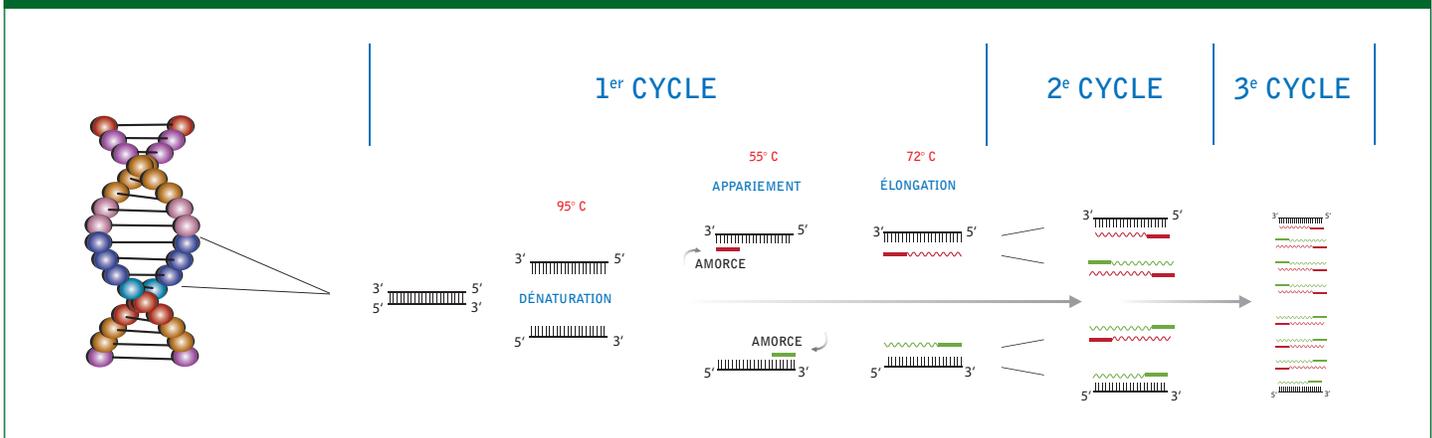


# Détection des groupes anastomotiques du *Rhizoctonia solani*

Karina Leblanc, Edith Plante et Richard Hogue

La méthode PCR-SSCP permet de détecter des groupes anastomotiques du *Rhizoctonia solani* de façon efficace et à moindre coût que la méthode traditionnelle.

## Schéma d'une amplification PCR



## *Rhizoctonia solani*

*Rhizoctonia solani* est l'espèce de champignon pathogène la plus importante du genre *Rhizoctonia*. Elle s'attaque à une vaste gamme de cultures horticoles, céréalières ou ornementales et est présente dans la plupart des sols cultivés du monde.

On compte plus d'une douzaine de sous-espèces, appelées groupes anastomotiques (AG), et reconnues sous la désignation AG-1 à AG-11 et AG-B1. Plusieurs de ces groupes se subdivisent aussi en sous-groupes. Certains groupes peuvent infester un nombre limité de plantes, tandis que d'autres en infesteront une vaste gamme. De plus, la virulence de ces différents groupes et sous-groupes varie pour une même culture sensible. L'agronome doit donc identifier précisément les groupes et sous-groupes AG du *R. solani* présents dans un sol afin de recommander des cultures résistantes ou de proposer des moyens de lutte efficaces.

Les groupes et sous-groupes AG se distinguent par des variations au sein d'une séquence d'un gène du *R. solani*. La méthode PCR-SSCP permet d'amplifier la séquence et de détecter les diverses variantes de la séquence par l'analyse du profil électrophorétique des simples brins amplifiés.

## Amplification PCR

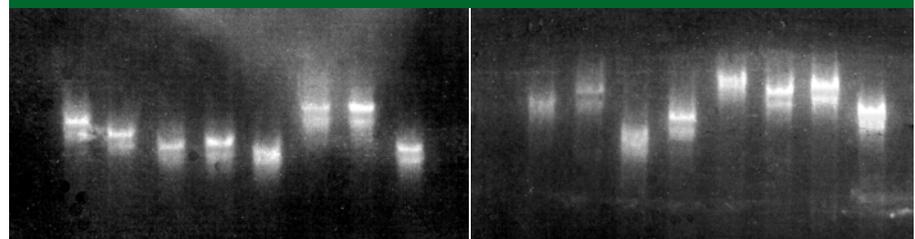
Les groupes et sous-groupes du *R. solani* sont isolés du sol par culture sur une gélose sélective. Les doubles brins d'ADN génomique de chaque champignon isolé sont ensuite extraits pour être amplifiés. La première étape de la méthode PCR (*Polymerase Chain Reaction*), la dénaturation, consiste à séparer les doubles brins en augmentant la température du milieu réactionnel à 95°C. Lors de l'étape d'appariement, la température est abaissée rapidement à 55°C pour permettre aux amorces de se fixer aux simples brins. Les amorces sont de courtes séquences d'ADN complémentaires à la séquence du gène spécifique au *R. solani*. Enfin lors de l'étape d'élongation, la température est haussée à 72°C pour permettre la synthèse des brins complémentaires par les polymérases présentes

dans le milieu réactionnel. Ces trois étapes représentent un cycle d'amplification PCR, qui peut être répété autant de fois que nécessaire. Après 30 à 40 cycles, la séquence génétique qui permet l'identification spécifique du groupe ou sous-groupe est multipliée exponentiellement par un facteur de plus d'un milliard.

