

Caractérisation et développement d'outils de lutte biologique contre les principales souches de *Streptomyces* spp. causant la gale commune au Québec

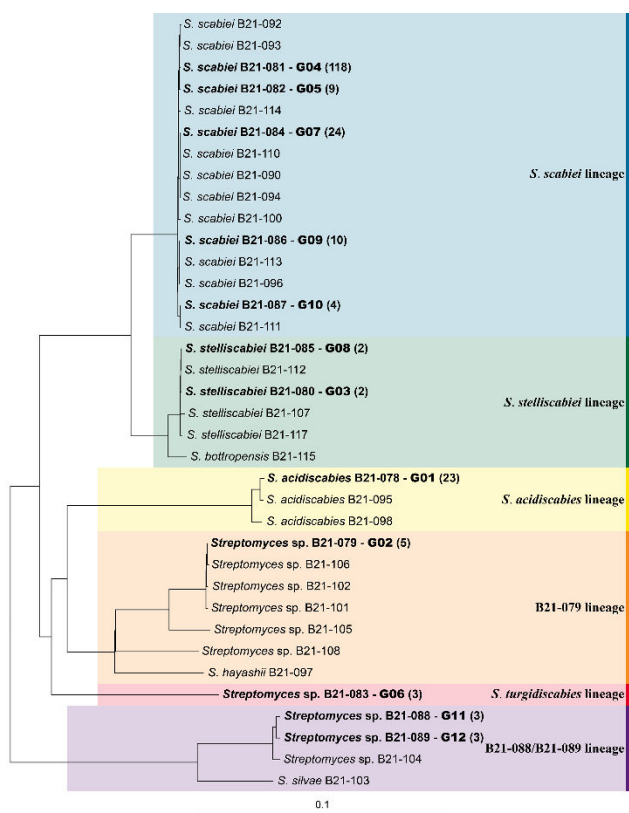
Rapport final 2024 pour le CRPTQ

Martin Filion, Claudia Goyer, Carole Beaulieu

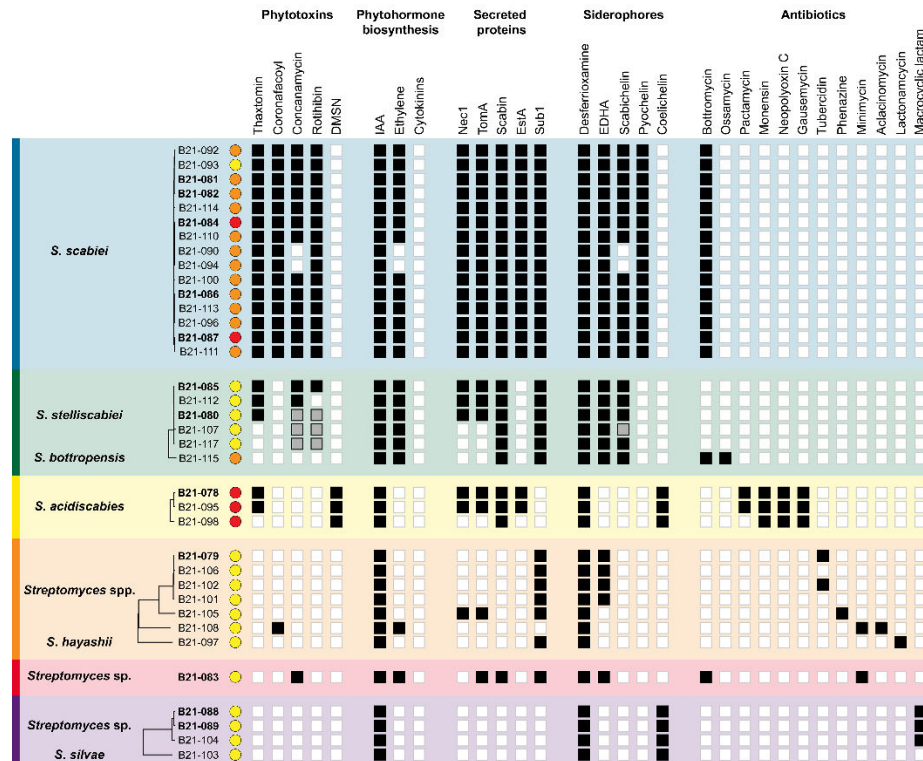
Objectif 1

- Description:** Caractériser au niveau génétique les souches de *Streptomyces* spp. responsables de la gale commune au Québec en association avec différents producteurs québécois répartis sur l'ensemble du territoire.
- Livable:** Cet objectif va permettre de déterminer quelles souches de *Streptomyces* spp. sont prévalentes au Québec et quelles sont leurs principales caractéristiques morphologiques et génétiques.
- Ce qui a été réalisé:** Des pommes de terres galées (présentant des symptômes de la gale commune) ont été obtenus de 24 producteurs (36 champs distincts) localisés dans 8 régions administratives du Québec. Les *Streptomyces* spp. responsables de symptômes de la gale commune ont été isolés en cultures pures à partir de ces pommes de terre, permettant d'obtenir une représentativité de la diversité des *Streptomyces* spp. causant la gale commune à l'échelle provinciale. 230 souches de *Streptomyces* spp. ont été isolées (provenant de 22 différentes variétés de pommes de terre), leur ADN génomique extrait et la caractérisation génétique de ces souches, incluant leur génotypage à l'aide de techniques de rep-PCR et le séquençage de génomes représentatifs à l'aide de la technologie