#### Diagnostic moléculaire et distribution des champignons responsables de la pourriture du fruit de la canneberge dans l'est du Canada







#### **Matteo Conti**

Benjamin Cinget

Richard R. Bélanger

Université Laval

Journée INPACQ Victoriaville 28.01.2020









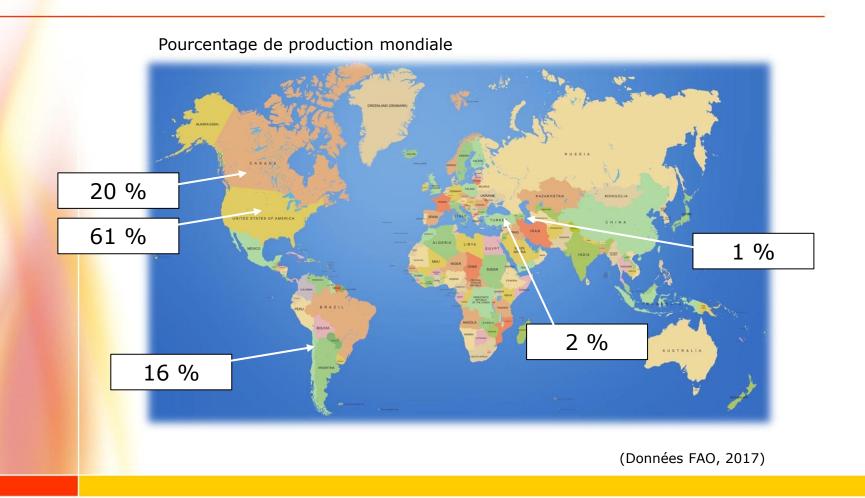








## Pourquoi on s'intéresse à la canneberge





#### La pourriture du fruit de la canneberge

• Pertes dues à la PFC → 25 - 33% de la production (Oudemans *et al.*, 1998)(Wells-Hansen et McManus, 2017)





