

Effet d'un thé de compost sur le développement du mildiou dans un vignoble en mode biologique

Rapport final (préliminaire)

Janvier 2020

Équipe du projet

Charlotte Giard-Laliberté, agr., M.Sc., CETAB+ (giard-laliberte.charlotte@cegepvicto.ca)
Gilles Gagné, agr., M.Sc., CETAB+ (gagne.gilles@cegepvicto.ca)
Caroline Dufour-L'Arrivée, agr., biologiste, M.Sc., Agriculture Vivante (caroline@agriculturevivante.com)

Yan Chamberland, viticulteur, Vignoble Maurice Dufour (yanherbes@hotmail.com)

Coordination et réalisation

Centre d'expertise et de transfert en agriculture biologique et de proximité (CETAB+) du Cégep de Victoriaville et Agriculture vivante





Collaborateur

Laboratoire d'écologie microbienne (LEM) de l'Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA)



Projet

Effet d'un thé de compost sur le développement du mildiou dans un vignoble en mode biologique

Financement

Programme Subvention d'engagement partenarial du Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada



Note : Ce rapport est la propriété exclusive du Vignoble Maurice Dufour. Aucune diffusion n'est autorisée sans l'accord écrit d'un représentant autorisé du Vignoble Maurice Dufour.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	1
INTRODUCTION	1
MÉTHODOLOGIE	2
Observations au microscope	5
Analyses métagénomiques	5
Analyses statistiques	5
RÉSULTATS ET DISCUSSION	5
Analyses physico-chimiques	5
Observations au microscope	6
Analyses métagénomiques	6
CONCLUSION	16
BIBLIOGRAPHIE	17
ANNEXES	18

LISTE DES TABLEAUX

selon la période d'échantillonnage......15

RÉSUMÉ

Le Vignoble Maurice Dufour de Baie-Saint-Paul cultive plusieurs cépages en mode biologique destinés à la production de vin. Dans ce vignoble, le mildiou (Plasmopara viticola) est la principale maladie fongique retrouvée dans les vignes (Carisse et al., 2009). En mode biologique, il y a peu de fongicides autorisés et les produits à base de cuivre sont les plus utilisés. Des alternatives à ce traitement sont requises afin de ne pas générer de résistance et d'éviter les effets nuisibles du cuivre sur les sols, les vignes et les produits issus de celles-ci. L'entreprise expérimente (essais maison) depuis quelques années, en complément ou en alternative au cuivre, un extrait liquide aéré d'un compost maison (un thé de compost) appliqué en aspersion sur les pieds de vigne. Cette technique est de plus en plus reconnue dans la littérature pour ses effets positifs sur la réduction et le contrôle de maladies selon des mécanismes d'action en lien avec l'activité microbiologique engendrée. L'entreprise désirait obtenir des données scientifiques afin d'optimiser et de standardiser son utilisation de ce produit. Ce projet a permis d'expérimenter un traitement de thé de compost en alternative au programme habituel de lutte phytosanitaire avec le cuivre. Des analyses microbiologiques du thé de compost généré ont été effectuées au microscope et avec séquençage métagénomique. À différents moments, avant et après les traitements, des analyses métagénomiques des organismes microbiologiques présents sur et dans les feuilles de la vigne et des dépistages du mildiou (présence et abondance) ont permis de mesurer l'effet et l'efficacité des applications.

INTRODUCTION

Le cuivre demeure l'élément le plus utilisé, principalement sous forme de sulfate de cuivre (bouillie bordelaise) ou d'hydroxyde de cuivre (fongicide Parasol WG), pour lutter contre les maladies fongiques dans les vignes en mode biologique. Le cuivre est efficace surtout en prévention et ne permet pas un contrôle total du mildiou (Yan Chamberland, Vignoble Maurice Dufour, comm. pers.). Aussi, des cas de résistance ont été démontrés (Jaccometti et al. 2009). L'utilisation du cuivre devient de plus en plus restreinte en raison de son profil écotoxique (Jamar et Lateur, 2007). Son accumulation dans les sols entraîne de la phytotoxicité et une diminution de l'activité biologique du sol. De plus, les résidus de cuivre sur les raisins nuiraient aux qualités organoleptiques des vins (Jaccometti et al., 2009). Les viticulteurs biologiques recherchent donc des alternatives au cuivre. L'hypothèse est qu'un thé de compost bien préparé et bien appliqué a un effet fongicide mesurable contre le mildiou, sans effet néfaste sur la vigne. Au Vignoble Maurice Dufour, le thé de compost utilisé semblait pouvoir offrir les résultats recherchés. Appliquées par aspersion foliaire, les vignes ainsi traitées semblaient moins affectées par le mildiou. On et al. (2015) rapportent que les antagonistes microbiens bénéfiques contenus dans le thé de compost sont reconnus pour contrôler les pathogènes des plantes selon divers mécanismes. Ils peuvent agir en compétitionnant avec ceux-ci pour les nutriments et/ou l'espace, par parasitisme envers les pathogènes, en induisant une résistance systémique aux plantes et/ou en produisant des composés antibiotiques. De plus, selon Al-Mughrabi (2006), le thé de compost apporte des nutriments assimilables par la plante, augmente la fertilité du sol, accroît la nutrition de la plante et sa vigueur et améliore son système immunitaire. Les caractéristiques chimiques et biologiques d'un thé de compost peuvent varier selon les intrants et la méthode de fabrication utilisés. Ces caractéristiques n'étant pas mesurées au Vignoble Maurice Dufour, il est difficile d'établir scientifiquement un lien entre son application, la quantité et la diversité des microorganismes retrouvés sur les feuilles et le niveau d'infestation par le mildiou selon les conditions météorologiques (Evans et al. 2013). Cependant, des protocoles existent pour la préparation optimale du thé de compost et sa caractérisation (Ingham, 2005). De plus, les analyses métagénomiques maintenant disponibles permettent d'avoir une caractérisation détaillée des microorganismes présents (groupes et abondance des bactéries et des champignons) dans le thé de compost et sur les feuilles à la suite de son application afin de les relier à l'incidence du mildiou.

MÉTHODOLOGIE

Les objectifs du projet sont 1) de déterminer si les microorganismes inoculés à la suite de l'application du thé de compost réussissent à coloniser la feuille et à persister dans le temps et 2) de mesurer l'efficacité de l'application d'un thé de compost contre l'infestation de la vigne par le mildiou. Les données recueillies par ce projet seront notamment utilisées par le viticulteur afin d'optimiser sa régie de fabrication et de pulvérisation de thé de compost.

VERMICOMPOST

Afin de limiter la variabilité, le thé de compost a été préparé à partir d'un compost commercial reconnu pour sa qualité et sa stabilité comparativement à un compost de ferme, soit le vermicompost de la ferme Eugénia. L'experte-conseil Caroline Dufour-L'Arrivée d'Agriculture vivante associée au projet avait eu quelques expériences positives avec ce vermicompost et en a recommandé l'usage. Le viticulteur avait aussi déjà utilisé cette marque de vermicompost. Le vermicompost a été analysé au microscope pour évaluer l'abondance et la diversité des microorganismes (annexe 4) et il a aussi été analysé pour obtenir des propriétés physico-chimiques standard (laboratoire agricole AgroEnviroLab, annexe 3) et pour des données métagénomiques (Laboratoire d'écologie microbienne (LEM) de l'IRDA, annexe 5). Notons que le vermicompost utilisé n'était pas « frais », il a été acheté en sac chez un distributeur de la région de Québec.

Préparation du thé de compost

Le thé de compost a été préparé dans des réservoirs 1000 litres (L) avec une proportion compost : eau 1 : 20 (vol : vol) le 2 août 2019. Vingt litres de vermicompost ont été mis dans un filtre et immergés dans 400 litres d'eau (voir Images 1 et 2), cela constituait la recette de base. Trois variantes de cette recette contenant donc la même proportion vermicompost : eau, mais avec des adjuvants ont été testées pour leur diversité microbienne avec des analyses au microscope (annexe 4). Les trois recettes avec adjuvants consistaient à l'ajout de : 1) deux litres d'algues (marque Acadie) et trois litres de mélasse, 2) deux litres d'algues et 3) deux litres d'algues et vingt litres de lactosérum. La recette 1) est celle qui a été utilisée pour l'application foliaire sur les plants de vigne. Le brassage du thé s'est déroulé en conditions aérobiques, tel que recommandé par différents auteurs (Scheuerell et Mahaffey, 2002; Ingham, 2005, St. Martin et Brathwaite, 2012; Evans et al., 2013), afin de créer un milieu non propice au développement des pathogènes fécaux, de réduire la phytotoxicité potentielle et de produire une

grande biomasse et diversité de microorganismes. Une période de 72 heures a été retenue pour l'étape de brassage, à la suite de laquelle nous avons procédé à la pulvérisation sur les plants de vigne ainsi qu'à l'échantillonnage du thé appliqué. Les thés de compost résultant des trois recettes ont été analysés au microscope tandis que le thé de compost obtenu de la recette 1) a été transmis pour analyses métagénomiques et analyses physico-chimiques.

APPLICATION DU THÉ DE COMPOST

Un des champs de vignes de l'entreprise avec des caractéristiques agropédologiques homogènes (un loam sableux en surface, un sable en profondeur, un podzol humo-ferrique) et un cépage sensible au mildiou (cépage Muskat) avait au préalable été ciblé par l'entreprise. Ce champ est constitué de 11 rangées de pieds (plants) de vignes espacées de 2,6 mètres. Il y a environ 150 pieds de vigne par rangée et ceux-ci sont espacés d'un peu plus d'un mètre. L'application de thé de compost a été effectuée entre les rangées 5 et 6 et entre les rangées 9 et 10 (voir figure 1). Afin d'éviter l'effet bordure, les 25 premiers pieds et les 25 derniers pieds de vigne des rangées ont été exclus, les traitements ont donc été effectués sur environ 25 pieds de vigne (101-Traité, 102-Non traité, 201-traité, 202-Non traité, 301-Non traité et 302-Traité, 401-Non traité et 402-Traité). Les longueurs pour chaque traitement étaient en moyenne de 35 mètres, les applications ont donc été effectuées sur une longueur totale de 140 mètres.

Une application de bouillie bordelaise a été réalisée avant l'application du thé de compost sur toutes les parcelles, ce afin de respecter la régie de culture habituelle du vignoble.

Pour l'application, le thé de compost a été dilué selon une proportion thé de compost : eau de 1 : 1. Le thé de compost a été appliqué avec le pulvérisateur à deux rampes du vignoble le 5 août 2019. Le pulvérisateur était calibré pour un taux d'application de 600 L/ha, la dose normalement utilisée. En pratique, la dose appliquée a été de 0.44 L/mètre linéaire, soit 0.22 L/mètre linéaire de pieds de vigne. Puisqu'il ventait lors de la pulvérisation, il est possible que cela ait pu diminuer ou faire varier l'efficacité de l'application, soit la quantité de liquide ayant été en mesure d'atteindre les feuilles. Le dispositif expérimental utilisé pour la pulvérisation est présenté dans la figure 1. Le dispositif était composé de deux traitements, soit les parcelles traitées avec le thé de compost (T) et les parcelles témoins non traitées (NT). Chaque traitement a été répété 4 fois et les répétitions étaient réparties sur 2 allées, soit sur 4 rangées de vignes.

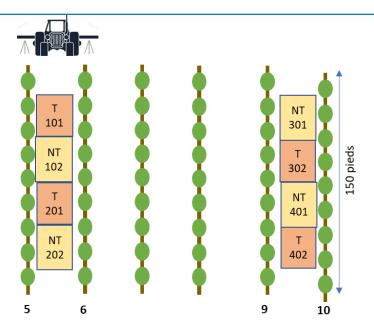


Figure 1. Dispositif expérimental en champ pour l'application du thé de compost

ÉCHANTILLONNAGE FOLIAIRE

L'objectif principal du projet de recherche était de suivre dans le temps l'effet d'une pulvérisation de thé de compost sur la communauté microbienne présente sur et dans les feuilles de vigne. Au départ, il était prévu d'effectuer des analyses métagénomiques avec des feuilles de vigne selon trois temps d'échantillonnage pour chacune des 8 sections (24 analyses) puisque c'était le nombre maximal d'analyses métagénomiques possibles selon le budget du projet. Cependant, le viticulteur a préféré soustraire une des répétitions pour ajouter un quatrième temps d'échantillonnage. Ainsi, l'échantillonnage des feuilles de vigne a été effectué, dans les parcelles traitées 101, 201 et 302 et non traitées 102, 202 et 301, 2 heures avant l'application du thé de compost et ensuite 2 heures, 1 jour et 4 jours après l'application (notons que dans le rapport du LEM, il est mentionné 1 heure avant pulvérisation alors que ce fût 2 heures avant pulvérisation). Vingt-cinq à trente feuilles de vigne ont été échantillonnées au hasard en alternance sur les plants situés de chaque côté des allées où l'application a eu lieu et ce pour chacun des traitements. Les premiers et derniers 4.5 mètres de chacun des traitements n'ont pas fait l'objet de cet échantillonnage afin d'éviter l'effet d'une dispersion de l'application du thé de compost. Les feuilles échantillonnées de chaque traitement, prélevées avec des gants de caoutchouc préalablement stérilisés à l'alcool 70%, ont été placées dans un sac ziplock, conservées au frais dans une glacière ou au réfrigérateur et amenés directement au Laboratoire d'écologie microbienne (LEM) de l'IRDA de Québec pour analyses métagénomiques dans un délai maximum de 2 à 3 heures (pour les échantillonnages 2 heures avant l'application et 1 jour et 4 jours après l'application) ou de 26 heures (pour l'échantillonnage 2 heures post-application).