PacBio a été complété. Suite à l'assemblage, les séquences génomiques, ainsi que les annotations ont été déposées dans la banque de données GenBank. Différentes analyses bioinformatiques ont été réalisées sur ces génomes pour identifier la présence/absence de gènes clés impliqués dans la pathogénicité/virulence. **CET OBJECTIF EST COMPLÉTÉ.**
- Principaux résultats :** Les 230 souches de *Streptomyces* spp. ont pu être regroupées en

12 principaux groupes génétiques distincts (G1 à G12 – représentés en gras sur la figure ci-bas). Les groupes génétiques G4, G5, G7, G9 et G10 appartiennent à *S. scabiei*; les groupes G3 et G8 appartiennent à *S. stelliscabiei*; le groupe génétique G6 appartient à *S. turgidiscabies*; le groupe génétique G1 appartient à *S. acidiscabies* et finalement les groupes G2, G11 et G12 appartiennent à de nouvelles espèces de *Streptomyces* non-caractérisées à ce jour. En sus de ces 12 principaux groupes génétiques pour lesquels plusieurs souches ont été détectées dans plusieurs champs et régions administratives, 24 autres souches uniques (retrouvées dans un seul champ) ont également été caractérisées et classifiées (ce sont les souches qui ne sont pas en gras dans la figure ci-bas).



Le séquençage des génomes des 36 souches de *Streptomyces* (12 groupes génétiques + 24 souches uniques) a permis le développement d'un atlas génomique qui présente la présence/absence de gènes clés, notamment ceux impliqués dans la virulence/agressivité des génomes à l'étude (voir figure ci-bas).