#### PFC: complexe de 12 champignons



















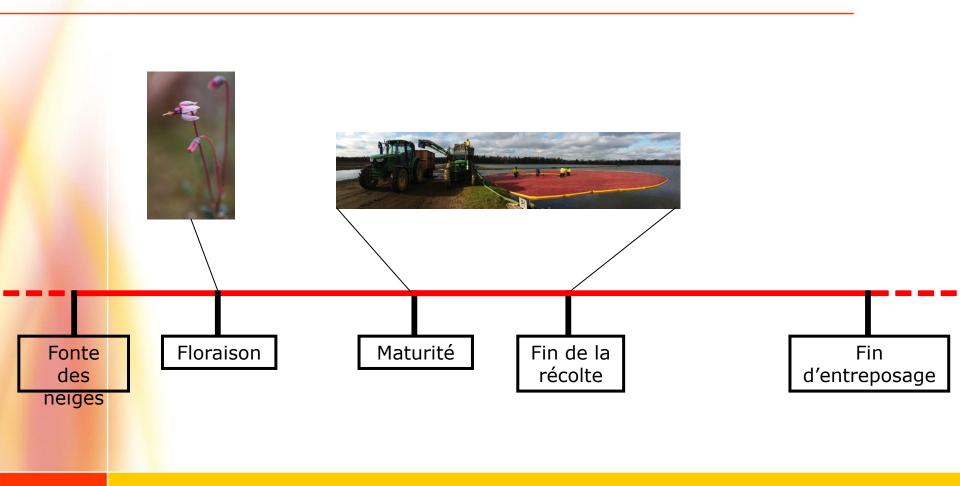






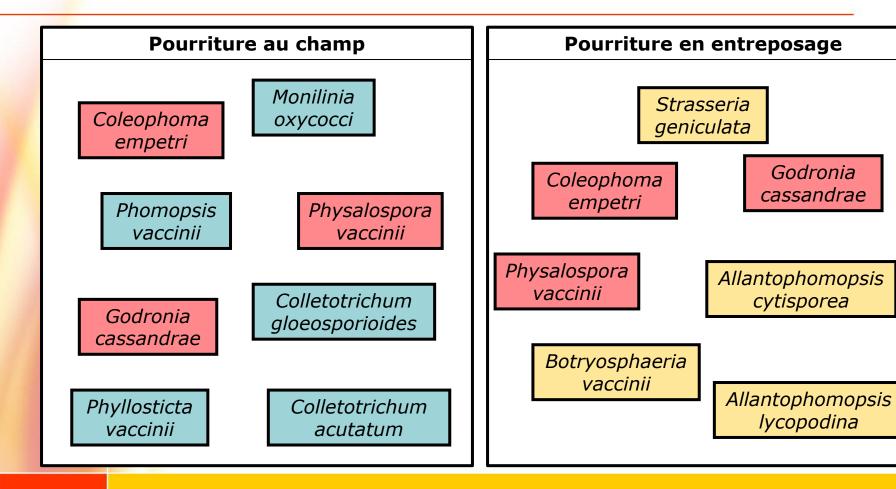


## La culture de la canneberge



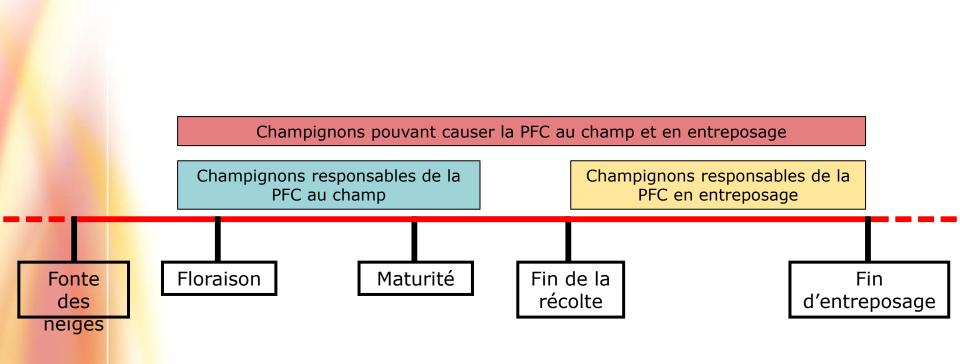


#### Les champignons responsables



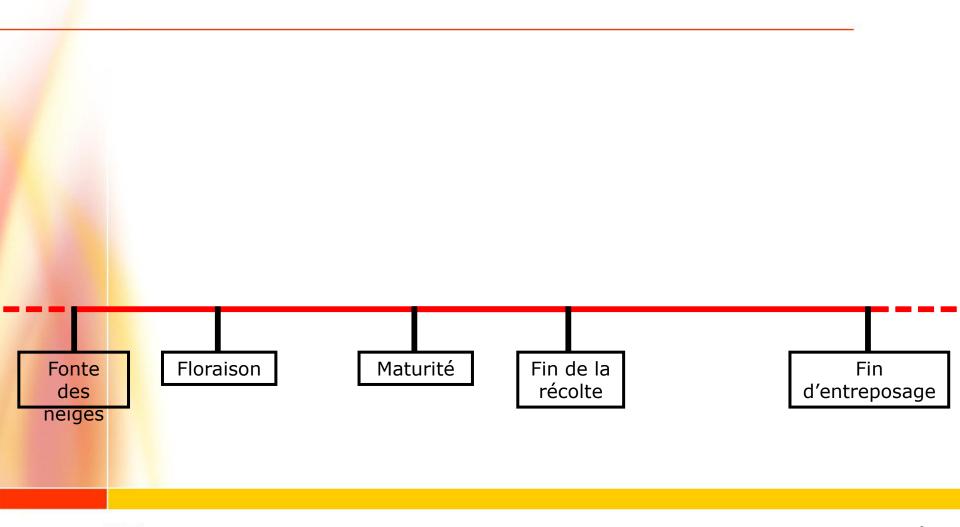


#### Les champignons responsables

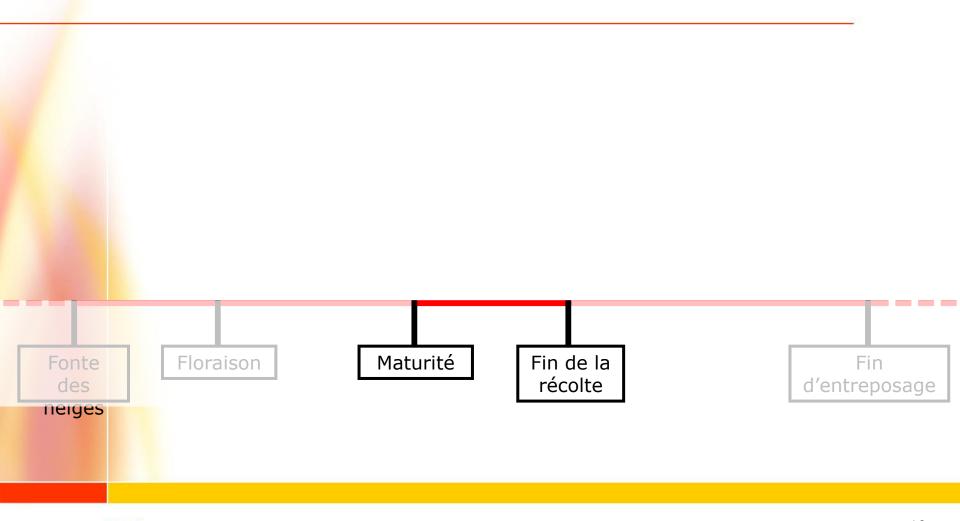




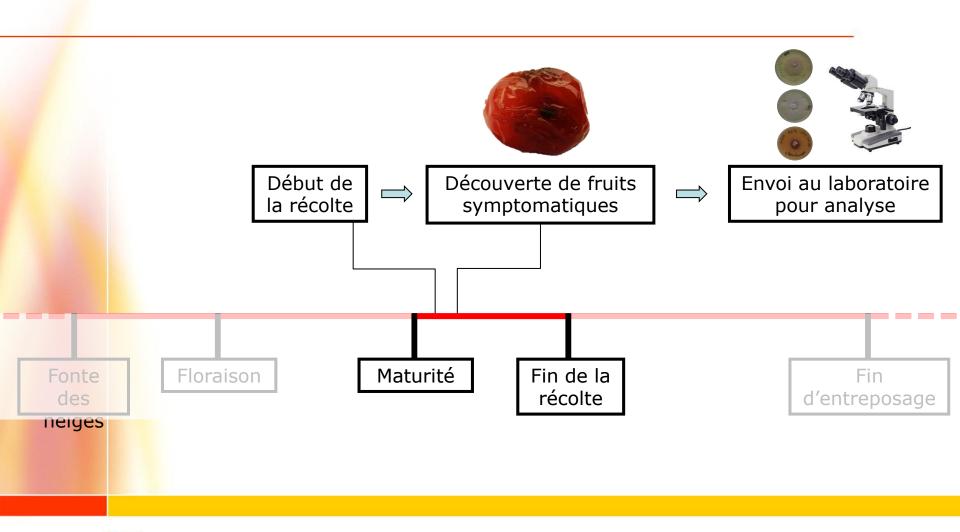




