



UNIVERSITÉ DE
SHERBROOKE



La brûlure des pousses de sapin: État des connaissances

Les journées sur l'arbre de Noël
21 Février 2015

Par Pre Carole Beaulieu et Julien F. Guertin
Université de Sherbrooke



**Introduction: Maladies fongiques des
aiguilles de sapin connues au Québec**

Feutrage Blanc

(*Herpotrichia* needle browning)

- **Agent causal:** *Nematostoma Parasiticum*
(Anciennement: *Herpotrichia parasitica*)
- **Géographie de la maladie:**
 - Europe (Autriche, Allemagne, Suisse, Danemark, Norvège, Royaume-Unis)
 - Japon
 - Amérique du nord
- **Symptômes:**
 - Brunissement et mort des aiguilles
 - Aiguilles restent attachées par un mycélium
 - Infection des aiguilles de tout âge
- **Cycle de l'infection :** Peu connu

Feutrage Blanc



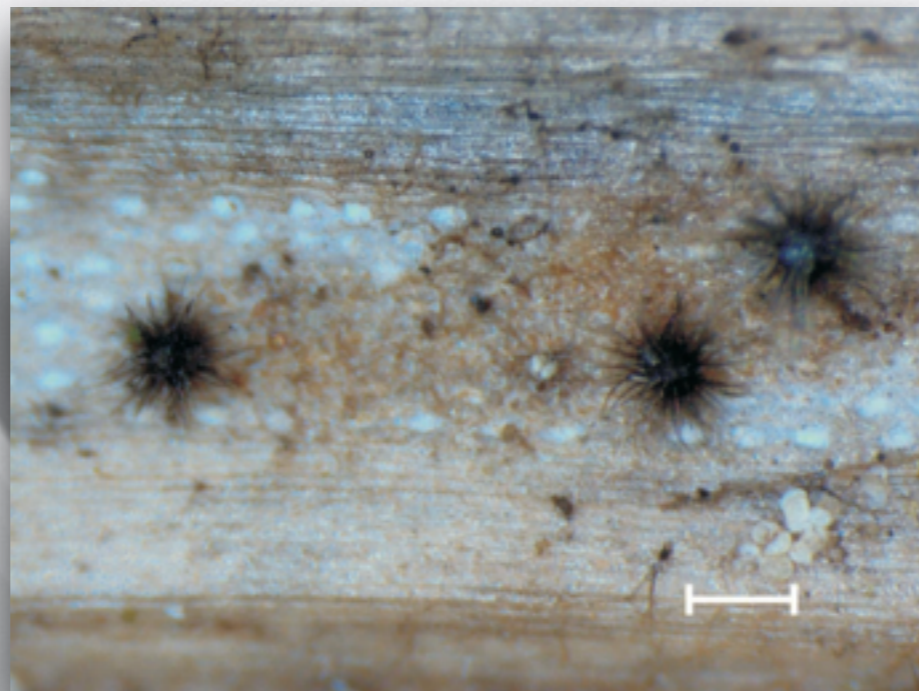
(Kowalski, 2010)

Stade précoce



(Bouchard 2014)

Stade avancé



(Kowalski, 2010)

***N. parasiticum* (Pycnides)**

Rouge des aiguilles

(Needle cast)

- **Agents causals:** *Lirula mirabilis*, *Lirula nervata.*, *Isthmiella faulii* et *Rhizosphaera spp.* (Type d'infection différent)
- **Géographie:**
 - États-Unis
 - Canada
- **Symptômes:**
 - Brunissement puis décoloration des aiguilles suivis d'une chute prématurée des aiguilles

Rouge des aiguilles

(Needle cast)

- **Cycle de l'infection:**

- Première année** : Les ascospores infectent des aiguilles sans patron précis, pas de symptômes visibles

- Deuxième année (printemps)**: Décoloration des aiguilles suivie par la développement de pycnides sur la surface supérieure de l'aiguille.

- Deuxième année (Fin de l'été)**: Les asques du champignon se développent sous l'aiguille

- Troisième année**: Les asques deviennent matures et les ascospores sont disséminés par la pluie et le vent

Rouge des aiguilles



(Laboratoire Beaulieu, 2015)

Rhizosphaera spp. sur PDA



(Chastagner, 2000)

Symptômes sévères



(Albers, 1996)

Lirula nervata sur une aiguille

Rouille des aiguilles

(Needle Rust / Fir Fern Rust)

- **Agents causals:** Ordre des uredinales (Syn. Puccinales), principalement du genre *Uredinopsis* et *Milesina*. Au total, une dizaine d'espèces peuvent causer cette maladie
- **Géographie:** Peu connue
- **Symptômes:**
 - Décoloration des aiguilles
 - Présence de grosses fructifications colorées (écidies) sur la face inférieure des aiguilles
- **Cycle de l'infection:**
 - Complexe
 - Nécessite un hôte alternatif pour pouvoir compléter le cycle
 - Croissance pendant plusieurs années avant de tuer l'aiguille