Tous ces résultats ont permis de déterminer que la diversité des *Streptomyces* spp. causant la gale commune de la pomme de terre au Québec est beaucoup plus grande qu'anticipée et malgré que *Streptomyces scabiei* demeure l'espèce dominante au Québec, plusieurs autres espèces et souches de *Streptomyces* spp. cohabitent dans un même champ. Le principal facteur de virulence connu chez les *Streptomyces* spp. causant la gale commune, soit la capacité de produire des thaxtomines, qui sont des phytotoxines responsables des symptômes typiques de la maladie, ne semble pas agir seul car plus de 50% des différentes souches de *Streptomyces* spp. capables de causer la maladie au Québec ne possèdent pas les déterminants génétique requis pour la production de ces composés. En fait, de nombreux facteurs de virulence ont été identifiés chez les différentes souches et il apparaît que c'est plutôt la somme de ces différents facteurs qui influence l'agressivité des différentes souches de *Streptomyces* spp. (voir objectif suivant). En général, plus une souche possède de facteurs de virulence différents (représentés par des carrés noirs sur la figure ci-haut), plus elle est agressive à infecter la pomme de terre. Ceci, quoique que cela puisse paraître intuitif, constitue une nouvelle découverte chez cet agent pathogène. L'ensemble de ces résultats sera d'une grande importance dans le développement d'outils de lutte contre cette maladie car les nouvelles approches/technologies qui seront développées devront

tenir compte de cette grande diversité taxonomique et génétique. Les résultats de cet objectif ont permis la rédaction d'un manuscrit scientifique qui a récemment été soumis pour publication à la revue arbitrée *Environmental Microbiology*: A Biessy, M Cadieux, M Ciotola, R St-Onge, J Blom, M Filion. 2024. Virulence determinants are unevenly distributed within the various *Streptomyces* species and strains causing potato common scab in the province of Quebec, Canada. *Environmental Microbiology*. Soumis pour publication.

Objectif 2

Description:

Caractériser l'agressivité de ces souches par des essais contrôlés afin de déterminer lesquelles engendrent une incidence et/ou une sévérité de symptômes élevée et identifier les souches clés à cibler dans le cadre du développement d'outils de lutte.

Livrable:

Cet objectif va permettre de déterminer quelles sont les souches de *Streptomyces* spp. les plus présentes et les plus agressives retrouvées au Québec.

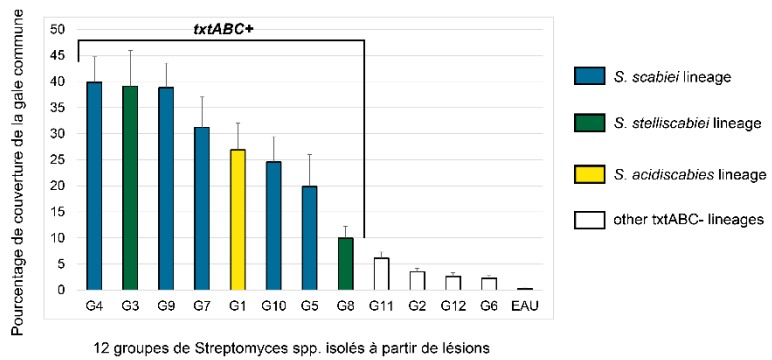
Ce qui a été réalisé:

Les essais d'agressivité des douze groupes génétiques de *Streptomyces* spp. identifiés à l'objectif 1 ont été réalisés en utilisant deux dispositifs expérimentaux différents : 1) dans des essais en pots en serres; et 2) dans des essais standardisés sur tranches de pomme de terre. Pour le premier dispositif, des plants de pommes de terre ont été cultivés en pots et inoculé avec les différentes souches de *Streptomyces* spp. (nous n'avons utilisé que les 12 principaux groupes génétique pour cette expérience) en utilisant un dispositif expérimental robuste. Les symptômes (couverture de gale) ont été notés à maturité sur les tubercules et les analyses statistiques appropriées ont été réalisées pour identifier les souches les plus virulentes. Pour le second dispositif, des essais standardisés sur tranches de pommes de terre où les différentes souches de *Streptomyces* spp. ont été inoculées (ici les 36 différentes souches à l'étude ont été inoculées et non seulement les principaux 12 groupes génétiques), ont été évaluées pour l'intensité des symptômes de