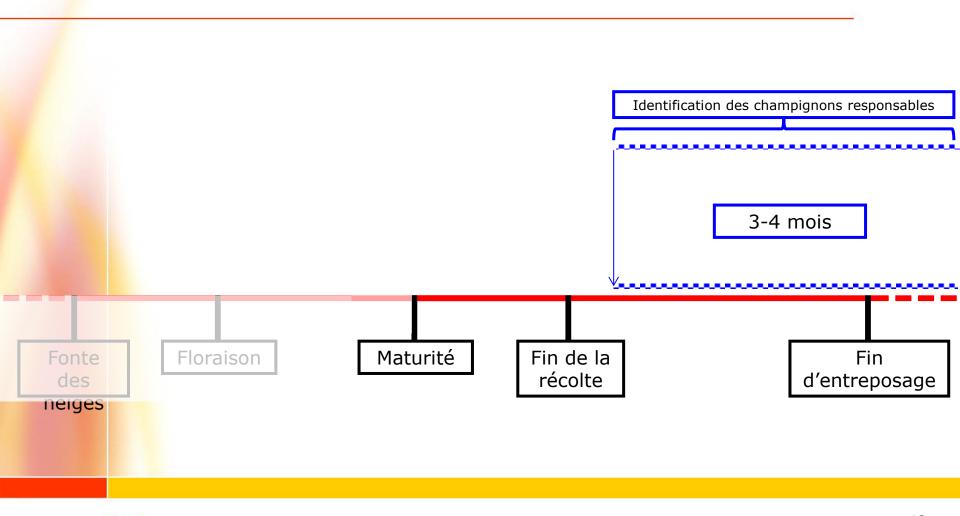






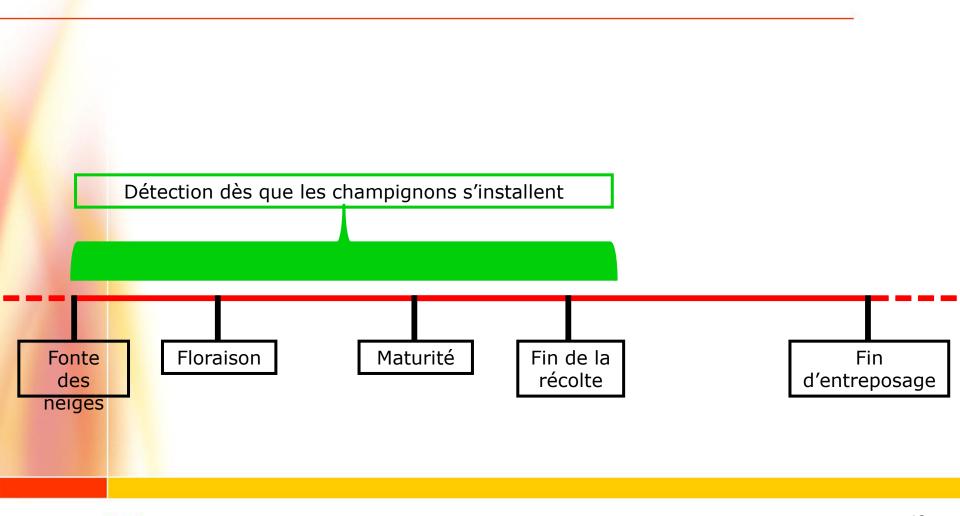








## Après 2019: notre outil révolutionnaire!



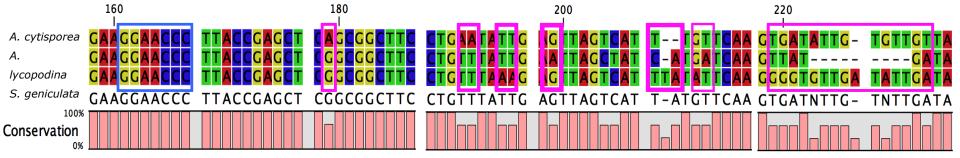


#### Notre outil révolutionnaire!



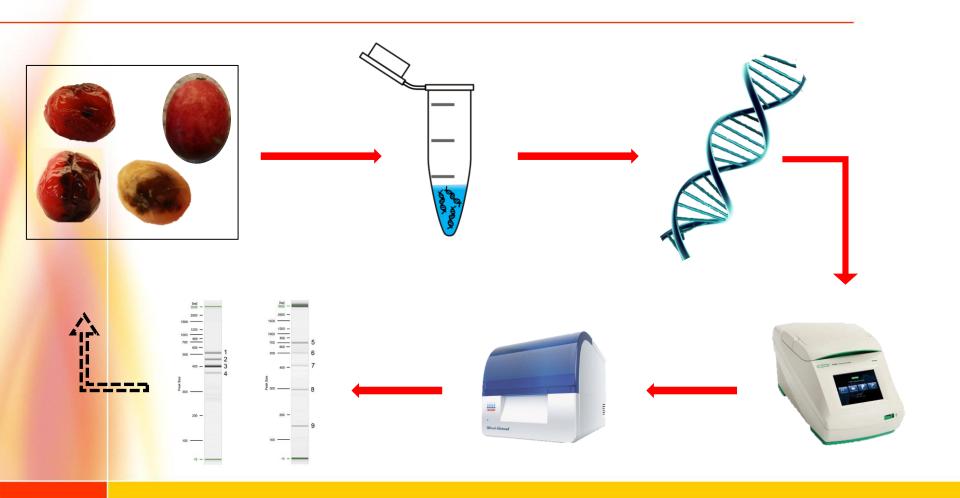


#### Pourquoi l'ADN?



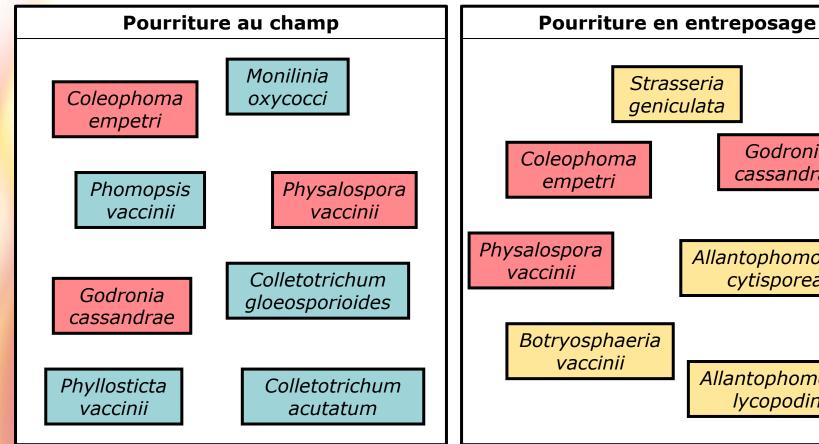


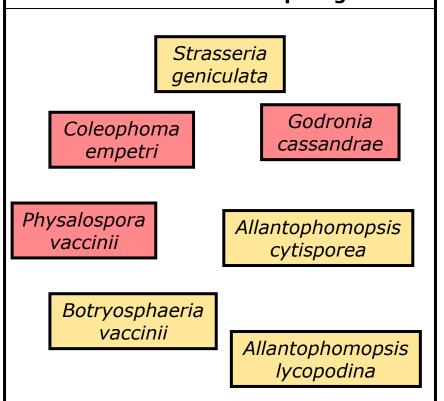
#### Notre outil en détail





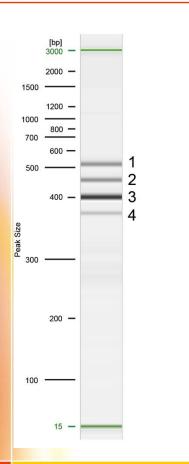