Rouille des aiguilles



(Cornell University, 2015)

Stade précoce



(Cornell University, 2015)

Fructifications blanches

Brûlure des pousses du sapin

(Balsam Fir Tip Blight/ Tip Blight)

- **Agent causal:** *Delphinella balsameae* et *Delphinella abietis*
- **Géographie:**
 - Amérique du Nord
(Au Québec, surtout en Gaspésie, dans les Laurentides et en Estrie)
 - Europe du Nord
- **Symptômes:**
 - Flétrissement rapide de la pousse (Brûlure de la pousse)
 - Rougisement d'aiguilles et recroquevillement
- **Cycle de l'infection:**
 - Le cycle est peu connu
 - L'infection se produit rapidement après le débourrement
 - Les fructifications apparaissent plus tard sur la face supérieure de l'aiguille
 - Les spores arrivent à maturité de la fin d'avril jusqu'au début de juin

Brûlure des pousses du sapin



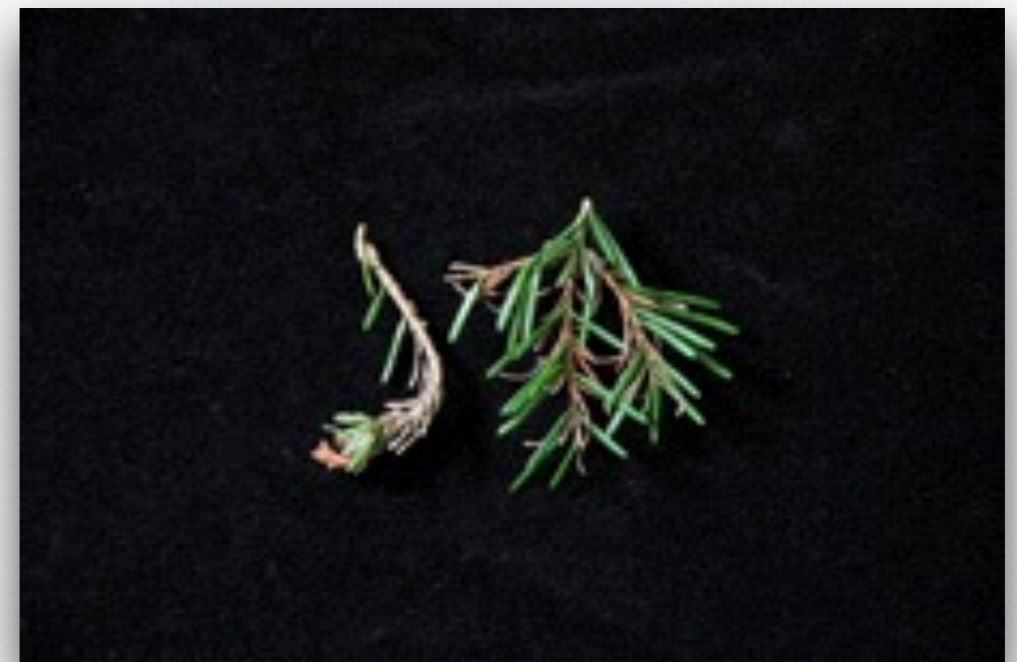
(Laboratoire Beaulieu, 2014)

Pousses et aiguilles infectées



(Forêts, Faune et Parcs Québec, 2014)

Périthèces de *D. balsameae*



(Forêts, Faune et Parcs Québec, 2014)

Deux types de symptômes

Facteurs abiotiques

- Gel
- Toxicité
- Carence
- Etc.



(insectimage.org)

Dégâts de gel

Projet de recherche:

Isolement et Détection des Maladies
Foliaires Fongiques Présentes dans
les Plantations de Sapin