SUIVI POST-PULVÉRISATION

Un dépistage des maladies de la vigne, particulièrement le mildiou, a été réalisé par l'entreprise partenaire.

Observations au microscope

Les observations au microscope ont été réalisées par Caroline Dufour-L'Arrivée. La section Résultats du présent rapport concernant ses analyses au microscope est un résumé du rapport produit par Mme Dufour-L'Arrivée (annexe 4). Selon sa méthodologie, l'observation au microscope permet de différencier un compost et un thé de compost selon une échelle de catégorie de qualité. Les différentes catégories de qualité sont : mauvaise, pauvre, acceptable, bon, très bon et excellent. Un balayage au microscope à l'échelle 10-100X permet de noter la présence de nématodes tandis que l'observation à l'échelle 400X permet de faire le décompte et d'identifier certains types de bactéries selon la forme de la cellule, certains types de champignons selon la forme et la couleur des hyphes, ainsi que certains protozoaires. Au total, 20 zones par échantillon sont sélectionnées au hasard pour l'observation à 400X. L'observation au microscope permet aussi d'évaluer le ratio bactérie : champignon.

Les observations au microscope sont utilisées par Mme Dufour-L'Arrivée comme outil de conseil agronomique auprès des entreprises agricoles afin d'observer la qualité des composts utilisés et des thés de compost et de déterminer lorsque le thé de compost est prêt pour application et les doses d'application.

Analyses métagénomiques

En bref, un échantillon composite de vermicompost et un échantillon composite de thé de compost ont été congelés et envoyés au Laboratoire d'écologie microbienne (LEM) de l'IRDA pour analyse métagénomique de l'amplicon 16S (bactéries) et ITS (champignons) alors qu'un carré de 2.4 cm x 2.4 cm (5.76 cm²) sur chacune des feuilles échantillonnées par traitement a été découpé, l'ensemble de ces carrés constituant l'échantillon composite. La préparation des librairies d'amplicons et l'analyse bio-informatique des séquences ont été réalisées au LEM alors que le séquençage Illumina MiSeq 2x300 bp a été réalisé par la Plateforme d'analyses génomiques de l'Institut de biologie intégrative et des systèmes (IBIS) de l'Université Laval. Le rapport final de l'IRDA présente plus de détails sur les protocoles (annexe 5).

Analyses statistiques

Quelques analyses statistiques ont été menées par le CETAB+ sur les données des analyses métagénomiques afin de déterminer si les différences observées étaient significatives ou non. Les données ont été analysées sur la plateforme R, avec des tests ANOVA lorsque possible.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

CARACTÉRISATION DU VERMICOMPOST ET DU THÉ DE COMPOST

Analyses physico-chimiques

Tableau 1. Résultats principaux des analyses physico-chimiques pour le vermicompost et le thé de compost

Date échantillonnage	Traitement	Mat. org.(%)	C/N	N tot. (kg/t)	N- NH ₄ (kg/t)	N- NO₃ (ppm)	P ₂ O ₅ (kg/t)	K₂0 (kg/t)	рН
2 août	Vermicompost	22,6	17,2	6,6	0,19		3,5	3,9	

5 août	Thé de	0,2	13,1	<0,1	0,07	0,3	<0,1	0,2	5,1
	compost								

Les résultats des analyses physico-chimiques du vermicompost ont montré des valeurs d'un compost riche en azote organique alors que ceux du thé de compost démontrent la dilution d'éléments à la suite de sa fabrication (voir annexe 3 pour plus de détails).

Observations au microscope

Le vermicompost utilisé pour la production du thé a été classé comme étant de qualité «pauvre» par Mme Dufour-L'Arrivée à la suite de ses observations au microscope. Entre autres critères, le vermicompost manquait de diversité et de richesse autant au niveau des bactéries que des champignons et des nématodes en plus d'être pauvre en acide humique, cependant il démontrait un potentiel (source d'inoculent) pour les bactéries et les fongiques. Quant au thé de compost utilisé pour l'application foliaire, soit celui avec ajout de mélasse et d'algues, sa qualité finale au moment de la pulvérisation a aussi été décrite comme «pauvre». Selon Mme Dufour-L'Arrivée, il aurait été préférable de brasser le thé plus longtemps avant son application. Le potentiel de produire un thé de compost de qualité était toutefois limité par la piètre qualité microbiologique du vermicompost initial, d'où l'importance, et la difficulté, de trouver un compost de qualité pour la production d'un thé de compost riche et équilibré. Le rapport final d'Agriculture vivante contient plus de détails concernant les observations au microscope (annexe 4).

Analyses métagénomiques

Avant de discuter des résultats des analyses métagénomiques, quelques définitions sur les indicateurs et unités de mesure utilisés dans ce type d'analyse s'imposent. L'abondance absolue (Tableau 2) est mesurée par PCR quantitative, une méthode utilisant l'enzyme polymérase afin d'amplifier un gène spécifique pour en quantifier la quantité initiale dans un échantillon donné. Dans notre cas, la région amplifiée pour les bactéries était l'ADNr 16S, région faisant partie du ribosome, tandis que la région ITS a été amplifiée pour les champignons. L'abondance absolue est donc représentée en nombre d'unité d'amplification par gramme de sol sec (UA/g sol sec). L'indice Shannon (Tableau 3) est une mesure de la richesse spécifique dans un échantillon donné prenant en compte le nombre d'espèces différentes au sein de l'échantillon et l'équitabilité spécifique, soit l'abondance de chaque espèce. L'indice Chao1 est un autre indice de diversité similaire à l'indice Shannon. Sans entrer dans les détails, on peut simplement mentionner qu'il est toujours intéressant d'obtenir les résultats de plus d'un indice de diversité, afin de valider nos observations.

D'abord, on peut observer au Tableau 2 que la quantité de microorganismes présents dans le vermicompost est nettement supérieure à celle dans le thé de compost, d'un ordre de 10² pour les bactéries et de 10³ pour les champignons (1 ml = 1 g). Il est normal que le processus de dilution 1/20 amène une diminution de la quantité totale de microorganismes. Il aurait été intéressant de refaire une quantification après quelques jours supplémentaires d'aération pour voir si cela engendrait une augmentation importante du nombre de microorganismes présents. On peut présumer toutefois que plusieurs des microorganismes vivants dans le vermicompost, tels que les hyphes des champignons filamenteux, ne sont pas adaptés pour survivre en solution et en condition de brassage actif. Ramené sur une base identique (nanogramme/gramme sec), le thé contient 1000 fois moins d'ADN que le vermicompost.

On observe un scénario similaire dans le Tableau 3. Les indices de diversité bactérienne Shannon et Chao1 sont en effet plus élevé pour le vermicompost que pour le thé de compost. Cela signifie qu'il y a plus d'espèces différentes présentes et que celles-ci sont plus abondantes dans le vermicompost en comparaison au thé de compost. Pour les champignons, la différence entre le vermicompost et le thé de compost est moins nette, avec une valeur presque identique pour l'indice Shannon et une valeur supérieure de l'indice Chao1 pour le vermicompost. Cela pourrait donc signifier que l'étape de production du thé n'a pas mené à l'élimination d'espèces fongiques spécifiques, bien que la quantité totale de champignons soit moindre dans le thé en comparaison au vermicompost (Tableau 2). Le rapport final du LEM de l'IRDA présente davantage d'informations (annexe 5).

Tableau 2. Quantification des bactéries et des champignons totaux

Traitement	Bactéries totales	Champignons totaux	ADN total
Vermicompost	2,11 x 10 ¹⁰ UA/ g sec	3,35 x 10 ⁸ UA/ g sec	1,30 x 10 ⁵ ng/g sec
Thé de compost	3,24 x 10 ⁸ UA/ml	2,94 x 10⁵ UA/ml	5,19 x 10 ² ng/g sec

Tableau 3. Diversité et richesse microbienne

	Bact	éries	Champignons		
Traitement	Shannon	Chao1	Shannon	Chao1	
Vermicompost	5,45	484,43	4,43	142,25	
Thé de compost	2,51	92,14	4,42	116,00	

Effet du thé de compost sur la communauté microbienne des feuilles de vigne

Le Tableau 4 présente les résultats du décompte moyen, pour les trois répétitions de chaque traitement, des bactéries et champignons totaux présent sur les feuilles aux quatre moments d'échantillonnage. On constate qu'il y a une légère augmentation du nombre de bactéries totales 2h après la pulvérisation en comparaison à 2h avant la pulvérisation pour les parcelles traitées. Le décompte augmente en effet entre chaque période d'échantillonnage, sauf entre 2h et 1 jour après la pulvérisation. La situation est toutefois assez similaire pour les parcelles non traitées, ce qui laisse présager que l'effet n'est peut-être pas dû à l'application de thé de compost. De plus, les différences de moyenne entre les parcelles traitées et non traitées ne sont pas statistiquement différentes, pour aucune des périodes d'échantillonnage. On observe un portrait semblable pour ce qui est des champignons totaux. Le décompte augmente en effet 2h après la pulvérisation pour les parcelles traitées et non traitées et continue d'augmenter faiblement entre les périodes subséquentes d'échantillonnage, soit 1 jour et 4 jours après. Comme il n'y a pas de différence entre les parcelles traitées et non traitées, nous ne pouvons pas dire hors de tout doute que l'application du thé de compost a eu un effet sur la communauté microbienne présente sur les feuilles. Il est aussi possible qu'en raison des vents lors de la pulvérisation, certaines des parcelles non traitées aient été inoculées par du thé de compost. L'augmentation légère du nombre total de bactéries et de champignons pourrait aussi être due à un facteur extérieur, tel que les conditions climatiques. Il faut également noter que selon le viticulteur une précipitation de 23 mm a eu lieu le 3^e jour suivant l'application, ce qui peut avoir influencé la persistance de l'effet de l'application du thé de compost.

Tableau 4. Quantification moyenne des bactéries et champignons des échantillons foliaires

Période	Traitement	Bactéries totales (UA/cm² de tissus)	Champignons totaux (UA/cm² de tissus)
2 h	Non-traité	4,63 x 10 ⁶	1,14 x 10 ⁴
avant	Traité	4,32 x 10 ⁶	1,07 x 10 ⁴
2 h	Non-traité	4,86 x 10 ⁶	1,69 x 10 ⁴
après	Traité	5,80 x 10 ⁶	2,12 x 10 ⁴
1 jour	Non-traité	6,55 x 10 ⁶	1,90 x 10 ⁴
après	Traité	5,52 x 10 ⁶	2,29 x 10 ⁴
4 jours	Non-traité	8,34 x 10 ⁶	3,36 x 10 ⁴
après	Traité	6,49 x 10 ⁶	3,44 x 10 ⁴

La variation dans le temps de la diversité microbienne sur les feuilles de vigne est représentée à la Figure 2. Ainsi, on observe une large augmentation de la diversité bactérienne sur les feuilles 2h après la pulvérisation. Cette diversité diminue légèrement après 1 jour, mais reste tout de même supérieure à celle sur les feuilles non traitées. Après 4 jours, la diversité bactérienne sur les feuilles traitées semble revenir à un niveau similaire à celui des feuilles non traitées. Cela pourrait être expliqué par le fait qu'une grande diversité de bactéries est inoculée sur les feuilles par l'application de thé de compost, mais qu'une majorité des microorganismes inoculés ne survivent pas longtemps sur les feuilles et qu'après 4 jours, la diversité bactérienne revient au point initial d'avant la pulvérisation, d'autant plus qu'une pluie est survenue au 3° jour après l'application. Pour les champignons, le portrait est similaire quoique la distance entre les médianes (représentées par les lignes au milieu des boîtes) entre les parcelles traitées et les parcelles non traitées est moins grande que pour les bactéries, nous laissant présumer que le thé de compost a peut-être eu moins d'effet sur la communauté fongique présentesur les feuilles.

Les données des indices de diversité alpha ont aussi été analysées statistiquement. En résumé, pour les bactéries, on observe que l'effet du traitement (traité ou non traité au thé de compost) et du moment d'échantillonnage est généralement significatif pour l'ensemble des indices de diversité alpha mentionnés dans le rapport LEM, dont l'indice Shannon. Pour les champignons, on observe que le moment d'échantillonnage est en général significatif, mais pas le traitement. Cependant, pour les bactéries et les champignons, aucune différence entre les parcelles traitées et non traitées n'est statistiquement différente à l'intérieur d'un même moment d'échantillonnage. Possiblement qu'un plus grand nombre de répétitions des traitements aurait permis d'observer des différences statistiquement différentes, 2 heures après la pulvérisation par exemple.