#### Notre outil en détail

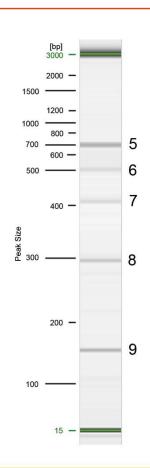






#### Notre outil en détail



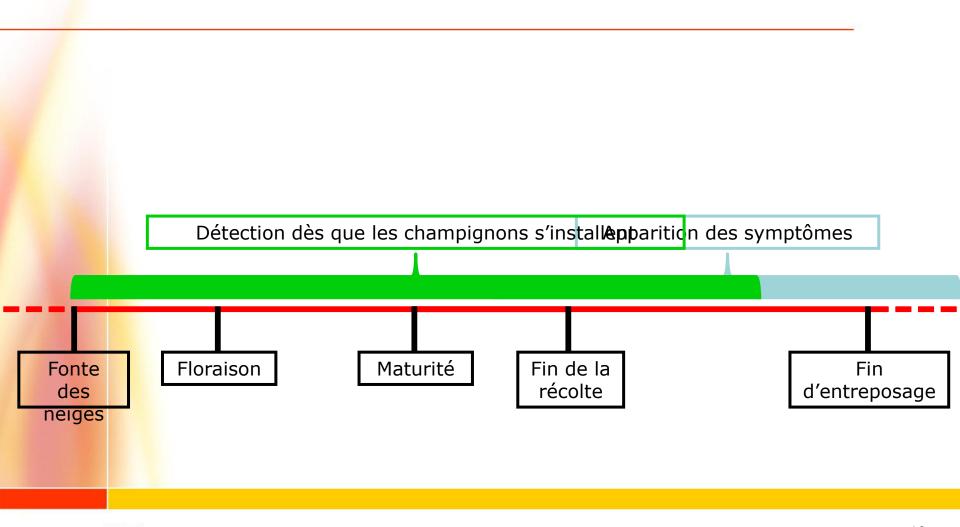


#### Chaque bande correspond à une typologie différente de pourriture

- 1 Pourriture précoce
- 2 Pourriture cotonneuse
- 3 Pourriture noire
- 4 Pourriture visqueuse
- 5 Pourriture blanche
- 6 Pourriture terminale
- 7 Pourriture tachetée
- 8 Pourriture à petites taches
- 9 Pourriture molle