## La méthode PCR-SSCP

Les produits ADN double brins amplifiés par PCR sont dénaturés en simples brins, qui seront séparés par électrophorèse en gel d'acrylamide grâce à un courant électrique. Les profils des simples brins sont colorés par fluorescence et comparés à une collection photodocumentée de profils. L'analyse du profil permet d'identifier précisément chaque groupe et sous-groupe AG isolé du sol.

## Séparation des simples brins par électrophorèse sur gel d'acrylamide selon la méthode SSCP



no. AGs : 1-A 1-B 1-C 2-1 2-2 3-P 3-T 4-1

4-2 5 6 7 8 9-P 9-X 10

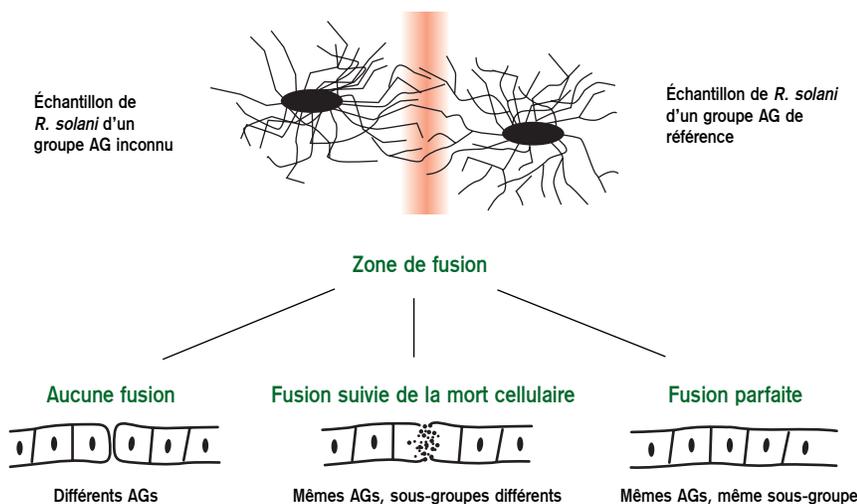
## *R. solani* est l'espèce la plus importante du genre *Rhizoctonia*

Croissance du *R. solani* sur géloseVue microscopique du champignon *R. solani*Sclérotos de *R. solani* sur pomme de terre

### Ancienne méthode d'identification du champignon

La méthode traditionnelle d'identification des groupes anastomotiques implique la préparation et l'examen microscopique de plus d'une douzaine de lamelles. Chaque lamelle contient l'échantillon inconnu et un échantillon de référence. Pour identifier de façon précise le groupe AG de *R. solani*, il faut obtenir une fusion parfaite dans la zone de fusion, ce qui est long, fastidieux et coûteux en main d'œuvre spécialisée.

#### Examen microscopique d'une lamelle montrant la fusion entre l'échantillon inconnu et celui de référence



**Au Québec, le groupe anastomotique AG-3 est l'agent causal de la rhizoctonie de la pomme de terre.**

### Autres bénéfices de la méthode PCR-SSCP en agroenvironnement

- La méthode PCR-SSCP est utilisée pour analyser les profils distinctifs des espèces de champignons *Phytophthora* et *Pythium* pathogènes de plusieurs cultures fruitières et maraîchères.
- La méthode PCR-SSCP sert aussi à identifier rapidement plusieurs espèces de bactéries et champignons bénéfiques, dont les champignons endomycorhiziens qui colonisent les racines et qui jouent un rôle primordial en matière de fertilisation et de résistance des plantes. Une meilleure connaissance de la vie microbienne présente dans nos sols permet de mieux définir les besoins des cultures, et ainsi d'améliorer la gestion des intrants.

### Réalisation et financement



Institut de recherche  
et de développement  
en agroenvironnement



Centre de recherche  
forestière des Laurentides



Agriculture et  
Agroalimentaire Canada



Agriculture and  
Agri-Food Canada



McGill



UNIVERSITÉ  
LAVAL

Ce document a été produit grâce au soutien de :



Agriculture, Pêcheries  
et Alimentation  
Québec



Agriculture et  
Agroalimentaire Canada



Agriculture and  
Agri-Food Canada

**Pour en savoir davantage**

**Richard Hogue, biologiste, Ph. D**

418 644-6744

richard.hogue@irda.qc.ca

**irda**

www.irda.qc.ca