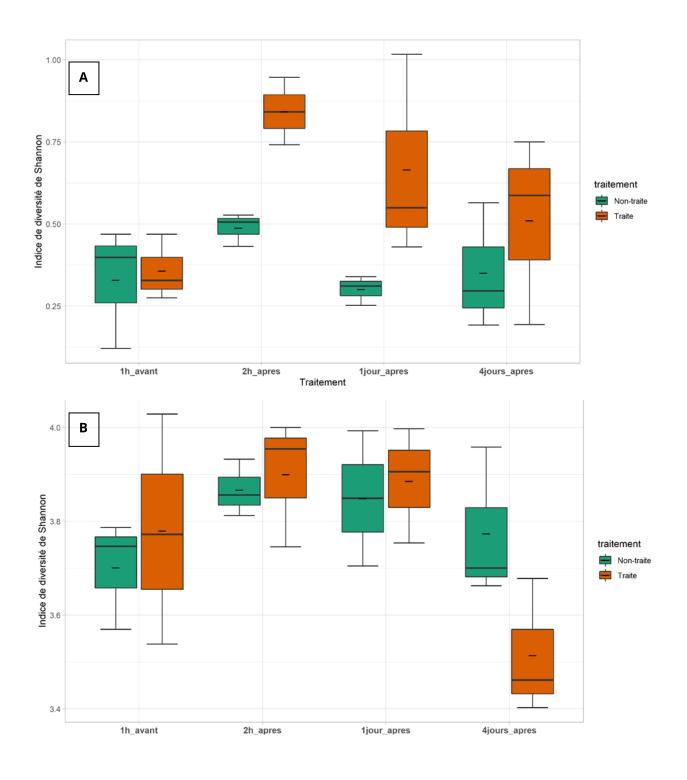


Figure 2. Boîtes à moustache représentant la diversité alpha avec l'indice de Shannon pour les bactéries (A) et les champignons (B) des échantillons foliaires (traité/ non traité) dans le temps.

Les figures 3, 4, 5 et 6 des pages suivantes présentent le profil taxonomique au niveau du phylum et au

niveau de l'ordre. L'image 1 ci-dessous a été ajoutée simplement pour aider à se situer lorsqu'on parle de phylum ou d'embranchement et d'ordre.

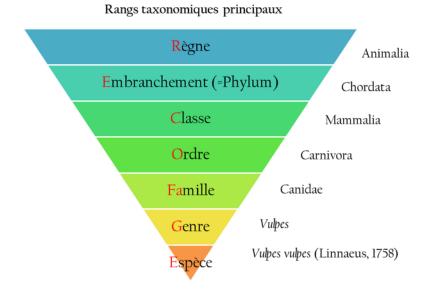


Image 1. Les principaux rangs taxonomiques (https://curieusenature.wordpress.com/2017/03/16/nom-despece-et-classification/)

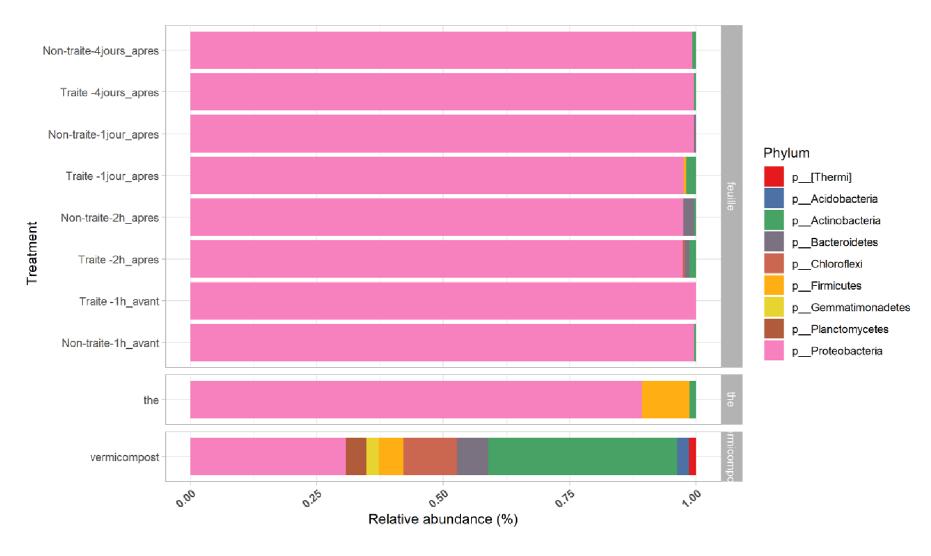


Figure 3. Abondance relative des principaux embranchements (phylum) bactériens détectés dans le vermicompost et le thé de compost et sur les feuilles de vigne selon la période d'échantillonnage.

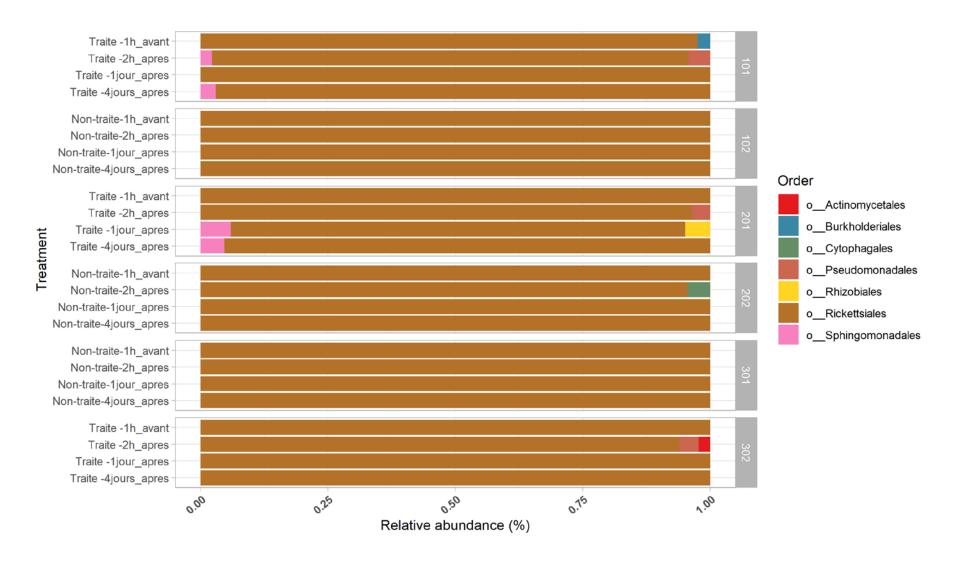


Figure 4. Abondance relative des principaux ordres bactériens détectés sur les feuilles de vigne selon la période d'échantillonnage.

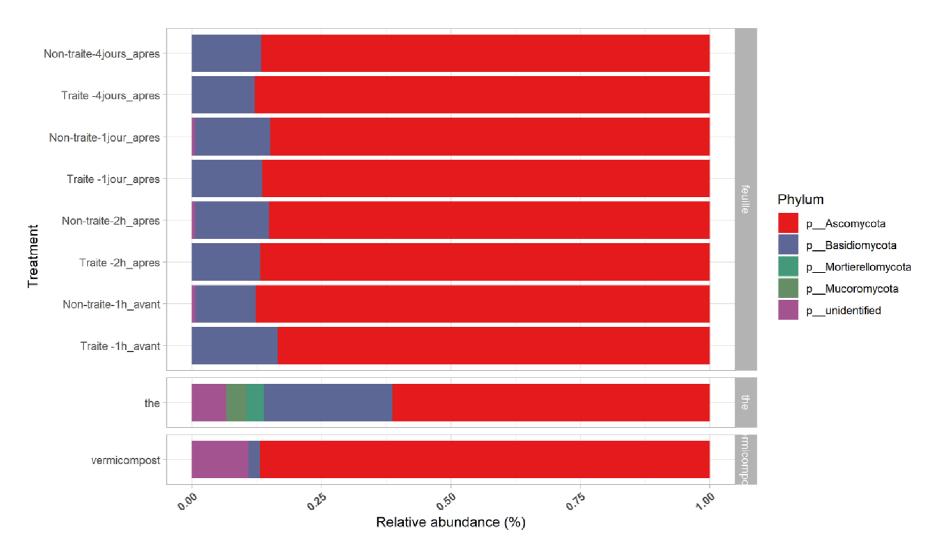


Figure 5. Abondance relative des principaux embranchements (phylum) fongiques détectés dans le vermicompost et le thé de compost et sur les feuilles de vigne selon la période d'échantillonnage.

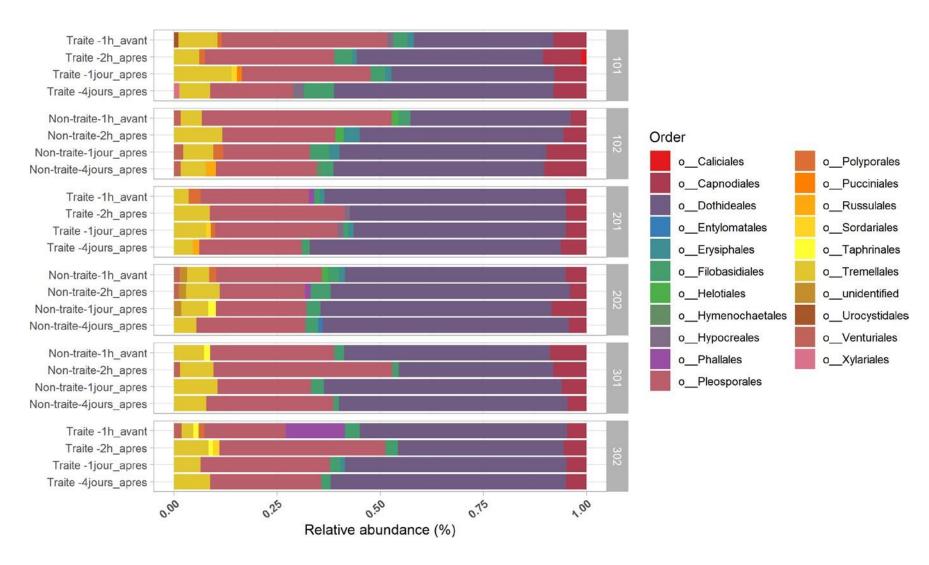


Figure 6. Abondance relative des principaux ordres fongiques détectés sur les feuilles de vigne selon la période d'échantillonnage.

On peut donc comparer la composition microbienne du vermicompost et du thé de compost avec la Figure 3 (embranchements bactériens) et la Figure 5 (embranchements fongiques). Au niveau bactérien, le vermicompost possédait une large diversité d'embranchements (présents à plus de 1%), soit plus de neuf en comparaison au thé de compost où l'on retrouve seulement trois embranchements. Cela concorde avec les résultats des indices de diversité, moins élevés pour le thé que pour le vermicompost. On peut donc dire que l'étape de production du thé de compost a mené à l'élimination de plusieurs larges catégories (embranchements) de bactéries. Cependant, la situation est inversée pour ce qui est des champignons (Figure 5). Ainsi, le vermicompost est composé de trois embranchements contre cinq pour le thé de compost. Ces deux nouveaux embranchements, Mortierellomycota et Mucoromycota étaient très probablement présents à moins de 1% dans le vermicompost initial, ou alors présents sous forme de spores dans l'air ambiant ou sur les cuves lors de la fabrication du thé.

Le profil taxonomique des espèces microbiennes au niveau de l'ordre selon le traitement et dans le temps est présenté aux Figures 4 et 6. On peut ainsi observer à la Figure 4 que presque 100% des bactéries présentes sur les feuilles étaient soient de l'ordre Rickettsiales, avec certains échantillons traités contenant des bactéries de l'ordre Sphingomonadales. L'ordre Rickettsiales semble contenir principalement des bactéries ne pouvant survivre qu'en symbiose avec un organisme supérieur tel qu'une plante. Quelques maladies de la vigne sont causées par des bactéries appartenant à l'ordre Rickettsia, les rickettsioses, comme la maladie de Pierce. L'ordre Sphingomonadales, qui a très probablement été inoculé par le thé de compost, contient des espèces souvent retrouvées dans les racines des plantes. Cet ordre ne semble pas souvent être retrouvé sur les feuilles des plantes, on peut donc penser que les microorganismes de cet ordre ne survivront pas très longtemps sur les feuilles.

Soulignons que pour les trois échantillons composites de feuilles traités avec le thé de compost et prélevés 2 heures après la pulvérisation, des bactéries de l'ordre *Pseudomonadales* étaient présentes alors qu'elles n'étaient pas présentes selon l'abondance relative avant l'application. L'ordre Pseudomonales est bien connu puisqu'il contient à la fois des bactéries identifiées comme pathogènes que des bactéries bénéfiques pour la plante (Pieterse et al., 2014). Certaines espèces de bactéries de l'ordre Pseudomonales, telle que *Pseudonomas syringae*, un modèle en recherche, peuvent agir à la fois autant comme pathogène que comme microorganisme bénéfique, un exemple démontrant la complexité du monde microbien et des interactions plantes-microbes (Passera et al., 2019). En résumé, il semble y avoir quelques différences entre les parcelles traitées et non traitées, mais celles- ci se résorbent une journée après le traitement. Notons également que le rapport du LEM (annexe 5, page 11) souligne que pour le moment d'échantillonnage 2 heures après l'application les communautés bactériennes contenues dans les feuilles traitées sont plus diversifiées que dans celles non traitées, mais que cet effet s'estompe pour les moments d'échantillonnage subséquents.