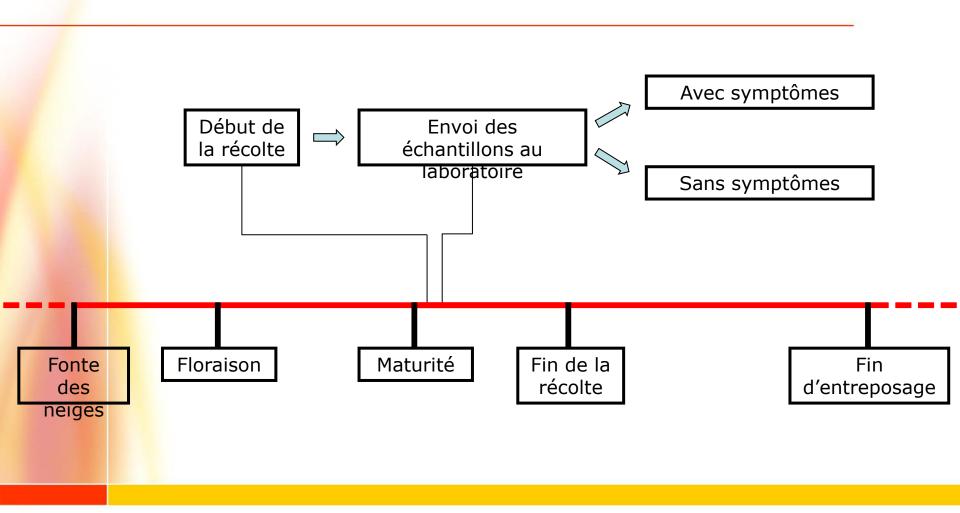


#### Pourquoi notre outil est révolutionnaire?



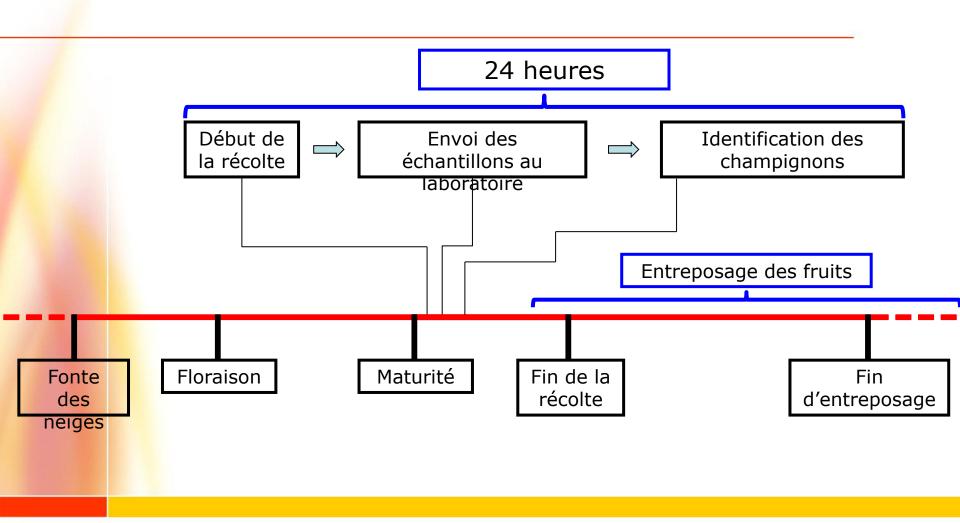


#### Le diagnostic avec l'outil moléculaire



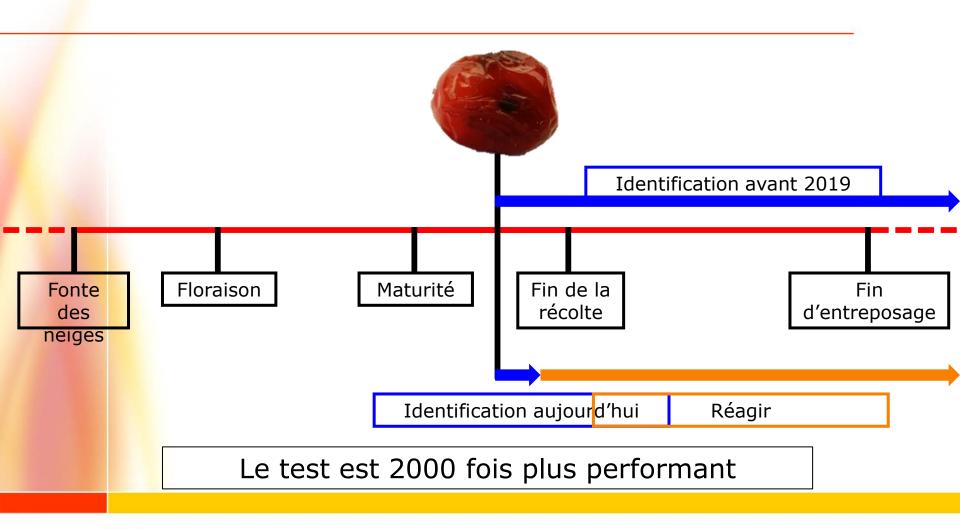


#### Le diagnostic avec l'outil moléculaire





#### Comparaison des deux méthodes

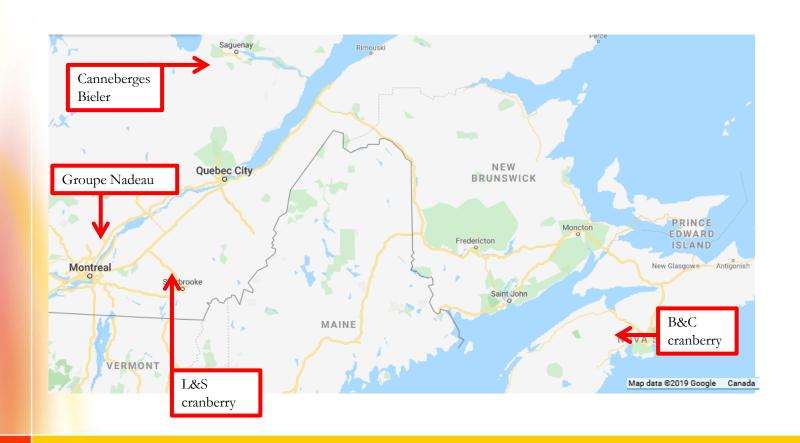




## Concrètement

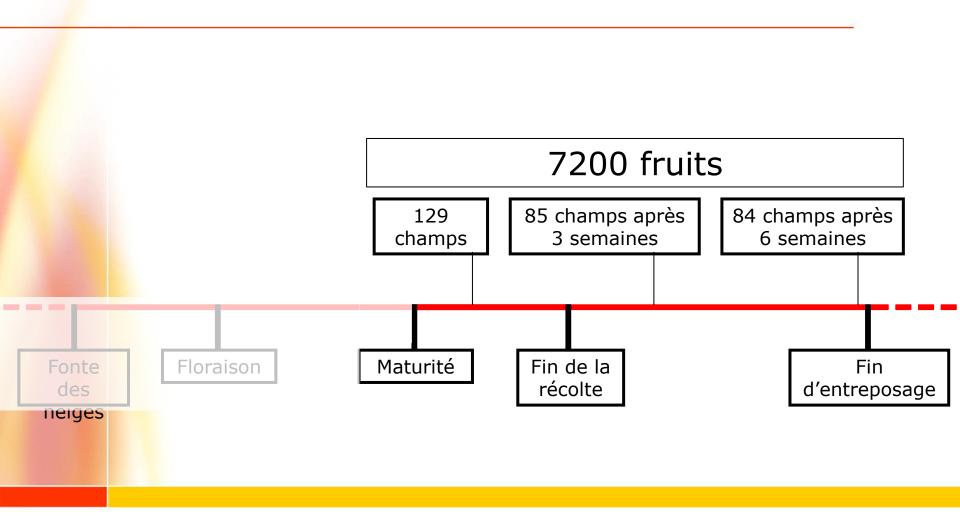


#### Analyse des fruits de 2018

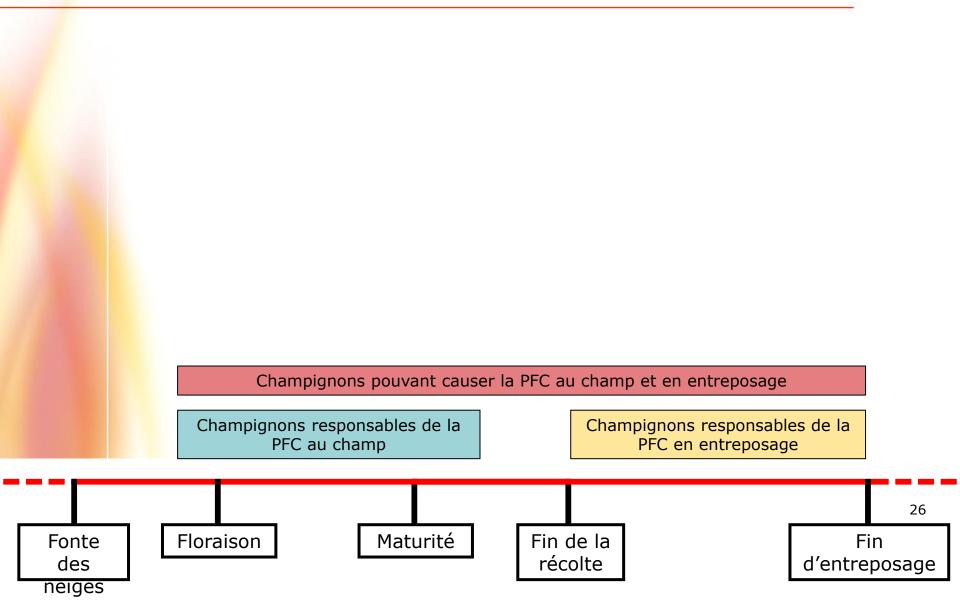




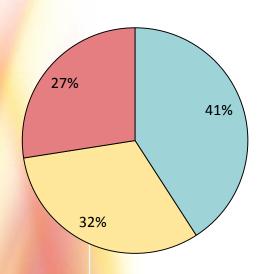
#### Analyse des fruits de 2018







#### Au champ



Champignons pouvant causer la PFC au champ et en entreposage

Champignons responsables de la PFC au champ

Champignons responsables de la PFC en entreposage

#### Au champ

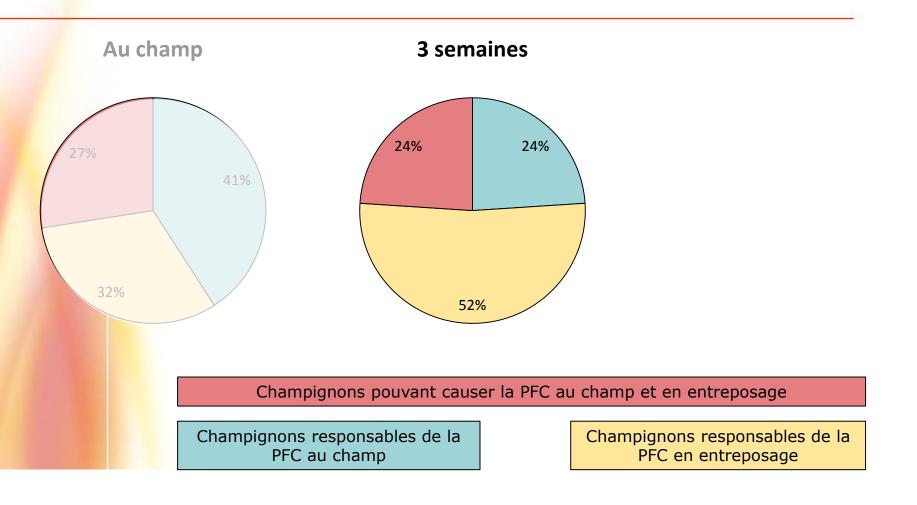


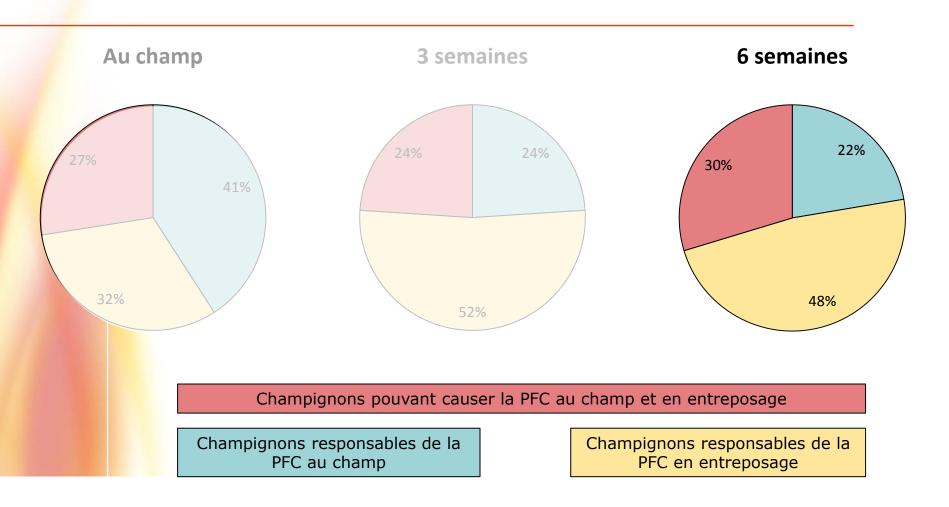