Objectifs de recherche

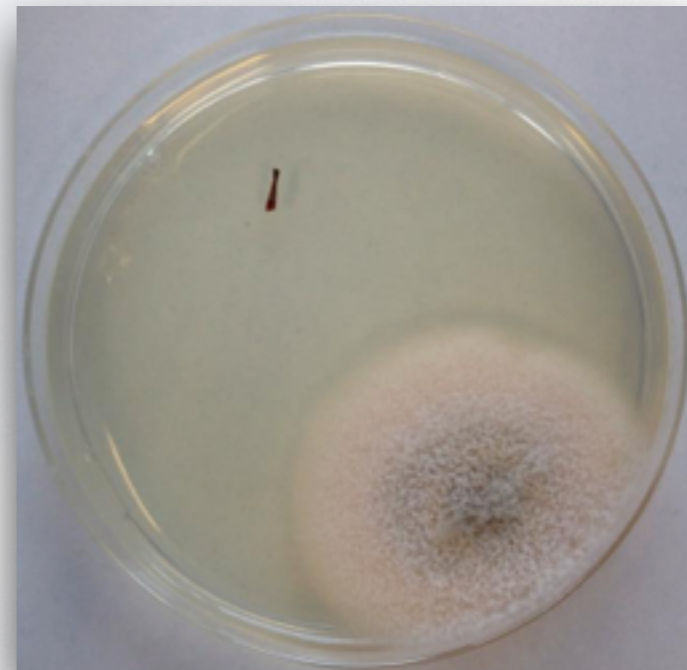
- Isoler et identifier les agents pathogènes dans les aiguilles affectées par les maladies fongiques
- Développer des outils de biologie moléculaire pour les identifier

Démarche et résultats

Première maladie étudiée : Brûlure de la pousse

Isolement des champignons endophytes dans les aiguilles

- 45 échantillons affectés par la maladie provenant de 9 plantations entre le 28 mai 2014 et le 7 août 2014
- 360 aiguilles stérilisées en surface et placées sur pétris
- 46 champignons isolés



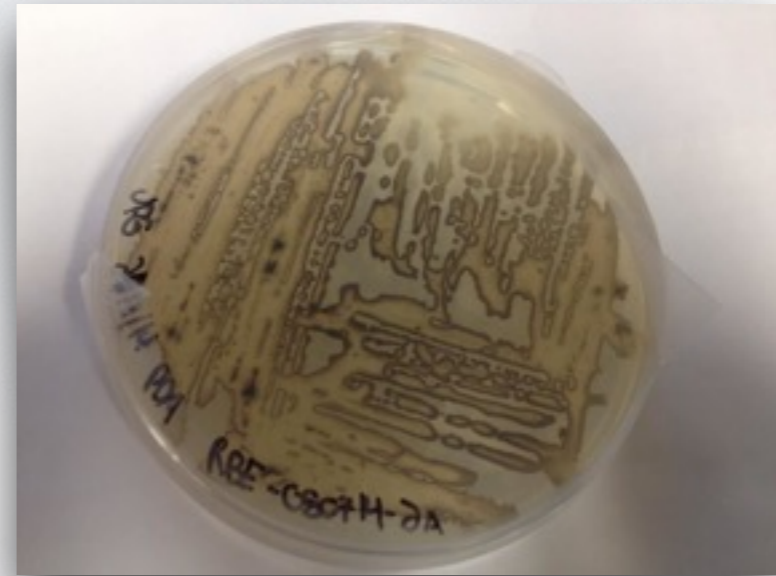
Isolement des champignons endophytes dans les aiguilles

Tableau 1: Aspect et couleurs des champignons isolés dans les aiguilles de sapin

Échantillon	Couleur	Échantillon	Couleur
BBE-030614-1	Blanc	HPA-090614-3	Blanc/Noir
BBE-030614-2	Blanc/Orange	HPA-090614-4	Blanc
BBE-080714-1	Noir/Crème	HPA-090614-5	Vert/Brun
BBE-080714-2	Noir/Crème	HPA-160614-1	Noir/Crème
BBE-160614-1	Noir/Crème	HPA-280514-1	Blanc
BBE-280514-1	Blanc/Orange	HPA-280514-2	Blanc/Pêche
DME-240714-1	Noir/Crème	JON-020714-1	Noir/Crème
DRA-030514-1	Blanc/Noir	JON-020714-2	Noir/Crème
DRA-090614-1	Noir/Blanc	JON-020714-3	Noir/Crème
DRA-090614-2	Noir/Blanc	JON-080714-1	Noir/Crème
DRA-090614-3	Blanc	JON-080714-2	Noir/Crème
DRA-090614-4	Blanc/Orangé	JON-080714-3	Noir/Crème
DRA-090614-5	Blanc	JON-080714-4	Noir/Crème
DRA-160614-1	Blanc/Noir	JON-080714-5	Noir/Crème
DRA-160614-2	Blanc/Noir	RBE-080714-1	Crème
DRA-160614-3	Blanc/Noir	RBE-080714-2	Noir/Crème
DRA-160614-4	Blanc/Noir	RBE-080714-3	Blanc/Pêche
DRA-280514-1	Blanc/Orange	RBE-090614-1	Blanc/Orange
HPA-080714-1	Blanc/Pêche	RBE-090614-2	Blanc/Orange
HPA-080714-2	Blanc	RBE-160614-1	Blanc/Orange
HPA-080714-3	Beige	RBE-160614-2	Blanc/Orange
HPA-090614-1	Noir/Crème	RBE-280514-1	Gris/Blanc
HPA-090614-2	Vert/Noir	RBE-280514-2	Blanc/Orange