Concernant les champignons, la Figure 6 illustre les principaux ordres présents sur les feuilles. On observe qu'un ordre est présent exclusivement sur les feuilles traitées, l'ordre Sordariales. Il semblerait été inoculée sur les feuilles par le thé de compost, il a été détecté en grand nombre (plus de 1%

d'abondance relative) 1 jour après la pulvérisation pour les parcelles 101 et 201 et 2 heures après la pulvérisation pour la parcelle 301. Sinon, ce sont les ordres Dothideales, Pleosporales, Tremellales, Capnodiales qui sont les plus abondants. L'ordre Dothideales fait partie des ascomycètes et est composé de champignons filamenteux. Toute une gamme de champignons de l'ordre Dothideales sont associés aux plantes, soit comme pathogène, endophyte ou saprotrophe. L'ordre Pleosporales contient aussi des microorganismes associés aux plantes le plus souvent comme pathogène. Certains champignons de l'ordre Tremellales vivent dans le sol et sont saprotrophes tandis que d'autres vivent sur les plantes, parfois comme pathogènes. Les champignons de l'ordre Capnodiales sont des ascomycètes et forment parfois ce qu'on appelle de la fumagine, des résidus noirs d'hyphes. Ils se nourrissent de matières excrétées par les insectes ou par les plantes (exsudats).

EFFET DU THÉ DE COMPOST DANS LE CONTRÔLE DU MILDIOU

Il n'y a eu aucune présence majeure de mildiou, donc nous n'avons pas pu évaluer cet effet.

CONCLUSION

En conclusion, avec la dose utilisée, l'application du thé de compost semble avoir eu un léger effet sur la diversité microbienne retrouvée sur et dans les feuilles de vigne. La diversité, soit le nombre d'espèces présentes et leur abondance, a augmenté 2h après l'application, ce principalement au niveau des bactéries. Cet effet semble s'être maintenu après 1 journée, mais après 4 jours l'effet était résorbé et la diversité microbienne des feuilles traitées est revenue au niveau des feuilles non traitées. Notons cependant qu'une pluie de 23 mm a eu lieu 3 jours après l'application. Le suivi concernant la présence et le développement du mildiou a été effectué par le viticulteur. Par ailleurs, il serait intéressant de poursuivre les recherches afin d'optimiser l'étape de production du thé de compost, soit en documentant différentes recettes afin de déterminer celles qui produisent un thé de compost de qualité. En effet, le vermicompost utilisé et le thé de compost produit pendant le projet ayant été qualifié de qualité « pauvre » au niveau microbien, il est plus difficile de tirer des conclusions générales sur l'effet d'une application de thé de compost sur la communauté microbienne retrouvée sur les feuilles. Pour ceux que l'utilisation d'un microscope rebute, il serait intéressant de développer des indicateurs complémentaires utilisables par les usagers et ne nécessitant pas (ou peu) de microscope (ex.: formation de mousse, couleur, odeur, etc.) afin de déterminer lorsqu'un thé de compost est prêt. Limiter la variabilité et augmenter la qualité initiale des ingrédients utilisés (compost, vermicompost, adjuvants) et du produit final (thé de compost) permettraient aux utilisateurs de mieux valoriser l'investissement en temps et en argent impliqué dans la fabrication et l'utilisation du thé de compost tout en maximisant ses effets bénéfiques. L'accès à un compost de qualité ou la production sur place d'un tel compost dans les règles de l'art serait la priorité pour permettre la production d'un thé de compost de qualité dans un temps acceptable et en volume suffisant.

BIBLIOGRAPHIE

- Al-Mughrabi, K., 2006. Antibiosis ability of aerobic compost tea against foliar and tuber potato diseases. Biotechnology. 5 (1): 69-74.
- Carisse, O., Bacon, R., Lasnier, J., Lefebvre, A., Levasseur, A., Rolland, D., et Jobin, T. 2009. Gestion raisonnée des principales maladies de la vigne au Québec. Agriculture et Agroalimentaire Canada. 46 p.
- Evans, K.J., Palmer A.K. et Metcalf, D.A., 2013. Effect of aerated compost tea on grapevine powdery mildew, botrytis bunch rot and microbial abundance on leaves. Eur. J. Plant. Pathol. 135: 661-673.
- Ingham, E., 2005. The compost tea brewing manual (5th ed.). Corvallis: Soil food web Inc. 79 p.
- Jacometti, M.A., Wratten S.D. et Walter M., 2010. Review: alternatives to synthetic fungicides for Botrytis cinerea management in vineyards. Australian J. of grape and wine research. 16: 154-172.
- Jamar, L. et Lateur, M., 2010. Strategies to Reduce Copper Use in Organic Apple Production. Proceeding Ist IS on Organic Apple and Pear. Acta Hort. 737.
- Passera A., Compant S., Casati P. et col. 2019. Not Just a Pathogen? Description of a Plant-Beneficial Pseudomonas syringae Strain. Frontiers in Microbiology. 10: 1409.
- Pieterse C. J. M., Zamioudis C., Berendsen R. L. et coll. 2014. <u>Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes</u>. Annual Review of Phytopathology. 52:1, 347-375.
- On, A., Wonga, F., Ko, Q., Tweddell, R.J., Antoun, H., Tyler J., Avis, T.J. 2015. Antifungal effects of compost tea microorganisms on tomato pathogens. Biological Control. 80: 63–69.
- Scheuerell, S.J., et Mahaffey W.F., 2002. Compost tea: principles and prospects for plant disease control. Compost science & utilization. 10: 313-338.
- St. Martin, C.C.G. et R.A.I. Brathwaite, 2012. Compost and compost tea: Principles and prospects as substrates and soil-borne disease management strategies in soil-less vegetable production. Biological Agriculture and horticulture. 1-33.

ANNEXES

Annexe 1 : Revue en images du projet

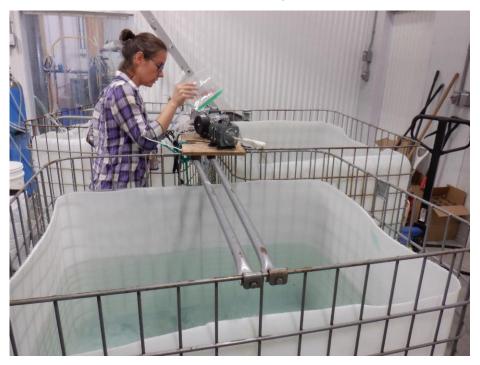


Image 2. Installation des pompes à air pour l'aération du thé



Image 3. Étape de fermentation aérobique nécessaire à la production de thé de compost



Image 4. Installation de Caroline pour les observations au microscope



Image 5. Pulvérisation du thé de compost

Annexe 2 : Revue de littérature – résumé d'articles sélectionnés

Weltzien, H. C. et Ketterer, N. 1986. Control of downy mildew, Plasmopara viticola (de Bary) Berlese et de Toni, on grapevine leaves through water extracts from composted organic wastes. J. Phytopathology. 116: 186-188.

Le but de l'expérience était d'étudier le potentiel d'un thé de compost pour contrôler le pathogène *Plasmopara viticola* (mildiou) inoculé sur des feuilles de vigne. Le thé de compost était produit avec un compost à base de fumier de cheval, à un ratio de 250 g de compost pour 750 ml d'eau. Le thé était produit en condition non aérée et différents temps de fermentation ont été testés (1, 2 ou 3 jours). Les feuilles de vigne étaient placées dans des boîtes de pétri et inoculés avec des sporanges du pathogène. L'effet suppressif du thé de compost contre le mildiou était évalué selon le pourcentage de la surface de la feuille colonisée par le champignon 6 jours après l'application du thé, en comparaison au témoin (application d'eau).

Les résultats de l'expérience ont montré que le thé de compost produit par 3 jours de fermentation était plus efficace que celui qui n'avait fermenté qu'une journée. Toutes les applications de thé de compost de 2 et 3 jours ont significativement diminué la présence du pathogène. Toutefois, aucune activité antifongique n'a pu être mesurée dans le thé de compost et les chercheurs n'ont pas pu identifier clairement les mécanismes ayant permis le contrôle du pathogène.

Palmer, A.K., Evans, K.J. et Metcalf, D.A. 2010. Characters of aerated compost tea from immature compost that limit colonization of bean leaflets by *Botrytis cinerea*. Journal of Applied Microbiology. 109: 1619-1631.

L'expérience avait pour but de tester si un thé de compost produit en mode aéré pouvait inhiber la croissance de *Botrytis cinerea*. L'impact de certaines variables sur l'efficacité du thé de compost était aussi étudié, les variables étant l'âge du compost, le ratio compost : eau (1 :3, 1 :10, 1 :30), le temps de fermentation (24h, 48h, 72h), le décompte de colonies cultivables et la diversité microbienne. Les feuilles de fèves détachées, stérilisées et mises dans des boîtes de pétri étaient inoculés avec un des thés de compost avant d'ajouter des gouttelettes de *Botrytis cinerea*. Le décompte du nombre de régions nécrotique a été fait après 48h et le calcul de la superficie recouverte de nécrose après 5 jours.

Les résultats ont démontré que tous les thés de compost inoculés sur les feuilles ont permis de diminuer le nombre de nécroses présentes sur les feuilles comparativement au témoin (eau). Le développement des lésions nécrotiques n'a pas pu être corrélé avec la quantité de bactéries et de champignons cultivables. Des essais in vitro, où le taux de germination du pathogène était mesuré lorsque mélangé au thé de compost filtré à 0,2 um ou non filtré, ont aussi permis de constater que la germination de Botrytis cinerea était significativement diminuée lorsque mélangé avec le thé de compost non filtré en comparaison au thé de compost filtré et au témoin (eau). Cela démontre que l'action antifongique du thé est reliée aux microorganismes présents et non seulement aux petites molécules (ex. antibiotiques) produites par ces microorganismes. Il a aussi été démontré qu'un thé produit avec un compost jeune (28 à 32 jours) et en phase mésophilique était plus efficace qu'un thé produit avec un compost mature.

Al-Dahmani, J. H. Abbasi, P. A., Millet, S. A. Hoitink, H. A. J. 2003. Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. Plant disease. 913-920.

L'expérience avait pour but de tester la capacité d'un thé de compost pulvérisé sur des feuilles de tomates à réduire l'incidence de la tache bactérienne causée par le pathogène *Xanthomonas vesicatoria*. Le thé était produit à partir de fumier de vaches laitières composté et mélangé à de l'eau avec un ratio vol :vol 1 :1, 1 :3 ou 1 :5 et laisser à fermenter pendant 7 jours avec ou sans aérateur. Les essais étaient menés en serre et en champs.

En serre, l'application par aspersion du thé sur les feuilles a permis un contrôle modéré, mais significatif du pathogène, en comparaison au témoin (eau). Aucun effet de l'aération durant le processus de production du thé n'a été observé. La présence de la tache bactérienne était négativement affectée par le thé de compost au même niveau que par acibenzolar-S-methyl, un activateur de résistance connu. Le ratio compost : eau utilisée pendant la préparation du thé n'a eu aucun effet sur l'efficacité du thé.

En champs, l'application répétée du thé de compost à une ou deux semaines d'intervalle n'a pas permis de réduire l'incidence de la tache bactérienne sur les feuilles alors que l'activateur de résistance acibenzolar-S-methyl a permis une réduction significative du pathogène, toujours en comparaison au témoin (eau). Toutefois, le thé de compost a permis une réduction significative des symptômes sur les fruits et l'efficacité était la même pour l'application à un intervalle d'une semaine ou celle à un intervalle de deux semaines. Les chercheurs avaient aussi des parcelles avec ou sans ajout de compost incorporé au sol et il est intéressant de noter que l'ajout du compost au sol a eu le même effet suppressif du pathogène que l'aspersion des feuilles avec le thé de compost.

Evans, K. J., Palmer, A. K. et Metcalf, D. A. 2013. Effect of aerated compost tea on grapevine powdery mildew botrytis bunch rot and microbial abundance on leaves. Eur J Plant Pathol. 135: 661-673.

Les chercheurs ont testé l'efficacité d'un thé de compost pour le contrôle de deux maladies dans la vigne, la pourriture de la grappe causée par *Botrytis cinerea* et l'oïdium causé par *Erysiphe necator*. Le thé était produit avec du fumier de poulet et vache composté et échantillonné à la phase mésophilique et mélangé avec de l'eau à un ratio poids/vol de 1 :3 pendant 48h avec aération. L'expérience se déroulait en serre. Les principales variables évaluées étaient le délai d'application du thé, soit 1, 4 ou 7 jours avant l'introduction du pathogène ou 1, 4 ou 7 jours après l'introduction du pathogène. Des expériences en champ ont aussi eu lieu dans deux vignobles.

