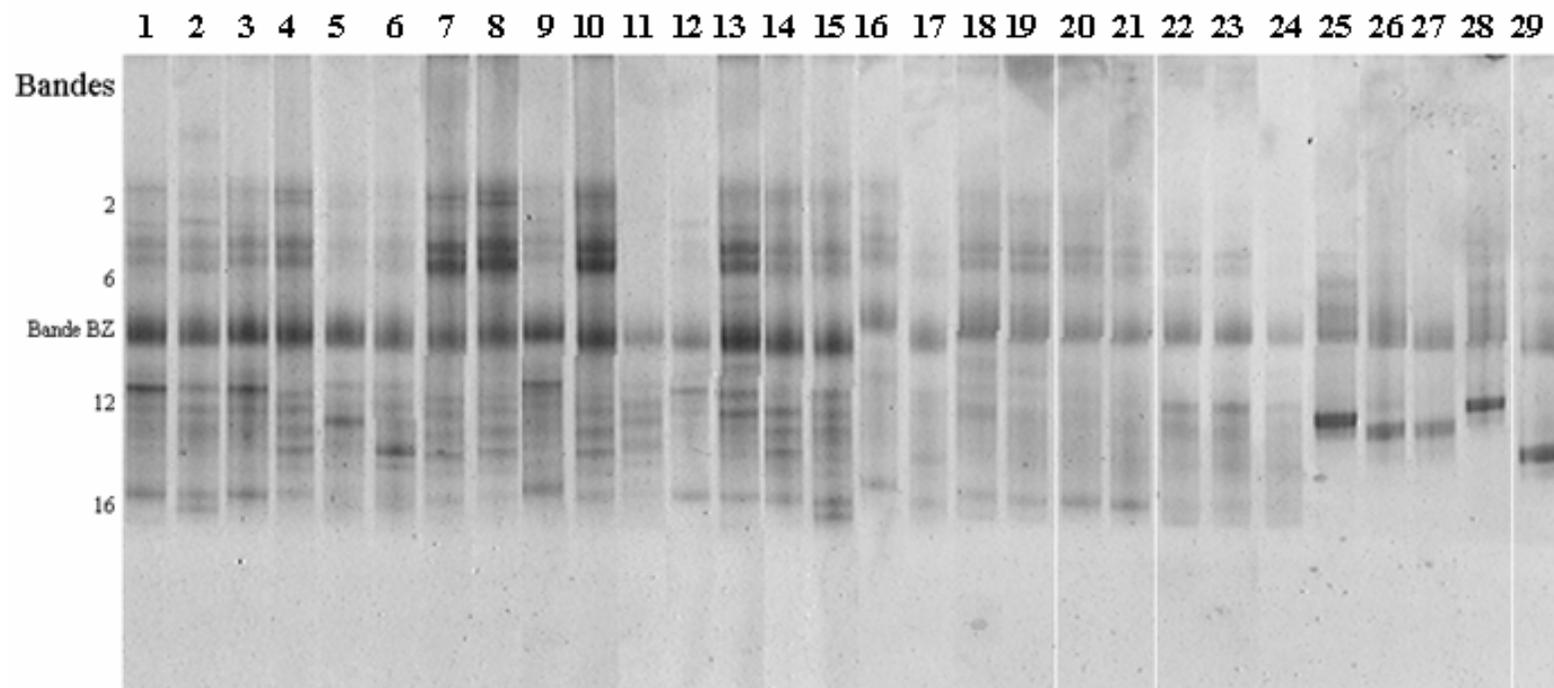


Figure A – F 8. Analyse PCR-DGGE de 24 échantillons d’ADN totaux extraits de sols de parcelles pour lesquelles les tubercules ont un indice moyen de gale commune qui varie de 0,20 (1) à 3,50 (24). Les 24 premiers profils DGGE sont triés selon une gamme croissante d’indice moyen de gale, les profils 3, 6, 12, 15 et 20 ont respectivement un indice de gale de 0,14, 0,25, 0,58, 0,74 et 1,34. Les puits 25 à 29 représentent les profils DGGE de références pour *S. acidiscabiei* (25), *S. scabiei* EF-35 (26), *S. scabiei* GF-11 (27), *S. coelicolor* (28) et *S. melanosporofaciens* (29). Les numéros inscrits à la gauche du gel réfèrent au numéro des bandes des profils schématisés aux figures A – F 9 à F11. Le profil DGGE typique complet regroupe un maximum de 17 bandes reproductibles. La bande BZ correspondant à la bande numéro 7 des profils schématisés aux figures A – F 9 à F 11. Elle s’est révélée en fait un artéfact généré lors de l’analyse DGGE.