Isolement des champignons endophytes dans les aiguilles

- Fructifications noires sur les aiguilles infectées



après 1 semaine



après 1 mois

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

- Amplification des régions ITS1, 5.8S et ITS2, par PCR, avec le couple d'amorce ITS4/ITS5
- Séquençage des amplicons
- Analyse des résultats avec BLAST dans la base de données NCBI

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

- Amplification des régions ITS1, 5.8S et ITS2, par PCR, avec le couple d'amorce ITS4/ITS5
- Séquençage des amplicons
- Analyse des résultats avec BLAST dans la base de données NCBI

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

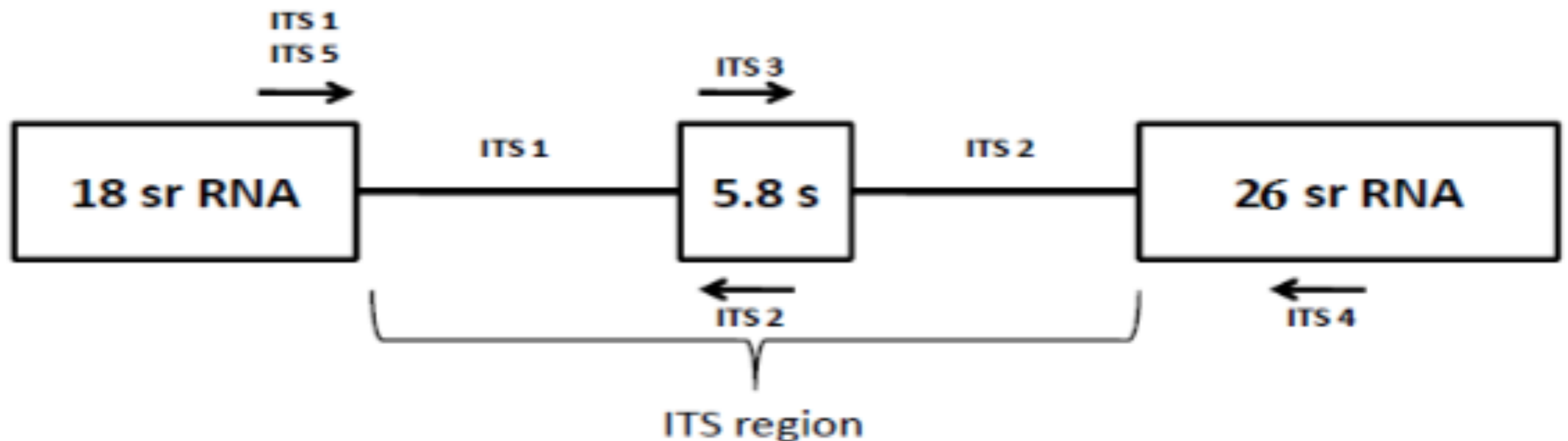


Fig. 1: Internal transcribed spacer region

(Nagpur University)

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

- Amplification des régions ITS1, 5.8S et ITS2, par PCR, avec le couple d'amorce ITS4/ITS5
- Séquençage des amplicons
- Analyse des résultats avec BLAST dans la base de données NCBI

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

	Description	Max	Total	Query	E	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Sydowia polyspora isolate stklk3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1085	1085	100%	0.0	100%	JN44640.1
<input type="checkbox"/>	Fungal sp. MS1007h-1L9x 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1079	1079	100%	0.0	99%	KF52689.1
<input type="checkbox"/>	Rhizosphaera kalkhoffii strain WA0000019142 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1074	1074	100%	0.0	99%	JX981459.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured ascomycete ITS region including 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, clone BF-OTU338	1074	1074	100%	0.0	99%	AM901950.1
<input type="checkbox"/>	Sydowia polyspora isolate stklk1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1072	1072	99%	0.0	99%	JN944638.1
<input type="checkbox"/>	Hormonema dematioides E99156 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1068	1068	100%	0.0	99%	AY253451.1
<input type="checkbox"/>	Hormonema dematioides 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1057	1057	100%	0.0	99%	AF013228.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone 42 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1051	1051	99%	0.0	99%	GU122902.1
<input type="checkbox"/>	Rhizosphaera kalkhoffii strain CBS 280.38 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1042	1042	97%	0.0	99%	EU700375.1
<input type="checkbox"/>	Rhizosphaera kalkhoffii strain CBS 114656 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1042	1042	97%	0.0	99%	EU700376.1