En serre, l'application du thé de compost a permis de réduire l'incidence de l'oïdium, peu importe le moment d'application du thé, en comparaison au témoin (eau). La même conclusion fut observée en champ, où l'application du thé de compost ou du fongicide a permis diminuer la progression des deux pathogènes, alors que les parcelles témoin étaient infectées parfois jusqu'à 100%. Il a aussi été constaté que l'application du thé a mené à une augmentation du nombre total de bactéries et de champignons cultivables sur les feuilles de vigne.

Scheuerell, S. et Mahaffee, W. 2002. Compost tea : Principles and prospects for plant disease control. Compost Science and Utilization. 10 (4): 313-338

Cet article est une revue de littérature. Voici quelques-uns des éléments intéressants mentionnés dans ce texte. En date de la revue, plus d'expériences avaient été menées sur les thés de compost produit en condition non aérée qu'en condition aérée. Au moment de l'écriture de la revue, il y avait un débat entourant la nécessité d'aérer activement le mélange pendant la production du thé. La méthode non aérée est moins couteuse et moins énergivore et était la plus documentée à l'époque comme ayant des propriétés de phytoprotection. Certains disaient toutefois que cette dernière méthode peut favoriser la création d'un sous-produit phytotoxique ou encore la croissance de pathogènes humains. Weltzien (1991) a produit une autre revue de littérature sur l'activité de phytoprotection des thés de compost non aéré.

Les variables pouvant influencées l'efficacité du thé sont : l'origine du compost, l'âge du compost, le ratio eau : compost initial, le ratio de dilution au moment de l'application, le taux d'application et l'ajout d'antagoniste microbien. L'utilisation foliaire de thé de compost remonterait aux années 1920 et serait dérivée de la méthode communément pratiquée à l'époque qui consistait à faire tremper ses semences dans de l'eau mélangée à du compost ou à appliquer de l'eau de compost en prévention contre la fonte du semis.

L'article contient un tableau récapitulatif des articles publiés au sujet de l'effet suppressif du thé de compost, selon les pathogènes étudiés.

Les mécanismes pouvant expliquer l'effet suppressif des thés de compost inclus : l'antibiose (relation antagoniste), la compétition et la résistance induite chez la plante. La réalité est qu'il y a probablement plusieurs des mécanismes qui sont activés en même temps. La lyse des spores de fusarium a été observée dans une étude (Ma et al., 2001), mais sinon aucune destruction directe des structures de pathogène n'a été rapporté, même si cela a déjà été observé dans le cas du contrôle des maladies racinaires avec le compost (sol suppressif).

Cronin et al. (1996) ont observé que la stérilisation du compost avant la production du thé avait pour effet d'éliminer l'activité suppressive du thé, mais pas la filtration du thé à 0,2 um. Ceci est un fait intéressant, puisque cela pourrait signifier que dans ce cas-ci ce ne sont pas les microorganismes présents dans le thé (enlevé par filtration), mais bien des composés inhibiteurs de faibles poids qui auraient été responsables de l'activité suppressive. D'autres études ont toutefois observé l'inverse, soit que la filtration du thé de compost inhibait l'activité suppressive.

L'auteur présente un tableau résumé des décomptes de microorganismes par ml mesurés dans différentes études et tente d'établir un seuil qui serait la limite pour que le thé ait un effet suppressif. Il semble y avoir beaucoup de variations entre les études. Indépendamment du mode d'action, l'application du thé en prévention avant l'apparition de symptômes du pathogène, et non en traitement post infection, semble le plus efficace.

Par ailleurs, une étude ayant observé l'activité suppressive de 32 composts conclut que les composts d'origine animale sont les plus efficaces (Andrews, 1993).

Marin, F., Dianez, F. Santos, M. et Gea, F.J. 2013. Characters of compost teas from different sources and their suppressive effect on fungal pathogens. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 29: 1371-1382.

L'expérience avait pour but de tester in vitro l'activité inhibitrice de thés de compost contre l'oïdium. Les thés de compost étaient produits soit avec un compost de marc de raisin, de résidus de plantes, de résidus de substrat à culture de champignons ou de vermicompost. Les thés étaient produits en condition aérée ou non aérée. Tous les thés de compost ont eu un effet suppressif contre le pathogène. Le compost lui-même avait aussi une activité suppressive, même lorsque stérilisé par autoclave, mais pas lorsque filtré à 0,2 um.

Seddigh S. et Kiani, L. 2017. Evaluation of different types of compost tea to control rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. rosae). International journal of pest management. 64(2): 178-184.

Les chercheurs ont testé en serre l'influence de trois facteurs sur l'activité phytoprotectrice du thé de compost contre l'oïdium de la rose. Les trois facteurs étaient : l'aération ou non du compost, le ratio de dilution compost : eau vol : vol (1 :8 ou 1 :16) et le nombre d'applications (une ou deux fois par semaine). Le thé était produit avec du vermicompost et l'étape de fermentation était de 10 jours. L'étude conclut que le traitement avec le thé de compost produit en condition aérée et l'application deux fois par semaine était le plus efficace pour contrer le pathogène.

Annexe 4 : Rapport d'évaluation au microscope des vermicompost, compost et thé de compost dans le cadre du projet de recherche avec le CETAB+, rapport Agriculture Vivante

Vignoble Maurice Dufour Yan Chamberland, Maurice Dufour Cetab+

1339 Mgr de Laval Baie St-Paul, Qc, G3Z 2X6 418-435-8986 yanherbes@hotmail.com

Rapport d'évaluation au microscope des vermicompost, compost et thé de compost dans le cadre du projet de recherche avec le CETAB+

1. Explications

L'évaluation que je fais au microscope est qualitative. J'évalue la qualité à partir de la présence ou non de certains organismes indicateurs (bactéries, fongiques, protozoaires, nématodes), leur identification sommaire (basé sur leurs morphologies et rôles écologiques) et leur nombre, diversité et mobilité sur la lame que j'observe.

Cette évaluation qualitative est suffisante dans bien des cas pour évaluer la qualité d'un sol, d'un compost ou d'un thé de compost et pour ajuster les recettes et les taux d'application du thé de compost en conséquence. Cette analyse est aussi accessible à tous qui possède un microscope et qui peut identifier les organismes importants.

La classification de la qualité est présentée dans le tableau 1.

L'évaluation se fait sur un échantillon composite du produit à analyser.

Par exemple, on prend plusieurs échantillons (25-50) à plusieurs endroits dans le bac de brassage du thé de compost à l'aide d'une pipette. On a alors un échantillon composite de 25-50 ml. On mélange bien et on prend 1 ml de ce mélange. On ajoute 4 ml pour avoir une dilution 1 :5 (1 :10 pour les sols et composts). On brasse

Caroline Dufour-L'Arrivée agr. biol. M.Sc 418-261-1338 caroline@agriculturevivante.com



321 Côte Ste-Anne Sainte-Anne-de-Beaupré G0A 3C0 bien et on prendra 1 goutte de ce mélange pour déposer sur la lame que l'on va observer au microscope. Je regarde 2 fois 1 goutte (2 lames pour chaque échantillon).

Dans un premier temps, un regardera toute la goutte (toute la lame) à faible grossissement (10X-100x réellement) pour voir la présence ou non de nématodes (ils sont gros) et avoir une première idée générale du produit.

Dans un deuxième temps, on passe au gros grossissement (400X), et on observera 20 zones (champs) au hasard pour évaluer et calculer les bactéries, les fongiques et les protozoaires par champ. Le total nous renseigne sur la qualité du produit et du taux d'application à prendre en conséquence.

Ce qu'on voit dans cette goutte est donc une représentation de ce qu'on retrouve dans tout le volume produit.

L'analyse quantitative consiste à convertir le nombre de bactéries et de fongiques calculé en biomasse par volume (microgramme/ml). Sous une même unité de mesure, on peut alors calculer le ratio *fongique : bactérie* qui est une valeur de référence dans la littérature qui réfère aux besoins propres à chaque type de cultures ou de groupe végétal (de la mauvaise herbe à l'arbre).

Mis à part la qualité du produit par l'évaluation du nombre, du type et de la diversité des indicateurs, d'autres indicateurs vont plutôt parler sur la qualité du processus de production. Par exemple, dans les protozoaires, les ciliés indiquent des conditions anaérobiques (manque d'oxygène) ainsi que les fongiques blancs et très minces. Ces indicateurs nous informent donc qu'il y a quelque chose à changer si on veut plutôt favoriser la présence d'organismes aérobies qui seront bénéfiques aux plantes et aux sols et éliminer les anaérobies facultatifs comme les e.coli ou champignons pathogènes.

Ces techniques d'évaluation microscopique et de recommandation ont principalement été apprises de la méthode Soil Food Web inc. (Elaine Ingham, Ph.D microbiologiste).

Caroline Dufour-L'Arrivée agr. biol. M.Sc 418-261-1338 caroline@agriculturevivante.com



Tableau 1. Critère d'évaluation de la qualité des thés, compost et sol

Qualité	Dose d'application	observations
Mauvais	Revoir la qualité du	Dilution 1 :5/400 X:
	compost au départ	très peu de bactéries : Le minimum requis est de
		5000 bactéries par champ (microscope) à 1 :5 ou
		50 à 1 :500.
		On a besoin d'un minimum de bactérie pour faire
		la structure du sol, les agrégats et contribuer aux cycles des éléments.
		Observations de 20 champs :
		pas de fongique, pas de nématode ni protozoaire
Pauvre	Continuer de	Dilution 1 :5/400 X:
	brasser ou ajuster la	1-2 petits bouts de fongiques bénéfique (large et
	nourriture	foncé), peut-être l'équivalent en hyphe plus pâle et
		plus petites et actinomycète (large comme un
		cheveux et transparent)
		Pas de protozoaire, pas de nématode On voit quelques agrégats (clump) de bactéries
Acceptable	Doubler la dose de	Dilution 1 :500/400 X:
Acceptable	référence =	plus de 500 bactéries par champs
	40 gallon/acre	Dilution 1 :5 400 X :
	To gallotifacto	Observations de 20 champs :
		au moins 1 hyphe (plus de 3 cellules de long) de
		bon fongique.
		Une bonne diversité de formes bactériennes
		(cocci, rod, bâtonnet plus long, etc.)
		Au moins la moitié des champs présente un
		protozoaire (jouer avec le focus pour bien les voir)
Bon	La dose de	Dilution 1:500:
	référence =	plus de 500 bactéries et bonne diversité
	20 gallons/acre	Dilution 1:5/400X:
	200 L/ha 0,2 L/m2	Au moins un hyphe pleine longueur de bon fongique sur seulement 10 champs.
	U, Z L/111Z	Au moins la moitié des champs doit avoir un
	* Permet de couvrir	protozoaire
	une surface foliaire à	10X :
	70% avec cette	Au moins 1-2 nématodes (à identifier) par goutte
	qualité et ce taux ou	(toute la lame)
	d'inoculer un sol et	
	d'offrir la protection	
	nécessaire	

Caroline Dufour-L'Arrivée agr. biol. M.Sc 418-261-1338 caroline@agriculturevivante.com



Très bon	5-10 gallons/acre	Dilution 1:500: Plus de 500 bactéries Dilution 1:5/400X: Au moins 1 bon fongique pour 5 champs. Au moins 1 flagellé ou amibe par champ (et diversité si possible) 10X: Au moins 1-2 nématodes par goutte
excellent	5 gallons/acre	Dilution 1:500: Au moins 500 bactéries par champs et très grande diversité Dilution 1:5: Chaque champ contient un grand hyphe de bon fongique. Pas de mauvais fongique Quelques individus de protozoaires dans chaque champ 10X: 2-5 nématodes par goutte

Source: Elaine Ingham, 2014, Compost tea quality: Light microscope methods

Autre source utile : E. Ingham, C.A. Rollins, 2009. Quality assessment of microorganisms found in soil, compost, casting and compost tea : Manual for poster

Évaluation des vermicomposts

1. Vermicompost final

Le vermicompost final est celui qui a été utilisé dans les 3 poches pour la fabrication des 3 thés. Il s'agit du vermicompost *Eugenia*. Un mélange a été fait avec les sacs que Gilles avait apportés en début de saison (sacs qui ont été ouverts et gardés dans 2 chaudières) et 1 sac que Charlotte a apporté au début de l'expérimentation. Les sacs ont été achetés chez *Hydroculture G.D.* (Hydro Dionne) à Québec. On ne sait pas toutefois depuis quand ils sont ensachés et les conditions d'entreposage.

- Dilution 1:10, 1 goutte
- L'eau du mélange est très claire, il n'y a pas beaucoup d'acide humique
- 10X : pas de nématode.