Plus de 32% sont des champignons causant la PFC en entreposage

Champignons pouvant causer la PFC au champ et en entreposage

Champignons responsables de la PFC au champ

Champignons responsables de la PFC en entreposage





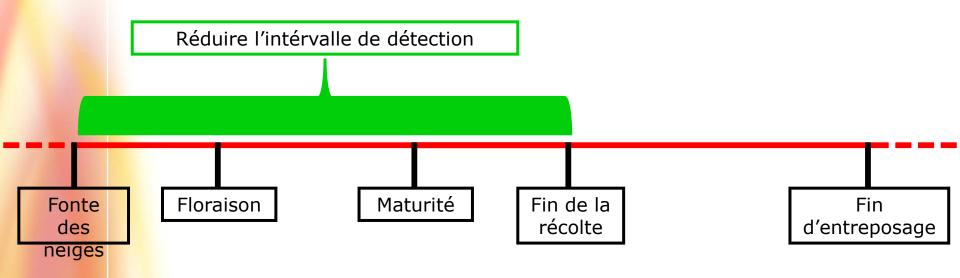
#### Un processus d'amélioration continu

- 1. Perfectionnement de l'échantillonnage
  - Moments et parties végétales
- 2. L'échantillonnage 2019
- 3. La pourriture noire
- 4. La piste de *Cadophora* sp.



#### 1. Perfectionnement de l'échantillonnage

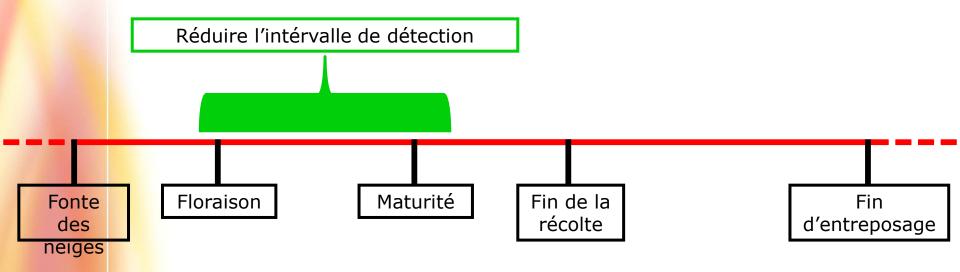
- 1. Analyses à tous les stades phénologiques
- 2. Amélioration de l'outil en fonction de vos besoins!





#### 1. Perfectionnement de l'échantillonnage

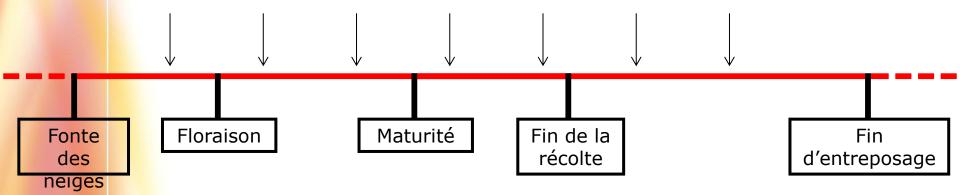
- 1. Analyses à tous les stades phénologiques
- 2. Amélioration de l'outil en fonction de vos besoins!