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

Tableau 2: Identification des échantillons par l'algorithme BLAST

Échantillon	Espèce	Identités
HPA-090614-2	<i>Allantophomopsis lycopodina</i>	99% (547/552)
HPA-090614-5	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i>	99% (519/523)
HPA-090614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
HPA-160614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
BBE-160614-2	<i>Rhizosphaera macrospora</i>	98% (501/513)
BBE-160614-1	<i>Rhizosphaera pini</i>	99% (570/572)
JON-020714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (579/580)
JON-080714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (576/577)
HPA-090614-3	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
JON-020714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (577/577)
JON-020714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
BBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (582/582)
RBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (508/508)
DME-240714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-4	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-5	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

Tableau 2: Identification des échantillons par l'algorithme BLAST

Échantillon	Espèce	Identités
HPA-090614-2	<i>Allantophomopsis lycopodina</i>	99% (547/552)
HPA-090614-5	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i>	99% (519/523)
HPA-090614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
HPA-160614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
BBE-160614-2	<i>Rhizosphaera macrospora</i>	98% (501/513)
BBE-160614-1	<i>Rhizosphaera pini</i>	99% (570/572)
JON-020714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (579/580)
JON-080714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (576/577)
HPA-090614-3	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
JON-020714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (577/577)
JON-020714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
BBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (582/582)
RBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (508/508)
DME-240714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-4	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-5	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

Tableau 2: Identification des échantillons par l'algorithme BLAST

Échantillon	Espèce		Champignons endophytes chez des plantes
HPA-090614-2	<i>Allantophomopsis lycopodina</i>	99%	
HPA-090614-5	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i>	99% (519/523)	
HPA-090614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)	
HPA-160614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)	
BBE-160614-2	<i>Rhizosphaera macrospora</i>	98% (501/513)	
BBE-160614-1	<i>Rhizosphaera pini</i>	99% (570/572)	
JON-020714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (579/580)	
JON-080714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (576/577)	
HPA-090614-3	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)	
JON-020714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (577/577)	
JON-020714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)	
BBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (582/582)	
RBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (508/508)	
DME-240714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)	
JON-080714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)	
JON-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)	
JON-080714-4	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)	
JON-080714-5	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)	

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

Tableau 2: Identification des échantillons par l'algorithme BLAST

Échantillon	Espèce	Identités
HPA-090614-2	<i>Allantophomopsis lycopodina</i>	99% (547/552)
HPA-090614-5	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i>	99% (519/523)
HPA-090614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
HPA-160614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
BBE-160614-2	<i>Rhizosphaera macrospora</i>	98% (501/513)
BBE-160614-1	<i>Rhizosphaera pini</i>	99% (570/572)
JON-020714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (579/580)
JON-080714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (576/577)
HPA-090614-3	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
JON-020714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (577/577)
JON-020714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
BBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (582/582)
RBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (508/508)
DME-240714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-4	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-5	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

Tableau 2: Identification des échantillons par l'algorithme BLAST

Échantillon	Espèce	Identités
HPA-090614-2	<i>Allantophomopsis lycopodina</i>	99% (547/552)
HPA-090614-5	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i>	
HPA-090614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	
HPA-160614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
BBE-160614-2	<i>Rhizosphaera macrospora</i>	98% (501/513)
BBE-160614-1	<i>Rhizosphaera pini</i>	99% (570/572)
JON-020714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (579/580)
JON-080714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (576/577)
HPA-090614-3	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
JON-020714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (577/577)
JON-020714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
BBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (582/582)
RBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (508/508)
DME-240714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-4	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-5	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)

Normalement retrouvé dans le rouge des aiguilles

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

Tableau 2: Identification des échantillons par l'algorithme BLAST

Échantillon	Espèce	Identités
HPA-090614-2	<i>Allantophomopsis lycopodina</i>	99% (547/552)
HPA-090614-5	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i>	99% (519/523)
HPA-090614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
HPA-160614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
BBE-160614-2	<i>Rhizosphaera macrospora</i>	98% (501/513)
BBE-160614-1	<i>Rhizosphaera pini</i>	99% (570/572)
JON-020714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (579/580)
JON-080714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (576/577)
HPA-090614-3	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
JON-020714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (577/577)
JON-020714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
BBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (582/582)
RBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (508/508)
DME-240714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-4	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-5	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

Tableau 2: Identification des échantillons par l'algorithme BLAST

Échantillon	Espèce	Identités
HPA-090614-2	<i>Allantophomopsis lycopodina</i>	99% (547/552)
HPA-090614-5	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i>	99% (519/523)
HPA-090614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
HPA-160614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
BBE-160614-2	<i>Rhizosphaera macrospora</i>	98% (570/572)
BBE-160614-1	<i>Rhizosphaera pini</i>	99% (570/572)
JON-020714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (579/580)
JON-080714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (576/577)
HPA-090614-3	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
JON-020714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (577/577)
JON-020714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
BBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (582/582)
RBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (508/508)
DME-240714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-4	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-5	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)