ANNEXE A Légende des figures A-F9 à A-F11.

Schéma des profils PCR-DGGE des 17 bandes reproductibles obtenues par l'amplification des ADN totaux extraits de sols prélevés à la récolte dans des parcelles pour lesquelles les tubercules avaient un indice moyen de gale qui variait de 0,20 à 3,50.

Le système PCR emploie les amorces F243 / R513 pour amplifier les Actinomycètes totaux. Le sens de lecture d'un profil d'un échantillon de sol est de gauche à droite et regroupe au plus 17 bandes reproductibles. Des bandes DGGE sont associées aux Streptomycètes non-pathogènes *S. coelicolor* (9) et *S. melanosporofaciens* (14), aux pathogènes *S. acidiscabiei* (10), *S. scabiei* (11), alors que les bandes 1 à 6 sont associées aux Actinomycètes totaux. L'intensité avec laquelle une bande DGGE a été détectée dans un profil est reproduite selon l'échelle d'intensité localisée au bas du tableau et qui comprend 6 niveaux d'intensité.

Figure A – F 9. Le schéma présente 30 profils parmi les 64 profils DGGE étudiés et les profils ont été triés en fonction d'un gradient croissant de l'indice de gale commune des tubercules récoltés dans les parcelles. Les lettres et les cases ombragées, sous le terme «Zones», désignent 6 zones qui correspondent à différents écarts d'indice de gale commune ; A (0,00 à 0,15), B (0,15 à 0,25), C (0,25 à 0,56), D (0,56 à 0,95), E (0,95 à 1,75) et F (1,75 à 3,5). Lorsque les zones E et F sont comparées aux zones A et B, l'on observe une réduction du nombre de bandes DGGE et de la diversité de leur localisation.

Figure A – F 10. Le schéma présente 24 profils parmi les 64 profils DGGE étudiés et les profils ont été triés en fonction des régions et des blocs de précédents culturels. Les lettres et les cases ombragées, sous le terme «Zones», désignent les régions et les numéros de blocs qui correspondent à différents précédents culturels (voir le Tableau 5). À titre d'exemple d'interprétation, la bande DGGE 12, associée aux *S. scabiei*, est détectée dans 21 des 24 profils, alors que les bandes 1 à 6 associées aux Actinomycètes totaux sont quasi absentes des sols des blocs 1 -3 mais très présentes dans les blocs 10 - 12.

Figure A – F 11. Le schéma présente 24 profils parmi les 64 profils DGGE étudiés et les profils ont été triés en fonction des trois régies de fertilisations. Les lettres et les cases ombragées, sous le terme «Zones», désignent les régies de fertilisation Fert – 1 (minérale), Fert-2 (MES+Tiger90) et Fert -3 (MES+Tiger90+FS). Les précédents culturels conventionnels (PDT) et non-conventionnels (R1) correspondent à différents précédents culturels (voir le Tableau 5). À titre d'exemple d'interprétation, les bandes 1 à 6 associées aux Actinomycètes totaux sont peu fréquentes et faiblement détectées dans les sols sous régies Fert -1 peu importe le précédent, mais elles sont fréquentes et intenses dans les sols sous régies Fert-2 des précédents R1.