Caroline Dufour-L'Arrivée agr. biol. M.Sc 418-261-1338 caroline@agriculturevivante.com



321 Côte Ste-Anne Sainte-Anne-de-Beaupré G0A 3C0

- 10X: Plusieurs petits bouts de fongiques bruns (1-2 cellules, <u>besoin de 3 cellules normalement pour se développer</u>). 1 long hyphe brun (brun et large = bon fongique, présence de bourrelet aux jonctions = basidiomycètes = bon fongique). Donc l'échantillon montre un potentiel au niveau fongique, mais <u>l'analyse des 20 champs aléatoires à 400x dit sur la réelle qualité/niveau fongique</u>)
- 400X : <500 bactéries libres par champ mais présence de nombreux et gros agrégats où il y a une concentration de bactéries, donc niveau à limite inférieure suffisante. Faible diversité : surtout de petits cocci (petits ronds) et pas beaucoup de mobilité (activité)
- 400X : sur toute la lame (20 champs) : 1 spore en germination, pas de fongique, 2 kystes de flagellé (flagellé en dormance, conditions non favorables, flagellé = bon protozoaire), pas d'autres protozoaires
- Évaluation : je classifie ce vermicompost dans la qualité pauvre. Il manque de diversité bactérienne, de fongique, de protozoaire et de nématode. Mais il a un potentiel (source d'inoculent) pour les bactéries (mais faible diversité bactérienne) et les fongiques (pas de signe de mauvais fongique non plus). La pauvreté en bactérie et fongique ne peut pas favoriser la présence de leurs prédateurs (protozoaires et nématodes).

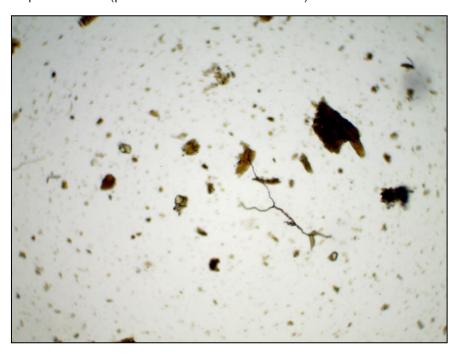


Figure 1. Vermicompost final. Bon fongique observé à 10x

Caroline Dufour-L'Arrivée agr. biol. M.Sc 418-261-1338 caroline@agriculturevivante.com



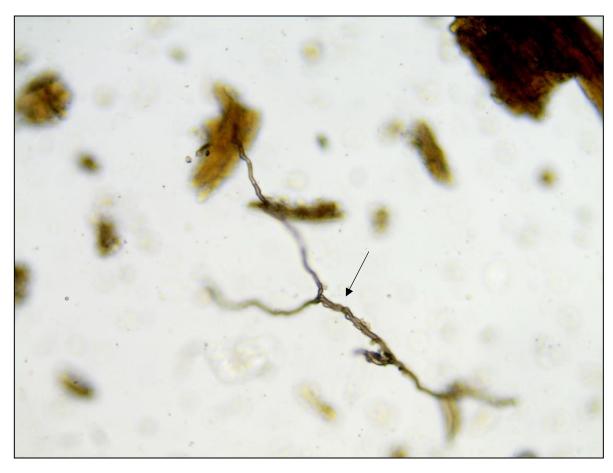


Figure 2. Vermicompost final. Bon fongique (brun foncé) à 400x. On voit le « bourrelet » à la jonction entre 2 cellules, qui indique un basidiomycète.

2. Vermicompost 2019 (1^e livraison, sacs ouverts)

Il s'agit des sacs apportés en début de saison par Gilles et conservés dans des chaudières ouvertes (air libre) depuis leur arrivée.

- Dilution 1:10, 1 goutte
- 10X: pas de nématode, mais 1 nématode très petit bactérivore (petite bouche allongée) trouvé sur la 2^e lame
- 10X: 1 long hyphe brun basidiomycète (avec bourrelet = bon fongique) présent sur la 2^e lame, mais sinon que quelques bout de 1 cellule.
- 10 X : 1 amibe (= bon protozoaire) dans sa capsule (= protégée car conditions non favorables). Mais l'examen des 20 champs aléatoires à 400x donnera réellement le niveau et la qualité au niveau des protozoaires.

Caroline Dufour-L'Arrivée agr. biol. M.Sc 418-261-1338 caroline@agriculturevivante.com



321 Côte Ste-Anne Sainte-Anne-de-Beaupré G0A 3C0

- 400x : <500 bactéries libres par champ mais présence de gros agrégats et de gros morceaux de matière organique. Peu de diversité, essentiellement des cocci immobiles
- 400X (20 champs): 1 gros fongique brun mais 1 cellule seulement, 2 morceaux d'hyphe brun pâle (beige), 3 spores
- 400X (20 champs): 3 kystes de flagellé (bon protozoaire mais forme inactive), pas d'autre protozoaire
- Évaluation: Je classerais ce vermicompost dans la qualité entre pauvre et acceptable. Il y a une base au niveau bactérien (même si peu de diversité et d'activité) et quelques inoculum de fongique. Il y a un nématode. Des traces de protozoaires mais pas assez. Au moins, pas de mauvais protozoaires (ciliés).



Figure 3. Nématode très petit (400x) bactériophage avec sa petite bouche pointue et allongée

Caroline Dufour-L'Arrivée agr. biol. M.Sc 418-261-1338 caroline@agriculturevivante.com





Figure 4. Amibe (bon protozoaire) (400x) protégée dans sa « capsule » avec un « chapeau plat ».

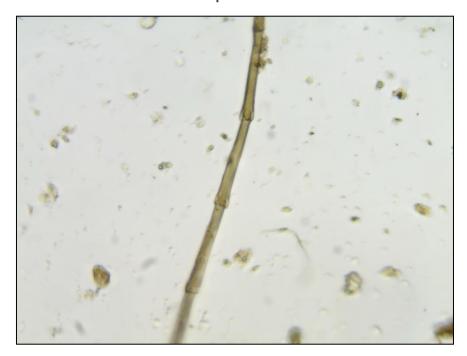


Figure 5. Hyphe brun large avec bourrelet aux jonctions indiquant un basidiomycète (bon fongique) (400x)



321 Côte Ste-Anne Sainte-Anne-de-Beaupré GOA 3C0

3. Vermicompost 2019 (2^e livraison)

Il s'agit des sacs apportés par Charlotte le vendredi 2 août au début de l'expérience. L'échantillon composite a été pris directement dans 1 des deux sacs.

- Dilution 1:10, 1 goutte
- 10X : Pas de nématode
- 10X : de longs spécimens d'hyphes bruns pâles et quelques petits bouts (1-2 cellules)
- 400X : Entre 500-1000 de bactéries libres par champ et quelques agrégats de grosseurs petites à moyennes. Peu de diversité (surtout petits cocci) et d'activité
- 400X (20 champs): 3 spores, 1 bout hyphe large et brun (= bon fongique)
 2 cellules, 1 bout d'hyphe large et brun 1 cellule, 1 hyphe brun et large 3 cellules (longueur minimale)
- 400X (20 champs): aucun protozoaire
- Évaluation: Je classerais ce compost dans la qualité pauvre même s'il y a légèrement plus de bactéries libres et que ce sont de bons fongiques, il n'y en a pas assez. Il n'a pas de nématode ni de protozoaire.

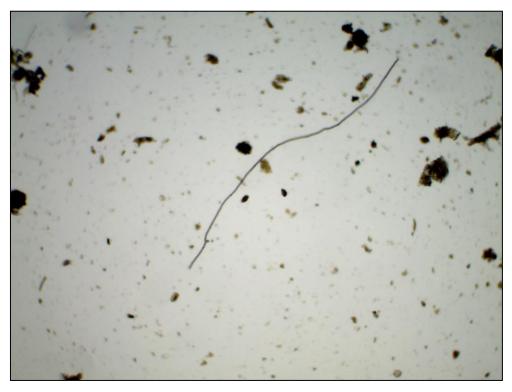


Figure 6. Hyphe brun et très long 10x



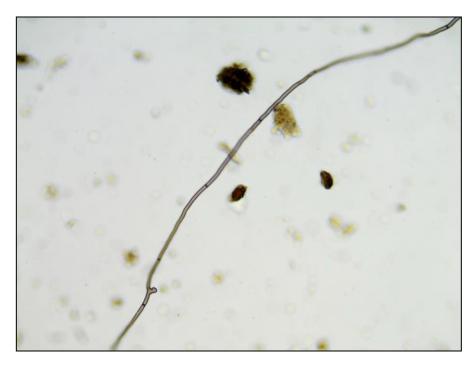


Figure 7. Le même hyphe à 400x. Il n'est pas des plus larges mais il est foncé. On voit bien les septa : cloison entre chaque cellule. On voit un bourgeon dans le bas, l'hyphe est en croissance.

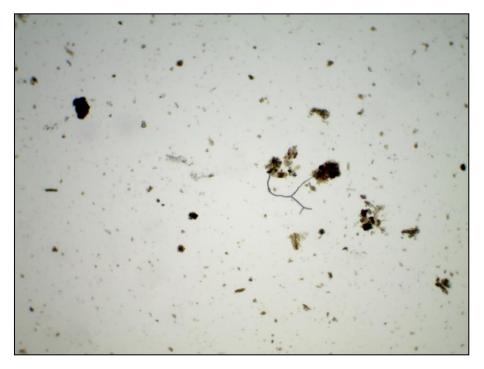


Figure 8. 2^e lame. Hyphe brun et long (10x) qui se développe à partir d'agrégats



321 Côte Ste-Anne Sainte-Anne-de-Beaupré G0A 3C0

4. Vermicompost 2018

Il s'agit des restants des achats de 2018 de Yan, compost Eugenia. Le vermicompost est resté en sac fermé, dans le garage, il a connu le gel-dégel.

- Dilution 1:10, 1 goutte
- 10X : pas de nématode
- 10X : plusieurs petits bouts d'hyphes bruns et large 1-2 cellules. Quelques longs hyphes, certains blancs (moins bon indicateur). Un bout d'hyphe blanc attaqué par bactéries. 1 hyphe basidiomycètes (à bourrelet)
- 400X : <500 bactéries libres par champ mais présence de gros et petits agrégats. Peu de diversité, surtout des petits cocci mais il y a du mouvement.
- 400X (20 champs): 4 spores, 3 bouts d'hyphe pâle 2 cellules. 1 très long hyphe mais blanc et « magané ». Pas de protozoaire.
- <u>Évaluation</u> : je le classifie dans la qualité pauvre.

3. Évaluation du compost Maurice Dufour 2019

Maurice Dufour a pris un échantillon composite de son tas de compost en cours. L'examen visuel montre que le compost n'était pas encore mûr. Les résidus végétaux étaient encore visibles, intacts, grossiers. Il n'a pas l'apparence de terre brun foncé et il y avait encore une légère odeur d'ammoniac. Je ne connais pas l'historique de ce compost, quand il a été partie, le suivi des températures, humidité et retournements. Mais visuellement il y a encore des étapes de compostage à faire. Quoi qu'il en soit, l'analyse microscopique permet d'avoir une photo de ce qui se passe à cette étape même si ce n'est pas le produit final.

- Dilution 1:10, 1 goutte
- 10X : 2 nématodes (1 omnivore, 1 prédateur de nématode) (5 nématodes sur la 2^e lame dont 2 bactériophages, 3 non indentifiables)
- 10X: 1 rotifère. Les rotifères sont de petits animaux qui mangent les bactéries. Ils sont comme les ciliés et aiment les eaux stagnantes, faible en oxygène. Ils sont donc de mauvais indicateurs lorsque présents en grande quantité. (il y a aussi 1 rotifère sur la 2^e lame)
- 10X: beaucoup de résidus organiques, quelques petits bouts de fongiques, mais surtout des pâles, beaucoup de ciliés (indicateurs de conditions anaérobiques)



- 400X: plus de 2000 bactéries par champ et plusieurs gros agrégats. Surtout des cocci mais aussi des bâtonnets (rod) et beaucoup de mobilité (activité)
- 400X (20 champs): 6 ciliés (c'est clairement un signe de conditions anaérobiques). Plusieurs kystes de ciliés et de flagellés (sous forme dormante). 3 amibes sous sa forme dormante (conditions non propice, besoin d'oxygène)
- 400X (20 champs): 4 spores, 1 hyphe de basidiomycète (bon indicateur), 1 hyphe brun large 4 cellules (bon indicateur), 3 hyphes très minces et blancs (peut être un pathogène)
- Évaluation: Je ne classerais pas le compost au niveau de sa qualité car je crois que pour l'instant il faut d'abord viser à réduire le nombre d'indicateurs de conditions anaérobiques (ciliés, rotifères, fongiques blancs) jusqu'à sa maturité. Le manque d'oxygène crée aussi les conditions pour le maintien des entérocoques (ex: e.coli, salmonelle). Il faudrait probablement faire des retournements plus fréquents, suivre la température et le niveau d'humidité. Si l'humidité est trop haute (en haut de 60%) il manque alors d'espace pour l'oxygène. S'il y en a pas assez (<50%) les microorganismes ne peuvent pas survivre et se multiplier (et chauffer) et la décomposition ne peut pas se faire.</p>



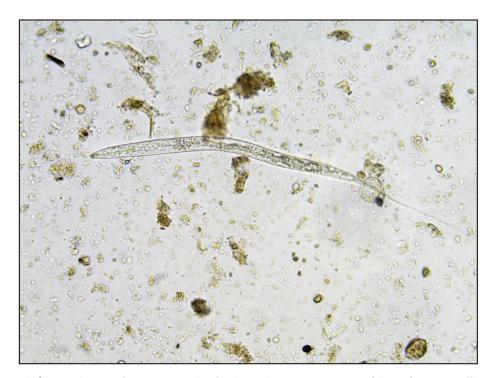


Figure 9. Nématode omnivore 400x. Petite bouche en couronne (dents) et un « filament » dans la tête.