Agent pathogène qui cause le rouge des aiguilles

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

Tableau 2: Identification des échantillons par l'algorithme BLAST

Échantillon	Espèce	Identités
HPA-090614-2	<i>Allantophomopsis lycopodina</i>	99% (547/552)
HPA-090614-5	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i>	99% (519/523)
HPA-090614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
HPA-160614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
BBE-160614-2	<i>Rhizosphaera macrospora</i>	98% (501/513)
BBE-160614-1	<i>Rhizosphaera pini</i>	99% (570/572)
JON-020714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (579/580)
JON-080714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (576/577)
HPA-090614-3	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
JON-020714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (577/577)
JON-020714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
BBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (582/582)
RBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (508/508)
DME-240714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-4	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-5	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)

Identification des champignons retrouvés dans les aiguilles

Tableau 2: Identification des échantillons par l'algorithme BLAST

Échantillon	Espèce	Identités
HPA-090614-2	<i>Allantophomopsis lycopodina</i>	99% (547/552)
HPA-090614-5	<i>Allantophomopsiella pseudotsugae</i>	99% (519/523)
HPA-090614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
HPA-160614-1	<i>Phaeocryptopus nudus</i>	100% (573/573)
BBE-160614-2	<i>Rhizosphaera macrospora</i>	98% (501/513)
BBE-160614-1	<i>Rhizosphaera pini</i>	99% (570/572)
JON-020714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (579/580)
JON-080714-3	<i>Sydowia polyspora</i>	99% (576/577)
HPA-090614-3	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
JON-020714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
JON-020714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (578/578)
BBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (582/582)
RBE-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (508/508)
DME-240714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-1	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-2	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-4	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)
JON-080714-5	<i>Sydowia polyspora</i>	100% (580/580)

12/18 des champignons identifiés

Sydowia polyspora

- **Taxonomie:** Appartient à la famille des *Dothioraceae* (Même famille que *Delphinella sp.*)
- **Pathologie:** Cause la nécrose saisonnière de l'aiguille (Current Season Needle Necrosis) et le rouge des aiguilles
- **Symptômes:** Induit des nécroses en tache d'une portion de l'aiguille, production de fructifications noires



(Laboratoire Beaulieu, 2015)



(<http://videntjenesten.ku.dk>)



(Talgo, 2010)

Présence de *Delphinella balsameae* ?

- Amplification par PCR et séquençage de l'ADN extrait dans des aiguilles fortement infectées
- Comparaison avec la séquence de *Delphinella balsameae* (régions ITS1, 5.8S et ITS2) obtenues du Centre de Foresterie des Laurentides
- Obtention d'une séquence de *Delphinella balsameae*

Conception d'amorces spécifiques pour identifier *Delphinella balsameae*

- Comparaison des régions ITS de *D. balsameae* avec les 3 espèces les plus semblables:
 - Delphinella abietis*
 - Sydowia polyspora*
 - Hormonema* sp.
- 4 nucléotides cibles
- Conception de 2 amorces sens (Dbal1F et Dbal2F) et 3 amorces anti-sens (Dbal1R, Dbal2R et Dbal3R)

Conception d'amorces spécifiques pour identifier *Delphinella balsameae*

- Comparaison des régions ITS de *D. balsameae* avec les 3 espèces les plus semblables:
 - *Delphinella abiotis*
 - *Sydowia polyspora*
 - *Hormonema* sp.
- 4 nucléotides cibles
- Conception de 2 amorces sens (Dbal1F et Dbal2F) et 3 amorces anti-sens (Dbal1R, Dbal2R et Dbal3R)