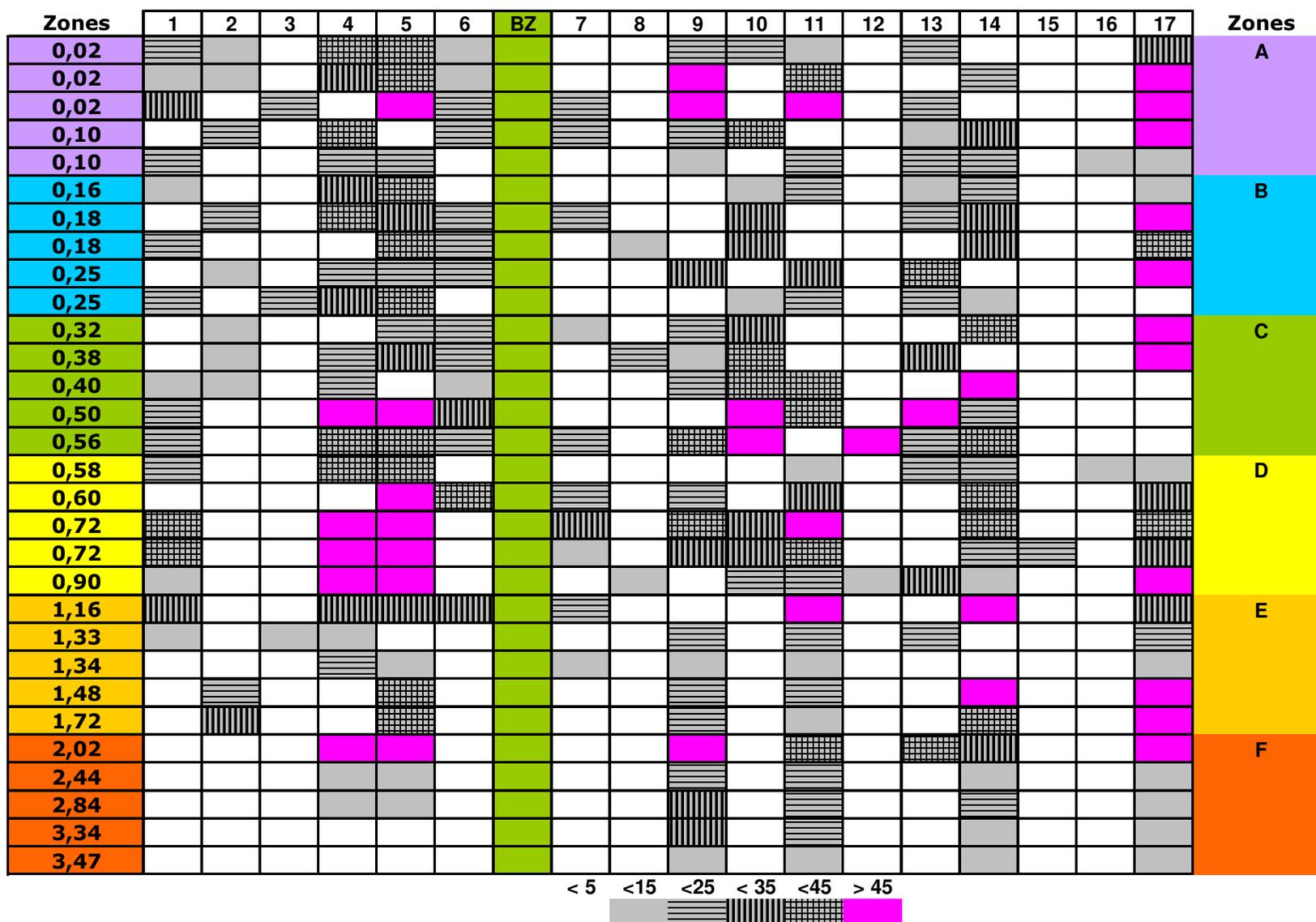


Figure A – F 9. Le schéma présente 30 profils parmi les 64 profils DGGE étudiés et les profils ont été triés en fonction d'un gradient croissant de l'indice de gale commune des tubercules récoltés dans les parcelles.