Figure 10. Nématode 200x.



321 Côte Ste-Anne Sainte-Anne-de-Beaupré GOA 3C0



Figure 11. Le même nématode (que fig. 10) à 400x. Bactériophage on voit les 2 petits « pics » dans la bouche.



Figure 12. Rotifère et son organe interne de digestion 400x



321 Côte Ste-Anne Sainte-Anne-de-Beaupré G0A 3C0



Figure 13. Plusieurs ciliés dans le compost 400x

4. Évaluation des thés de compost

1. Thé de compost mélasse et algues

Il s'agit de la recette préparée pour les fins de l'expérience (appliquée sur les feuilles). Recette : 400L d'eau, 20L vermicompost, 3L mélasse, 2L algues Acadie (si je ne me trompe pas, à valider avec Yan ou Charlotte). Les thés ont été partis le vendredi 2 août PM, celui-ci a été prélevé pendant le bullage le lundi 5 août vers 11h, juste avant la pulvérisation.

- Dilution 1:5, 1 goutte

- 10X : rien

Caroline Dufour-L'Arrivée agr. biol. M.Sc 418-261-1338 caroline@agriculturevivante.com



321 Côte Ste-Anne Sainte-Anne-de-Beaupré G0A 3C0

- 400X : < 500 bactéries par champ, pas d'agrégat, mais un peu de diversité.
 Apparition de bâtonnets courts et longs (rod = bacillus et lactobacillus) qui témoignent de la fermentation. Il y a beaucoup de mobilité (activité)
- 1 actinomycète (indicateur de manque d'oxygène, mais juste 1), pas d'autres signes de fongique
- Évaluation: Ce thé serait de qualité pauvre. Il mériterait de brasser plus longtemps. On voit tout de même un effet stimulant sur la diversité et l'activité bactérienne qui pourrait davantage se développer avec plus de temps. Toutefois, on est limité avec ce qu'on peut multiplier quand la base l'inoculum (vermicompost) n'est pas riche. Le vermicompost n'est pas riche non plus en acide humique, il pourrait aussi manquer de nourriture pour les fongiques puisque seulement des algues, la mélasse est surtout une nourriture pour bactérie (sucre-carbone simple).

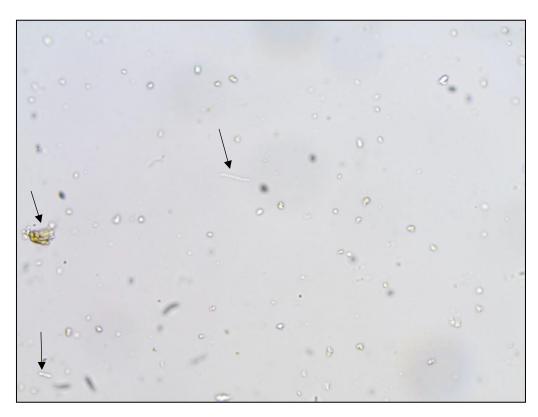


Figure 14. Une plus grande diversité de bactéries libres (ronds et batonnets à 1-2-3-4 cellules). Pas vraiment d'agrégat (1 petit) 400x



2. Thé de compost lactosérum et algues

Il s'agit d'une 2^e recette que Yan voulait tester pour comparer même si elle n'était pas appliquée dans le cadre du projet. Recette : 400L eau, 20 L vermicompost, 20L lactosérum, 2L algues Acadie (à valider avec Yan ou Charlotte)

- Dilution 1:5, 1 goutte
- 10X : pas de nématode.
- 10X: Plusieurs agrégats de bactéries (et autres) et certains avec de beaux hyphes blancs développés à partir des agrégats et qui présentent des spores également. Il avait un peu moins de fongique sur la 2^e lame.
- 400X: entre 500-1000 bactéries libres par champ et plus de diversité que dans le vermicompost. Des cocci et beaucoup de bâtonnets (rod) court, moyen et long et beaucoup de mobilité. Plusieurs agrégats similaires répartis sur toute la lame.
- 400X (20 champs) :5 kystes de flagellé (2 très petits)
- 400X (20 champs): 1 spore, 1 hyphe large blanc 2 cellules (4-5 microns de large), 3 cellules d'algue
- Évaluation: Je classerais ce thé dans la qualité pauvre à acceptable. Il n'a pas tout à fait assez de bactéries, mais elles commencent à s'agglutiner en agrégats ce qui est bon signe. Il n'a pas de nématode et pas assez de protozoaire. Il n'a pas assez de fongique toutefois ce qui est observé est très intéressant.
- Les hyphes blancs peuvent être de mauvais champignons, plus ils sont minces plus les chances sont grandes. Ici ils sont quand même assez larges, donc ce n'est peut-être pas le cas, mais l'observation morphologique ne me permet pas d'en dire plus. Il n'a pas non plus d'autres fongiques pour « balancer » la présence de ceux-ci. S'ils étaient bruns ou avec des bourrelets ce serait assurément sans danger. Mais c'est quand même le seul des 3 thés qui présente des agrégats et le développement d'hyphes. Le lactosérum est un sucre complexe (comparativement au sucre simple du la mélasse), il est donc logique que des hyphes aient pu se développer dans ce milieu comparativement au milieu de la mélasse qui est adapté aux bactéries. Il serait intéressant de voir la composition microbiologique du lactosérum à la base, avant le processus de fermentation. Les algues pourraient sans doute agir comme phytostimulant complémentaire à la source de nourriture pour favoriser le développement, une hypothèse.





Figure 15. Hyphe fongique blanche qui se développe à partir d'un agrégat 10x



Figure 16. Le même hyphe (figure 15) à 400x



321 Côte Ste-Anne Sainte-Anne-de-Beaupré G0A 3C0

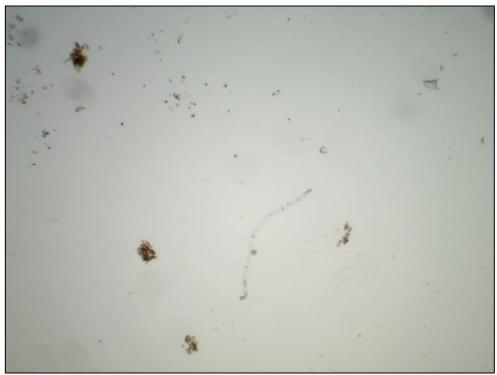


Figure 17. Hyphe fongique blanche et son spore. Agrégats autour. 10x



Figure 18. Le même hyphe, spore et agrégats (figure 17) à 200x





Figure 19. Le même hyphe, spore et agrégats (figure 18) à 400x



Figure 20. long hyphe blanc 10x





Figure 21. Agrégat et algues 400x

3. Thé de compost algues

Il s'agit de la 3e recette que Yan voulait tester pour comparer. Recette : 400L eau, 20L vermicompost, 2L algues (à valider avec Yan ou Charlotte)

- Dilution 1:5, 1 goutte
- 10x : rien (un peu de taches vertes!)
- 400x: très peu de bactéries libres (<500) par champ, pas d'agrégat.
 Plus de diversité que le vermicompost: des cocci et des bâtonnets courts et moyens (1-2 cellules) qui bougent un peu.
- 1 flagellé
- Évaluation: Il manque certainement de nourriture dans ce milieu pour favoriser la croissance de quelque chose. Peut-être qu'on aurait eu un résultat différent avec un vermicompost plus riche? Il n'a pas de sucre rapide pour le développement bactérien et ce n'est peut-être pas suffisant comme source de carbone complexe pour le développement fongique (mais il n'y en avait pas beaucoup au départ...). Il serait intéressant de tester des recettes sans algues (mélasse et lacto) pour comparer.

Caroline Dufour-L'Arrivée agr. biol. M.Sc 418-261-1338 caroline@agriculturevivante.com



321 Côte Ste-Anne Sainte-Anne-de-Beaupré G0A 3C0

5. Quelques informations échangées par courriel

Recette de yan:

Moi, j'y mettais une poche de vermicompost 2 litres de concentré Algues acadie 2 litres mélasse

ou environ 10 litres lactoserum

ça vous va?

Si tu veux un feedback sur ta recette:

- -> 400L, 20L compost, 2L de mélasse, 2 L algues
- Pourquoi pas!
- Proportion eau/compost: ok
- 2L algues: pour moi c'est beaucoup, je serais plus à 500-600 ml (dans 400L). Mais comme tu n'as pas d'autres sources de nourriture pour les fongiques (farine, poissons, acide humique, ...) alors pourquoi pas booster l'apport d'algue comme tu le fais. (les champignons dégradent les molécules complexes, et les bactéries les molécules et sucres simples, c'est leur niche/rôle écologique, c'est simple de même!)
- 2L mélasse: perso c'est très rare que je recommande de la mélasse à moins de vraiment manquer de bactérie partout (sol et compost). Ça peut arriver toutefois et les bactéries font aussi le biofilm qui permet au thé de coller et rester longtemps sur les feuilles. Dans la littérature ce serait plus autour de 300-600 ml de mélasse (dans 400L). Donc ta quantité est vraiment beaucoup plus élevée. Mais si c'est ce que tu utilises depuis toujours et que tu as de bons résultats, il y a peut-être une raison. Alors pourquoi ne pas garder ta recette et regarder ce qui se passe?

(Charlotte, je me suis trompé quand je t'ai parlé, ma quantité était pour 100L et non 1000L!)

Mais je vois que tu as seulement trouvé 3L de mélasse, alors peut-être réduire ta quantité pour permettre de comparer 2 bacs avec les mêmes quantités? à moins qu'il t'en reste ...



->400L, 20L compost, 10L lactosérum

- Personnellement je n'ai aucune expérience avec le lactosérum dans le thé, et je n'ai pas lu là-dessus. Ça me semble quand même évident qu'il est moins riche en sucre (sucre simple surtout) que la mélasse, alors ça fait sûrement du sens d'en mettre plus que ta proportion de mélasse.

Est-ce que ça en prend autant? je ne sais pas? En plus s'il y a des algues (2L)? ... En mettre la même proportion que dans ta recette de mélasse (2L) permettrait peut-être de vraiment comparer les deux approches sur la même base?

à toi de voir...



ANNEXE 5 : IMPACT D'APPLICATIONS DE THÉ DE COMPOST SUR LA VIGNE, RAPPORT DU LEM DE L'IRDA



RAPPORT FINAL LEM19-72

VERSION DE RAPPORT : V2-2018-08

IMPACT D'APPLICATIONS DE THÉ DE COMPOST SUR LA VIGNE

IDENTIFICATION

■ Demandeur : CETAB+ Charlotte Giard-Laliberté

Date: 21 novembre 2019Projet IRDA #: LEM19-72

ÉQUIPE DU LABORATOIRE D'ÉCOLOGIE MICROBIENNE

Responsable scientifique : Richard Hogue, Ph. D., IRDA

Professionnel de recherche : Joël D'Astous-Pagé, M. Sc., IRDA

Techniciennes de laboratoire : Vanessa Villeneuve; Véronique Gagné

2700, rue Einstein, Québec (Québec) G1P 3W8

Téléphone: 418 643-2380, poste 420

Courriel: richard.hogue@irda.qc.ca ou thomas.jeanne@irda.qc.ca



L'IRDA a été constitué en mars 1998 par quatre membres fondateurs, soit le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation (MAPAQ), l'Union des producteurs agricoles (UPA), le ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MDDELCC) et le ministère de l'Économie, de l'Innovation et des Exportations (MEIE).

L'IRDA est une corporation de recherche à but non lucratif qui travaille chaque année sur une centaine de projets de recherche en collaboration avec de nombreux partenaires du milieu agricole et du domaine de la recherche.

Notre mission

L'IRDA a pour mission de réaliser des activités de recherche, de développement et de transfert en agroenvironnement visant à favoriser l'innovation en agriculture, dans une perspective de développement durable.

Notre vision

En 2016, l'IRDA est reconnue à l'échelle canadienne comme un chef de file en recherche, développement et transfert en agroenvironnement. L'IRDA se démarque par son approche intégrée et par le dynamisme de ses partenariats qui lui permettent d'anticiper les problèmes et de proposer des solutions novatrices répondant aux besoins des agriculteurs et de la société.