Conception d'amorces spécifiques

```

Delphinella_BalsameaeC      TCCGTTGTTGAAAGTTTTAATTTAATTAAAATTTTATACTCAGACGACTG 400
Delphinella_abietis_GQ412731.1 TCCGTTGTTGAAAGTTTTAATTTAATTAAAATTTTATACTCAGACGACTG 400
Sydowia_polyspora_BBE-080714-2 TCCGTTGTTGAAAGTTTTAATTTAATTAAAATTTTATACTCAGACGACTG 399
Sydowia_polyspora_JN944640.1_ TCCGTTGTTGAAAGTTTTAATTTAATTAAAATTTTATACTCAGACGACTG 391
Hormonema_sp._AY465454.1_     TCCGTTGTTGAAAGTTTTAATTTAATTAAAATTTTATACTCAGACGACTG 359
*****

Delphinella_BalsameaeC      GTTTAATACAAGAGTTTGGTTGGACTCTGGCGGGCGCTCACCAACCCGAG 450
Delphinella_abietis_GQ412731.1 GTTTAATACAAGAGTTTGGTTGGACTCTGGCGGGCGCTCACCAACCCGAG 450
Sydowia_polyspora_BBE-080714-2 GTTTAATACAAGAGTTTGGTTGGACTCTGGCGGGCGCTCACCAACCCGAG 449
Sydowia_polyspora_JN944640.1_ GTTTAATACAAGAGTTTGGTTGGACTCTGGCGGGCGCTCACCAACCCGAG 441
Hormonema_sp._AY465454.1_     GTTTAATACAAGAGTTTGGTTGGACTCTGGCGGGCGCTCACCAACCCGAG 409
*****

Delphinella_BalsameaeC      GGTTGGTGCCTCGGAGACCGAGACGGTCCCGCCAAAGCAACAGGGTAGT 500
Delphinella_abietis_GQ412731.1 GGTTAGTGCCTCGGAGACCGAGACGGTCCCGCCAAAGCAACAGGGTAGT 500
Sydowia_polyspora_BBE-080714-2 GGTTAGTGCCTCGGAGACCGAGACGGTCCCGCCAAAGCAACAAGGTAGT 499
Sydowia_polyspora_JN944640.1_ GGTTAGTGCCTCGGAGACCGAGACGGTCCCGCCAAAGCAACAAGGTAGT 491
Hormonema_sp._AY465454.1_     GGTTAGTGCCTCGGAGACCGAGACGGTCCCGCCAAAGCAACAAGGTAGT 459
**** *****

Delphinella_BalsameaeC      TTTAACAACAGAGGGTTGGAGGTCGGGCCGTGAAGACCCTATCTCTTTAA 550
Delphinella_abietis_GQ412731.1 TTTAACAACAGAGGGTTGGAGGTCGGGCCGTGAAGACCCTATCTCTTTAA 550
Sydowia_polyspora_BBE-080714-2 TATAACAACAGAGGGTTGGAGGTCGGGCCATGAAGACCCTATCTCTTTAA 549
Sydowia_polyspora_JN944640.1_ TTTAACAACAGAGGGTTGGAGGTCGGGCCGTGAAGACCCTATCTCTTTAA 541
Hormonema_sp._AY465454.1_     TTTAACAACAGAGGGTTGGAGGTCGGGCCGTGAAGACCCTATCTCTTTAA 509
* *****

```

Conception de 2 amorces sens (Dbal1F et Dbal2F)
 et 3 amorces anti-sens (Dbal1R, Dbal2R et Dbal3R)

Conception d'amorces spécifiques pour identifier *Delphinella balsameae*

- Comparaison des régions ITS de *D. balsameae* avec les 3 espèces les plus semblables:

- Delphinella abietis*
- Sydowia polyspora*
- Hormonema* sp.

- 4 nucléotides cibles
- Conception de 2 amorces sens (Dbal1F et Dbal2F) et 3 amorces anti-sens (Dbal1R, Dbal2R et Dbal3R)