PSIH08-2-928 Rapport final

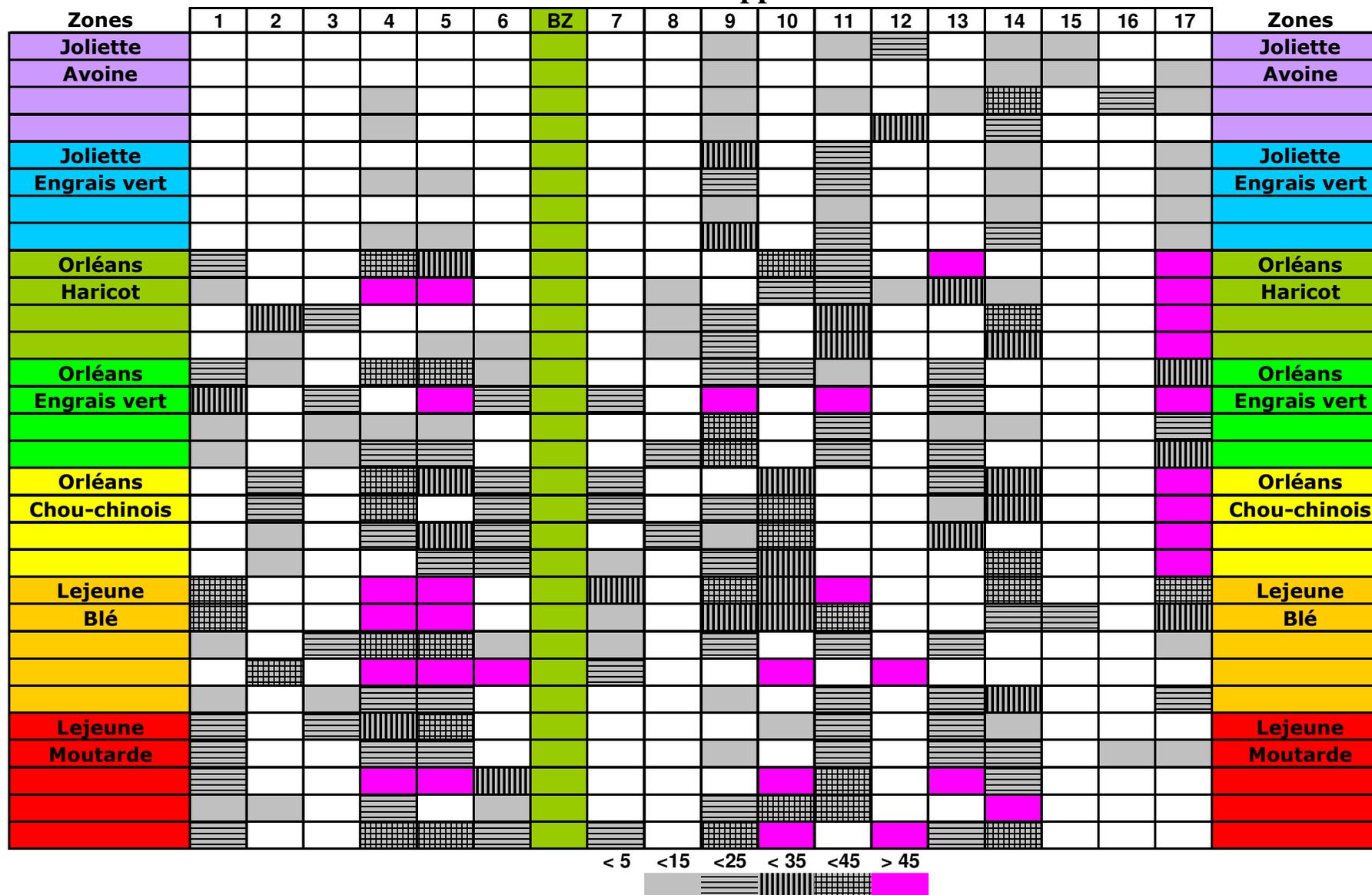


Figure A – F 10. Le schéma présente 30 profils parmi les 64 profils DGGE étudiés et les profils ont été triés en fonction des régions et des blocs de précédents culturaux.