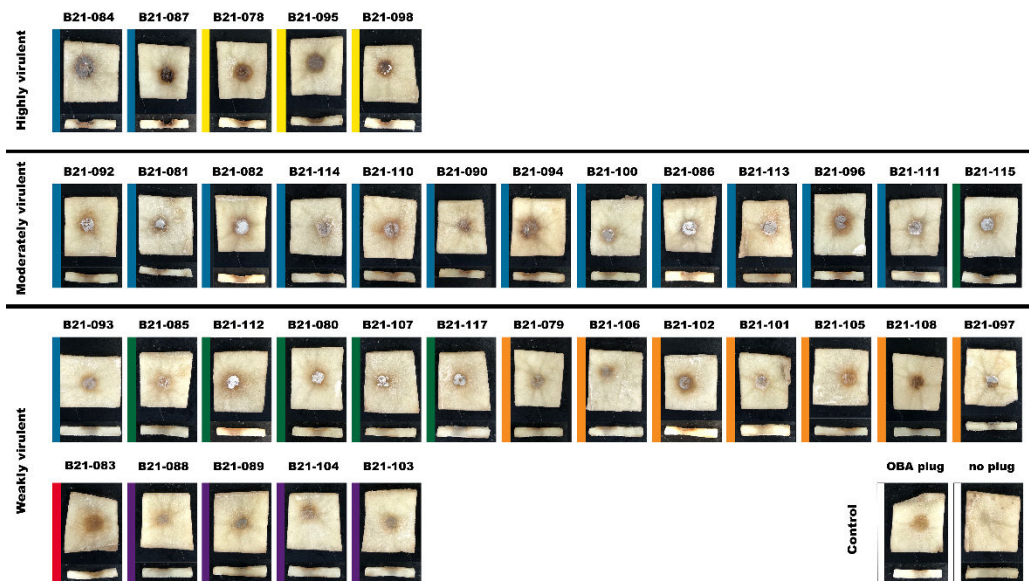
nécrose. **CET OBJECTIF EST COMPLÉTÉ.**

Principaux résultats :

L'agressivité des 12 groupes génétiques de *Streptomyces* spp. dans l'expérience en pots est très différente (couverture de gale variant de 3 à 40%). Les groupes génétiques qui possèdent la capacité génétique de produire des thaxtomines sont clairement plus agressives. Parmi ces derniers, les groupes génétiques G3, G4 et G9 engendrent le plus de symptômes (voir figure ci-bas).



Les 36 souches (incluant les 12 groupes génétiques) ont ensuite été évaluées sur des essais de tranches de pomme de terre ou leur agressivité a de nouveau été caractérisée (voir figure ci-bas).



Tous ces résultats ont permis de déterminer que la diversité d'agressivité des différents *Streptomyces* spp. causant la gale commune de la pomme de terre au Québec est beaucoup plus grande qu'anticipée. Cette information pourrait permettre de développer de nouveaux outils de détection et prédiction permettant d'adapter les moyens de lutte en fonction de l'agressivités des souches de *Streptomyces* spp. présentes dans un champ donné. Ces données seront aussi importantes dans le cadre de nouvelles technologies/approches pour tenter de contrôler cette maladie. Une collection de ces différentes souches de *Streptomyces* pp. va être conservée à long terme afin d'être disponible pour tester de nouveaux produits de lutte afin de s'assurer de leur efficacité contre toute cette diversité d'agents causaux.

Les résultats de cet objectif ont permis la rédaction d'un manuscrit scientifique qui a récemment été soumis pour publication à la revue arbitré Environmental Microbiology: A Biessy, M Cadieux, M Ciotola, R St-Onge, J Blom, M Filion. 2024. Virulence determinants are unevenly distributed within the various *Streptomyces* species and strains causing potato common scab in the province of Quebec, Canada. *Environmental Microbiology*. Soumis pour publication.

Objectif 3

Description:

Tester la capacité d'une large collection de bactéries d'intérêt en biocontrôle à réduire l'incidence et la couverture de gale causée par les souches les plus virulentes de *Streptomyces* spp. en conditions contrôlées et en champs.