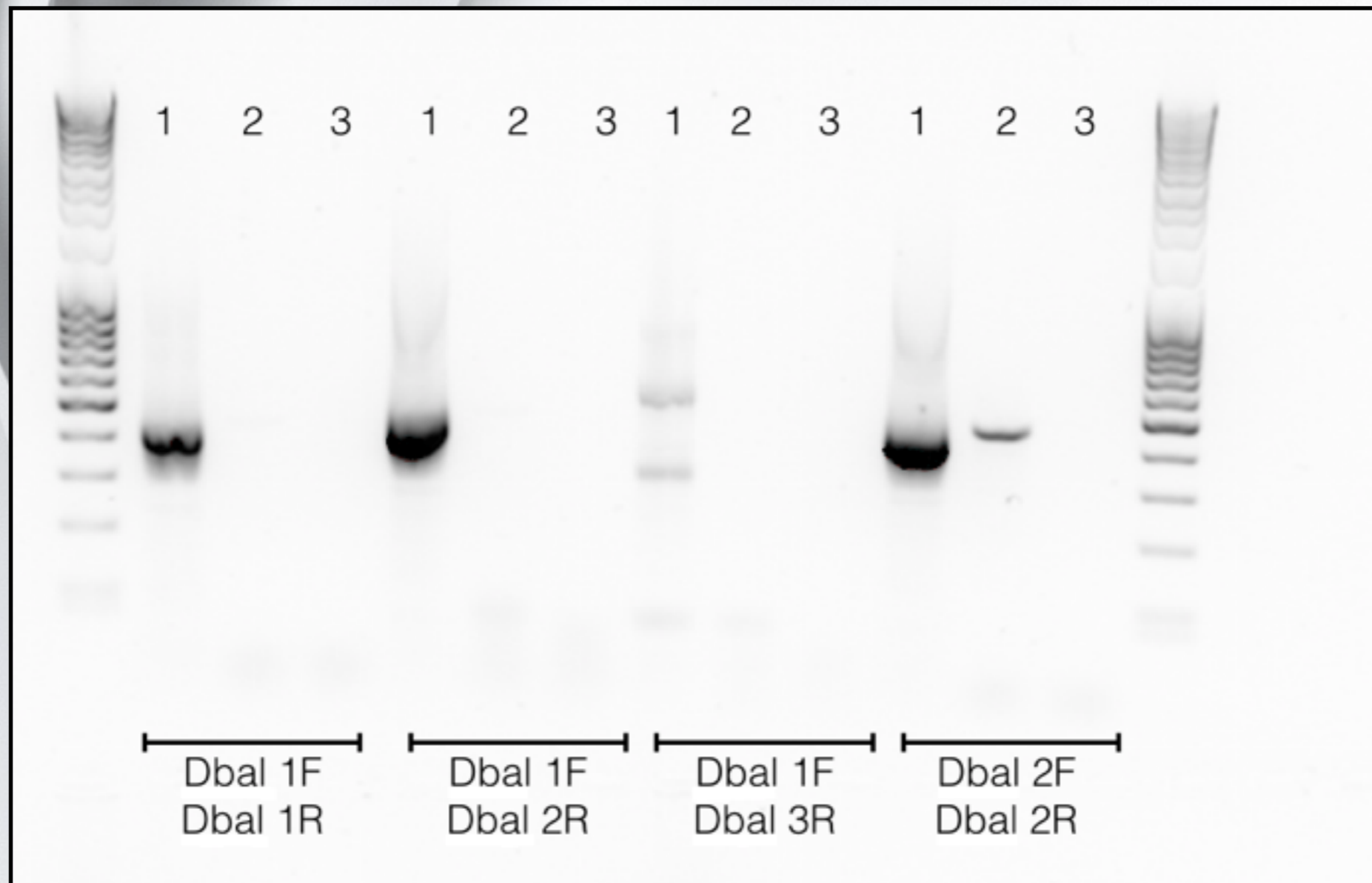
Conception d'amorces spécifiques pour identifier *Delphinella balsameae*

Conception des régions ITS de *D. Balsameae*

```
TGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAACCTAGAAAATTTAAAGGT  
TTAACGGCAATGAGGCCCGACCAAGCTTATAAGACGTTTCGATTAACTCTACTACGCCCGAAGT  
TGGTTGAACCCCGCCGAGGTCTTCGAGGAAGGCCCGCCTTTCGACGGACCGTTCCCAATACCAA  
GCGATGCTTGAGTGGTGTAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTCGGAATACCAAGGGGCGCAA  
TGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTCGCT  
GCGTTCCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAATTTAATTAATAATTT  
TATACTCAGACGACTGGTTTAATACAAGAGTTTGGTTGGACTCTGGCGGGGCGCTCACCAACCCG  
AGGGTTGGTGCGCTCGGAGACCGAGACGGTCCCGCCAAAGCAACAGGGTAGTTTTAACAACAGA  
GGGTTGGAGGTCGGGCCGTGAAGACCCTATCTCTTTAATGATCCTTCCGCAGGTTCACCTACGG  
AAACCTTGTTACGACTTTTACTTCCTCTNNNNNGACCNNGANCANNNNTCTCTCTCCCCTCCC  
CTTCTTCTTTNTTANTCCTTAGAACAGTGCACACGGGTTTNNGGATGNNTAGTGGATGCGAGCC  
GCCAGANACACACTTATTGTACGTCTGTATGGCTGGCCCTTGAATCTTCACTAATGATCCNTTC  
TGCAGGTTCACCTACAGAAACCTTGTTACGACTTTT
```

et 3 amorces anti-sens (Dba11R, Dba12R et Dba13R)

Conception d'amorces spécifiques pour identifier *Delphinella balsameae*



- 1: ADN d'aiguilles infectées par *D. balsameae*
- 2: ADN pur de *S. polyspora*
- 3: Témoin négatif (eau distillée)

Conclusions et Perspectives

- Il a bien présence de *Delphinella balsameae* dans les échantillons de l'été 2014 (Confirmé par biologie moléculaire)
- Il se pourrait que *Sydowia polyspora* contribue aux maladies des sapins du Québec

Remerciements

- L'association des producteurs d'arbres de Noël du Québec (APANQ)
- Dominique Choquette, MAPAQ
- L'équipe du Laboratoire du Pre Carole Beaulieu



UNIVERSITÉ DE
SHERBROOKE



L'ASSOCIATION
DES PRODUCTEURS
D'ARBRES DE NOËL
DU QUÉBEC
inc.