PSIH08-2-928 Rapport final

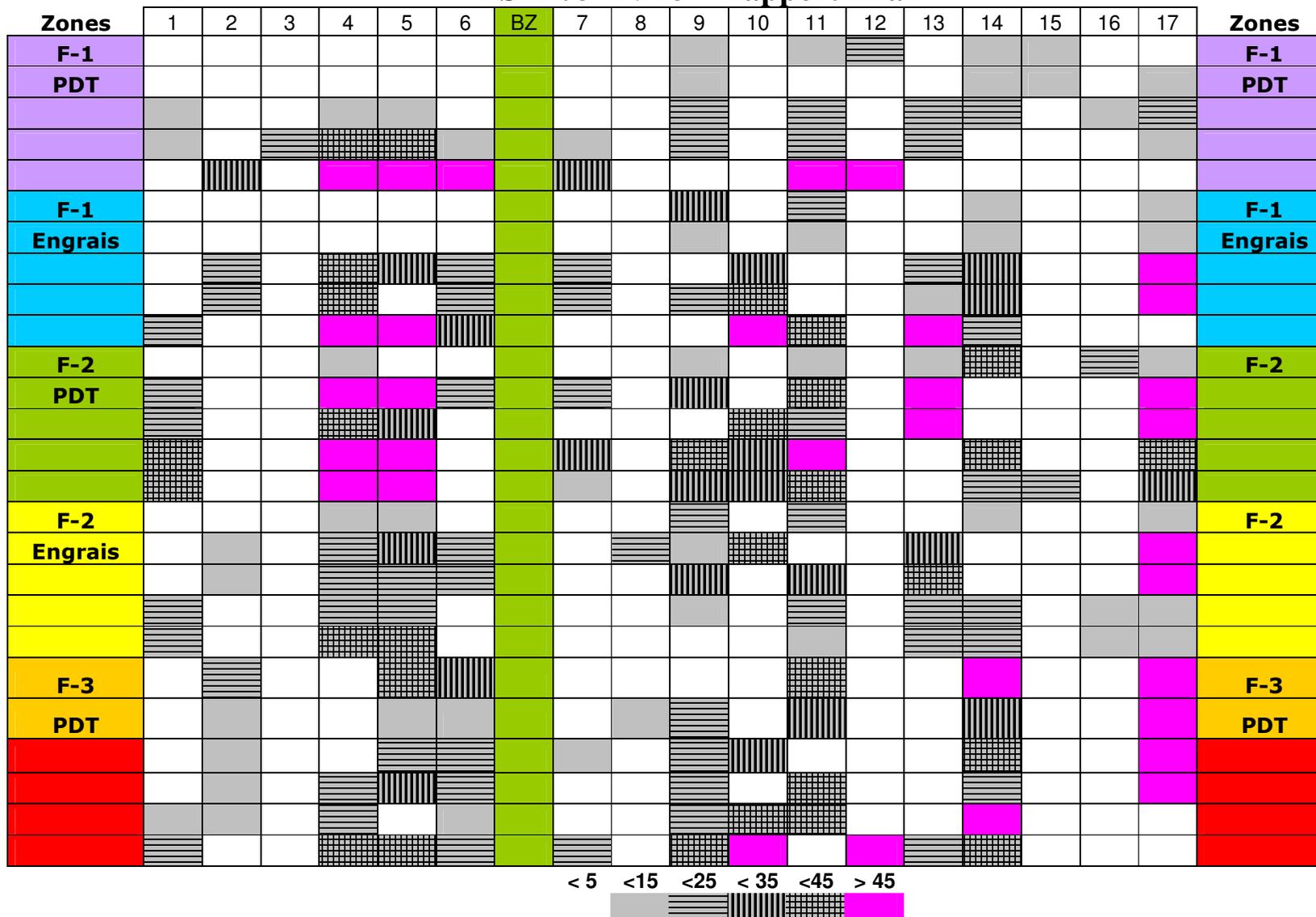


Figure A – F 11. Le schéma présente 30 profils parmi les 64 profils DGGE étudiés et les profils ont été triés en fonction des trois régies de fertilisation (F-1, F-2, F-3) et des précédents culturaux conventionnels (PDT) ou non-conventionnels (Engrais).