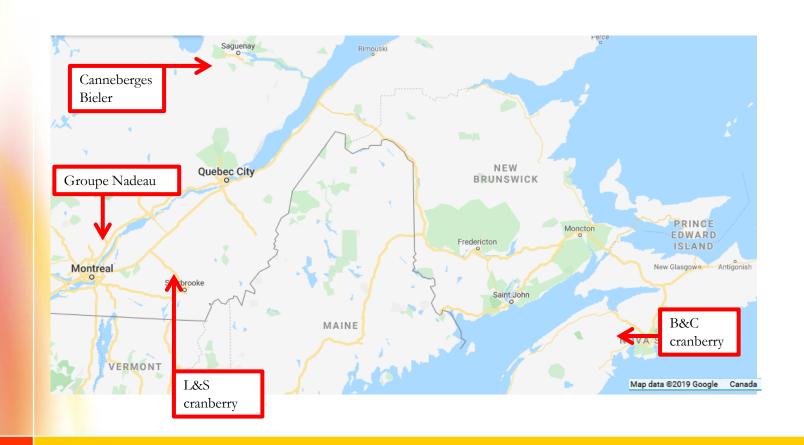
## 2. Échantillonnage 2019

- 1. Déterminer la présence des champignons pathogènes au champ et en entreposage, en utilisant le test de diagnostic moléculaire
- 1. Corréler les analyses des différents sites pour déterminer la variation de la présence des champignons en fonction de la ferme échantillonnée





# 2. Échantillonnage 2019





# 2. Échantillonnage 2019









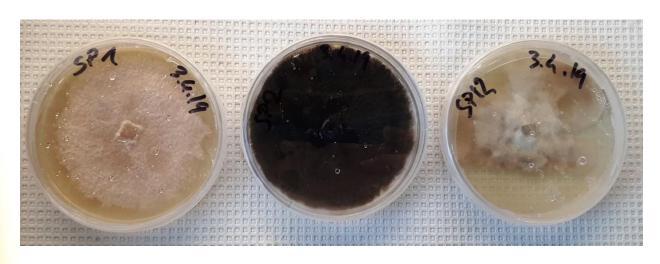






# 3. La pourriture noire

• Trois champignons responsables



Allantophomopsis cytisporea

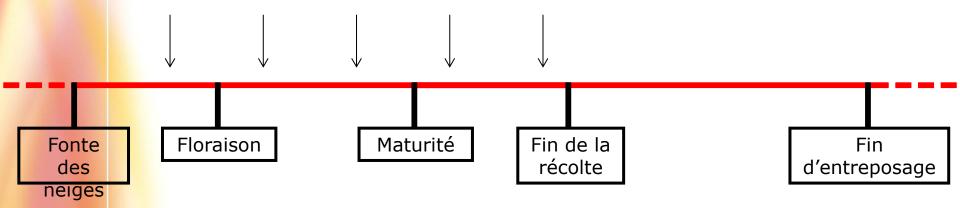
Allantophomopsis lycopodina

Strasseria geniculata



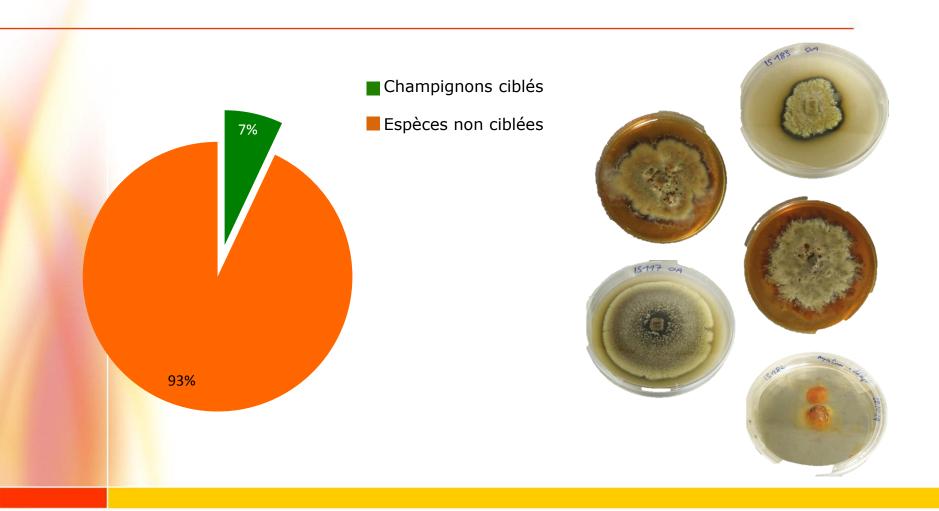
## 3. La pourriture noire

- Pas de symptômes au champ
- Deux semaines après l'entreposage, jusqu'à 90% des fruits peuvent être perdus
- Très problématique aux États-Unis et en Nouvelle-Écosse
  - En rapide croissance au Québec



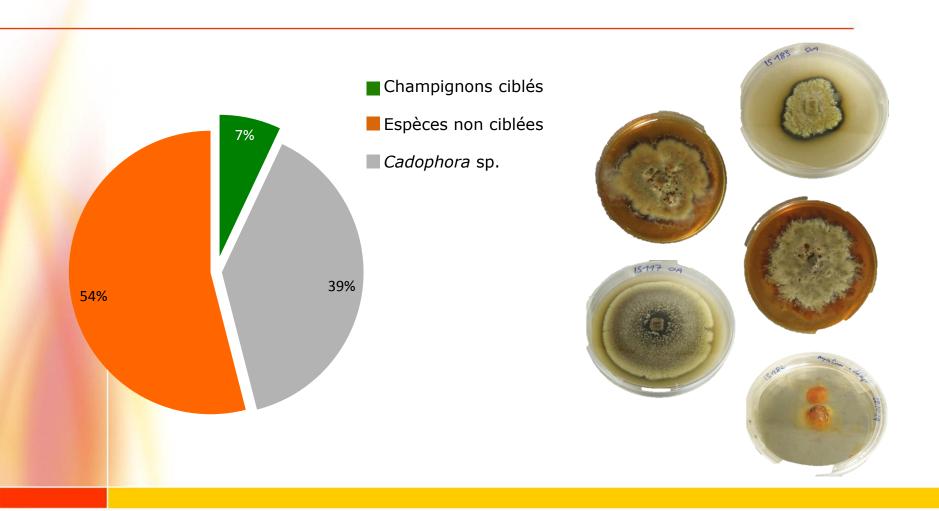


# 4. La piste de Cadophora sp.





# 4. La piste de Cadophora sp.





# A Molecular Assay Allows the Simultaneous Detection of 12 Fungi Causing Fruit Rot in Cranberry

Matteo Conti<sup>1</sup>, Benjamin Cinget<sup>1</sup>, Julien Vivancos<sup>2</sup>, Peter Oudemans<sup>3</sup>, Richard R. Bélanger<sup>1,†</sup>

- <sup>1</sup> Centre de Recherche en Innovation des Végétaux, Université Laval, Quebec City, Québec, Canada
- <sup>2</sup> Laboratoire d'expertise et de Diagnostic en Phytoprotection, Quebec City, Québec, Canada
- <sup>3</sup> Philip E. Marucci Center for Blueberry and Cranberry Research and Extension, The State University of New Jersey, Chatsworth, NJ, U.S.A.