Livrable:

Les résultats permettront de déterminer quelle.s souche.s de *Pseudomonas* spp. productrice.s de composés phénaziques ou autres peut(vent) significativement réduire les symptômes de la gale commune en conditions contrôlées et en champs.

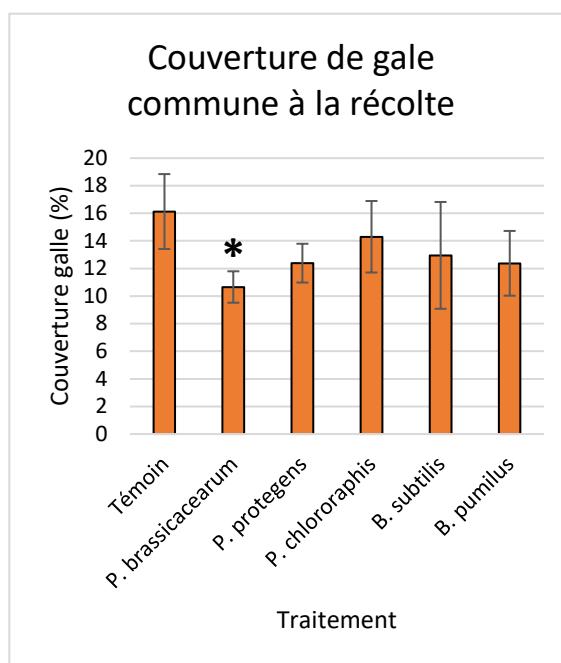
Ce qui a été réalisé:

Deux expériences en conditions de champs ont été réalisées à la ferme expérimentale de Ste-Clotilde d'AAC à l'été 2022 et 2023. Différentes inoculations (et méthodes d'inoculation) de *Pseudomonas* spp. phytobénéfiques ont été réalisées chez des

pommes de terre (cultivar Norland) pré-inoculées avec la souche dominante de *Streptomyces scabiei* retrouvée au Québec et qui est fortement pathogène. À la récolte, les symptômes de gale commune et le rendement des pommes de terre (déterminé en termes de poids et taille des tubercules) ont été évalués. **CET OBJECTIF EST COMPLÉTÉ.**

Principaux résultats :

L'inoculation de pommes de terre avec une souche de *Pseudomonas brassicacearum* phytobénéfique a permis de réduire significativement de 33% les symptômes de gale commune à la récolte.



L'optimisation des conditions d'inoculation a permis de développer une approche où la souche de *P. brassicacearum* est inoculée une seule fois sous forme d'enrobage de semences en combinaison avec un additif gélifiant (carboxyméthylcellulose). Cette nouvelle approche a permis une meilleure adhérence de la souche de *P. brassicacearum* aux tubercules de semence, évitant de devoir réappliquer la bactérie durant la saison de croissance, tout en obtenant une réduction significative des symptômes. Ceci constitue une première puisque toutes nos précédentes tentatives de contrôle ont nécessité la ré-application de souches de *Pseudomonas* spp. durant la saison de croissance afin d'obtenir un effet de biocontrôle significatif et durable. Il reste de

l'optimisation a effectuer, notamment au niveau des doses d'application, mais les résultats sont très robustes et encourageants, permettant d'entrevoir à terme le développement d'un agent de biocontrôle commercial contre la gale commune. L'inoculation de pommes de terre avec la souche de *P. brassicacearum* n'a pas eu d'effet significatif (positif ou négatif) sur le poids moyen ou la taille moyenne des tubercules à la récolte.

En lien avec cet objectif, un manuscrit scientifique de type 'review' portant sur le biocontrôle de la gale commune a été publié en 2022 dans la revue arbitrée *Biological control* :
A Biessy, M Filion. 2022. Biological control of potato common scab by plant-beneficial bacteria. *Biological Control* 165, 104808. doi: 10.1016/j.biocontrol.2021.104808.