#### Abstract

Cranberry fruit rot (CFR) is arguably one of the most limiting factors of cranberry (Vaccinium macrocarpon) production throughout its growing areas. The disease is caused by a group of closely related fungi that require identification using long and cumbersome steps of isolation and microscopic observations of structural features. The objective of this study was to develop a molecular assay to simultaneously detect and discriminate 12 of the most important fungal species reported to be pathogenic on cranberry fruit to facilitate the diagnosis of CFR. As the first approach, internal transcribed spacers and large subunit regions of all fungi were sequenced and confirmed with sequences available in the NCBI database. These data were used to develop primers able to differentiate seven of the 12 species. The five remaining species, including three in the Phacidiaceae family and two in the Glomerellaceae family, were

differentiated on the basis of a more discriminant marker, the translation elongation factor 1-α. Two PCR reactions were optimized to clearly delineate the 12 species. The multiplex test was first validated using pure fungal cultures; it was subsequently validated using fruit collected in cranberry beds in eastern Canada. In the latter case, the test was rigorous enough to clearly discriminate the fungal pathogens from contaminants. Within the tested samples, *Physalospora vaccinii* and *Coleophoma empetri* were most commonly found. This molecular test offers scientists, diagnosticians, and growers a powerful tool that can rapidly and precisely identify fungi causing CFR so they can implement appropriate control methods.

Keywords: fruit, multiplex PCR, pathogen detection



# L'outil est disponible!

- Le service a été transféré au *Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection*
- Il sera bientôt possible d'analyser vos échantillons



Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection Complexe scientifique 2700, rue Einstein, D.1.200h Québec (Québec) G1P 3W8

Tél.: 418 643-5027, poste 2700

Phytolab@mapaq.gouv.qc.ca



#### Remerciements





- Prof. Richard Bélanger
- Benjamin Cinget
- Caroline Labbé
- Yanick Asselin
- Sidonie Paredones











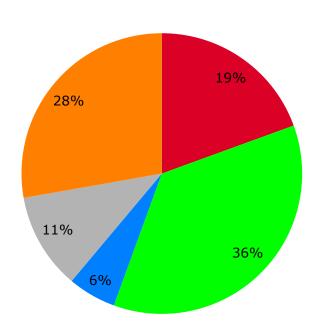






#### **Avec fongicides**

- Allantophomopsis cytisporea
- Coleophoma empetri
- Colletotrichum gloeosporioides
- Strasseria geniculata
- Cadophora sp.





#### Sans fongicides

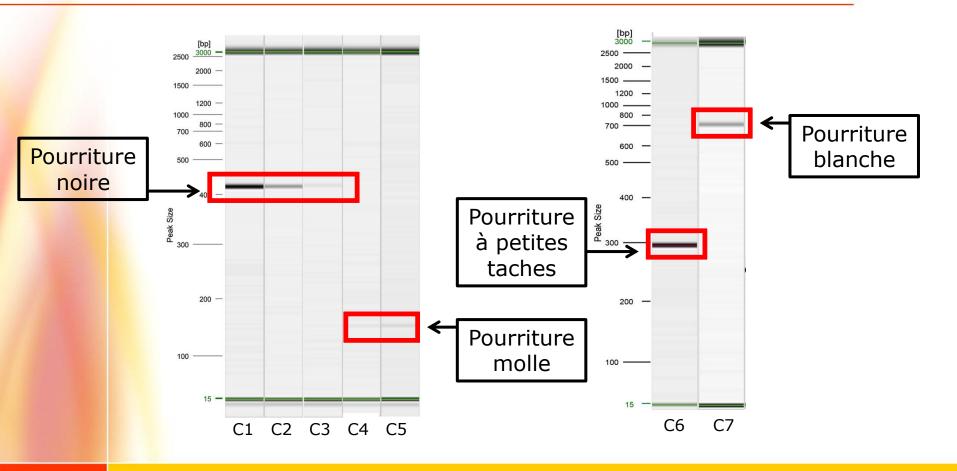
- Plus d'espèces
- Répartition homogène des responsables de la PFC au champ et en entreposage

#### **Avec fongicides**

- Moins d'espèces
- 66% sont responsables de la pourriture en entreposage
- Présence même s'il y a eu des traitements chimiques



### L'outil moléculaire appliqué



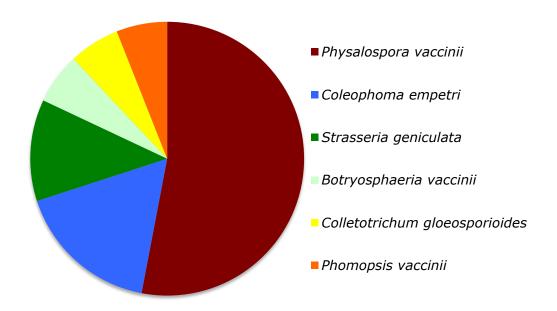


### 2017: 117 fruits analysés





### 2017: 117 fruits analysés

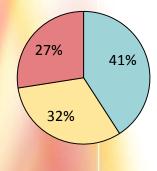


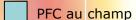
7% des champignons responsables de la PFC





- Plus de 32% de champignons sont responsables de la pourriture en entreposage
- Pas possible d'observer des symptômes à ce stade
- L'outil est efficace en détectant <u>d'avance</u> la maladie





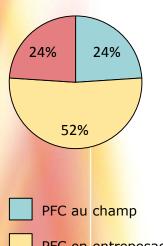
PFC en entreposage

PFC au champ et en entreposage





 L'outil se demontre correct en prevoyant le dévéloppement des maladies d'entreposage (plus de 52%)



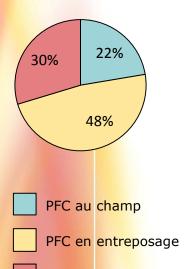
PFC en entreposage

PFC au champ et en entreposage



#### • Après 6 semaines:

 Plus de la moitié des fruits sont encore affectés pasr des champignons causant la PFC en entreposage



PFC au champ et en entreposage