Pour en savoir plus

www.irda.qc.ca

1 TABLE DES MATIÈRES

1	Tabl	le des matières	3				
2	Liste	e des figures et tableaux	4				
3	Mét	hodologie	5				
	3.1	Contexte	5				
	3.2	Préparation des échantillons et extraction d'ADN	6				
	3.3	Dénombrement moléculaire par PCR quantitative	6				
	3.4	Diversité microbienne					
	3.5	Traitement bio-informatique et biostatistique	6				
	3.6	Conservation des échantillons et des données	7				
4	Rési	ultats	8				
	4.1	Quantification des bactéries et des champignons totaux					
	4.2	Diversité microbienne des tissus	9				
4.2.: 4.2.:		1 Richesse microbienne	9				
		2 Composition de la diversité bactérienne	11				
	4.2.	3 Composition de la diversité fongique	13				
	4.3	Conclusions					
5	Réfé	érences	16				

2 LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Tableau 1 Caractéristiques de chacun des échantillons du dossier LEM19-72
Tableau 2 Quantification des bactéries (BT) et des champignons (CT) totaux dans chacun des échantillons
Tableau 3 Quantification moyenne des bactéries (BT) et des champignons (CT) totaux selon le type de traitement appliqué aux feuilles des trois parcelles
Tableau 4 Indice de Shannon caractérisant la diversité alpha, ou la richesse bactérienne ou fongique, selon le type de traitement appliqué aux feuilles des trois parcelles
Figure 1 Représentation boxplot de la comparaison des Indices de richesse de Shannon des communautés bactériennes (A) et fongiques (B) pour les extraits de feuilles témoin ou traités au thé de compost10
Figure 2 Ordination PCoA permettant de comparer la composition de la diversité bactérienne des feuilles1
Figure 3 Proportions relatives des principaux phyla bactériens des échantillons composites (groupes > 1%)12
Figure 4 Proportions relatives des principaux ordre bactériens dans les extraits de feuilles (groupes > 1%)12
Figure 5 Ordination PCoA permettant de comparer la composition de la diversité fongique des feuilles13
Figure 6 Proportions relatives des principaux phyla fongiques détectés dans tous les échantillons (groupes
supérieurs à 1%)14

NOTE IMPORTANTE:

Les verdicts sont rendus par le Laboratoire d'écologie microbienne (LEM). Ils sont établis seulement à l'aide des échantillons soumis et décrits dans la demande d'analyse citée au rapport. Le LEM n'offre aucune garantie ou certification explicite ou implicite en rapport avec les verdicts des analyses demandées.

IMPORTANT NOTICE:

The verdicts are reported by the Laboratoire d'écologie microbienne (LEM). They are based exclusively on the testing of the samples submitted and described in the analysis form request mentioned in the test report. The LEM does not offer any guarantee or certification, explicit or implicit, in relation to the verdicts of the analyzes requested.

3 MÉTHODOLOGIE

3.1 Contexte

Le présent rapport présente les résultats d'extraction d'ADN, d'analyses qPCR de dénombrement de bactéries et champignons totaux, ainsi que des analyses de la diversité (richesse et composition) des bactéries et des champignons pour le dossier LEM19-72. Ce dossier prévoit les analyses citées précédemment pour 24 échantillons de feuilles de vigne traitées à quatre périodes, d'un échantillon de thé de compost et d'un échantillon de vermicompost. L'échantillonnage des feuilles a été effectué dans trois blocs (100, 200 et 300) avec un échantillon traité au thé et un échantillon non-traité pour chaque bloc. Nous avons considéré les échantillons entre blocs d'un même traitement comme des répétitions. Un résumé des caractéristiques de chacun des échantillons du dossier LEM19-72 est présenté au tableau 1. Des analyses métagénomiques ciblant les régions V3-V4 du 16S rARN bactérien ainsi que de la région ITS1 fongique ont été réalisées.

Tableau 1 Caractéristiques de chacun des échantillons du dossier LEM19-72

Échantillon	Moment d'échantillonnage	Traitement avec thé de compost		
101-T0	1h avant pulvérisation	Traité		
102-T0	1h avant pulvérisation	Non-traité		
201-T0	1h avant pulvérisation	Traité		
202-T0	1h avant pulvérisation	Non-traité		
301-T0	1h avant pulvérisation	Non-traité		
302-T0	1h avant pulvérisation	Traité		
101-T1	2h après pulvérisation	Traité		
102-T1	2h après pulvérisation	Non-traité		
201-T1	2h après pulvérisation	Traité		
202-T1	2h après pulvérisation	Non-traité		
301-T1	2h après pulvérisation	Non-traité		
302-T1	2h après pulvérisation	Traité		
101-T2	1 jour après pulvérisation	Traité		
102-T2	1 jour après pulvérisation	Non-traité		
201-T2	1 jour après pulvérisation	Traité		
202-T2	1 jour après pulvérisation	Non-traité		
301-T2	1 jour après pulvérisation	Non-traité		
302-T2	1 jour après pulvérisation	Traité		
101-T3	4 jours après pulvérisation	Traité		
102-T3	4 jours après pulvérisation	Non-traité		
201-T3	4 jours après pulvérisation	Traité		
202-T3	4 jours après pulvérisation	Non-traité		
301-T3	4 jours après pulvérisation	Non-traité		
302-T3	4 jours après pulvérisation	Traité		
Thé	N/A	N/A		
Vermicompost	N/A	N/A		

3.2 Préparation des échantillons et extraction d'ADN

Les échantillons soumis au service d'analyse métagénomique du Laboratoire d'écologie microbienne (LEM) de l'IRDA ont été préparés et extraits selon le type d'échantillon. Pour chaque échantillon de feuilles, un carré de 24 x 24 mm (0.576 cm²) a été découpé sur 30 feuilles. Les carrés de feuilles ont été broyés à l'azote liquide et l'ADN a été extrait avec la trousse DNAesy Plant mini kit de (Qiagen, Toronto, ON, Canada). Pour le thé, 4 ml de thé a été culoté puis extrait avec la trousse FastDNA spin kit for soil de MPbio. Pour le vermicompost, 5 g a été broyé à l'azote liquide et 0,3 g de ce broyat a été extrait avec la trousse FastDNA spin kit for soil de MPbio.

La qualité et la quantité des ADN génomiques extraits ont été déterminées par spectrophotométrie avec les mesures de l'absorbance à 260 nm et 280 nm et du ratio A260/A280.

3.3 Dénombrement moléculaire par PCR quantitative

Deux systèmes qPCR ont été utilisés pour le dénombrement des bactéries et champignons totaux soit :

- (1) Les bactéries totales avec les amorces eub338/eub518 (Fierer et al., 2005);
- (2) Les champignons totaux avec les amorces FF390/FR1 (Emerson et al., 2015)

Les détections ont été faites en deux répétitions sur un appareil CFX96 (Biorad, Hercules, CA, USA) avec un mélange réactionnel SYBR green qPCR mix (Qiagen, Toronto, ON, Canada). Les systèmes de détection ont été mis au point sur une gamme de détection de 4 LOG. (Efficacité système bactéries totales: 89,1% r²=0,99; Efficacité système champignons totaux: 91,7% r²=1,00).

Pour les feuilles, les résultats sont exprimés en unité d'amplification (UA) par cm² de surface de feuille (Tableau 2). Pour le thé, les résultats sont exprimés en unité d'amplification (UA) par ml de thé (Tableau 2). Pour le vermicompost, les résultats sont exprimés en unité d'amplification (UA) par g sec de vermicompost (Tableau 2). Il est important de noter que plusieurs copies des gènes ciblés peuvent être détectées au sein d'un même organisme et en nombre variable entre les organismes lors du processus de quantification, et cela autant au niveau des organismes bactériens (16S rARN) que fongiques (18S rARN).

3.4 Diversité microbienne

Les analyses de métagénomique ont évalué la diversité (richesse et composition) procaryotique (bactéries et archaea) et fongique. Les amplifications des régions V4 du 16S rARN bactérien de même que de la région ITS1 fongique, ont été réalisées en utilisant les séquences-amorces des régions spécifiques décrites par Apprill et al. 2015; Parada et al. 2016, (Comeau, Douglas and Langille, 2017) et Bokulich & Mills 2013, et en utilisant une approche en deux étapes de PCR (dual-indexed PCR approach) spécialement conçues pour l'analyse avec la plateforme de séquençage haut débit Illumina MiSeq. Les librairies d'amplicons ont été séquencées en format apparié (paired-end) avec une lecture de 300 bases, soit 2 x 300 paires de bases de chaque côté du brin d'ADN sur Illumina MiSeq à la plateforme d'analyses génomiques de l'Institut de biologie intégrative et des systèmes (IBIS) de l'Université Laval (Québec, CA).

3.5 Traitement bio-informatique et biostatistique

Le traitement bio-informatique des séquences a été effectué sur la plateforme bio-informatique du LEM de l'IRDA et a impliqué différentes stratégies de traitement (Qiime2 (Caporaso et al., 2010) et R (R Core Team project 2014))

incluant des étapes de validation de la qualité, des bases de références et d'indices de mesure de la richesse microbienne et des mesures de comparaison de la diversité microbienne. Les bases de référence Greengenes 13.8 (DeSantis *et al.*, 2006), SILVA132 (Quast *et al.*, 2013) et UNITE version 7 (Koljalg *et al.*, 2013) ont été utilisées pour les analyses de la diversité des bactéries et des champignons.

3.6 Conservation des échantillons et des données

Les échantillons soumis seront conservés 90 jours après la transmission du rapport final. Les données produites seront conservées pendant 1 an après la production du rapport final.

4 RÉSULTATS

4.1 Quantification des bactéries et des champignons totaux

Tableau 2 Quantification des bactéries (BT) et des champignons (CT) totaux dans chacun des échantillons

Échantillon	Moment d'échantille	Traitamant	Bactéries totales	Champignons totaux	[ADN]
Echantillon	Moment d'échantillonnage	Traitement	(UA/cm² de tissus)	(UA/cm² de tissus)	(ng/cm² de tissus
101-T0	1h avant pulvérisation	Traité	2,89E+06	1,18E+04	63,44
102-T0	1h avant pulvérisation	Non-traité	2,75E+06	1,17E+04	70,72
201-T0	1h avant pulvérisation	Traité	5,53E+06	1,23E+04	77,49
202-T0	1h avant pulvérisation	Non-traité	4,23E+06	8,71E+03	60,61
301-T0	1h avant pulvérisation	Non-traité	6,92E+06	1,39E+04	66,96
302-T0	1h avant pulvérisation	Traité	4,54E+06	7,94E+03	63,21
101-T1	2h après pulvérisation	Traité	5,63E+06	1,84E+04	85,13
102-T1	2h après pulvérisation	Non-traité	6,32E+06	1,11E+04	62,03
201-T1	2h après pulvérisation	Traité	6,73E+06	2,23E+04	68,72
202-T1	2h après pulvérisation	Non-traité	4,34E+06	1,73E+04	76,11
301-T1	2h après pulvérisation	Non-traité	3,91E+06	2,22E+04	46,55
302-T1	2h après pulvérisation	Traité	5,05E+06	2,30E+04	78,64
101-T2	1 jour après pulvérisation	Traité	4,28E+06	1,66E+04	48,76
102-T2	1 jour après pulvérisation	Non-traité	6,49E+06	1,56E+04	70,03
201-T2	1 jour après pulvérisation	Traité	6,27E+06	2,66E+04	67,60
202-T2	1 jour après pulvérisation	Non-traité	5,53E+06	1,68E+04	63,54
301-T2	1 jour après pulvérisation	Non-traité	7,63E+06	2,47E+04	64,72
302-T2	1 jour après pulvérisation	Traité	6,00E+06	2,53E+04	57,91
101-T3	4 jours après pulvérisation	Traité	3,15E+06	2,22E+04	60,90
102-T3	4 jours après pulvérisation	Non-traité	6,52E+06	2,74E+04	64,04
201-T3	4 jours après pulvérisation	Traité	3,06E+06	2,52E+04	73,23
202-T3	4 jours après pulvérisation	Non-traité	8,89E+06	3,28E+04	84,40
301-T3	4 jours après pulvérisation	Non-traité	9,61E+06	4,06E+04	98,71
302-T3	4 jours après pulvérisation	Traité	1,33E+07	5,59E+04	142,48
Thé¹			3,24E+08	2,94E+05	518,74
/ermicompost ²			2,11E+10	3,35E+08	1,30E+05

⁽¹⁾ Les bactéries ou champignons totaux du thé sont exprimés en UA/ml. La concentration d'ADN est en ng/ml

Les résultats détaillés des dénombrements de bactéries et de champignons totaux par qPCR présentés au Tableau 2 indiquent que le total de bactéries est de 2 Log10 plus élevés que le total des champignons détectés par cm² de feuilles traitées ou non. De fait, hormis les résultats des parcelles 301-T3 et 302-T3 qui montrent une très légère supériorité du nombre de bactéries et de champignons dénombrés par cm2 de feuilles traitées. Tous les résultats indiquent que les dénombrements de bactéries totales ou de champignons totaux ont peu varié en fonction de la pulvérisation du thé de compost autant entre les blocs, que dans le temps espacé entre le T0 et le T3 4 jours après la pulvérisation. Les dénombrements obtenus des extraits d'ADN du thé de compost et du vermicompost sont nettement plus élevés que ceux observés pour les extraits de feuilles. D'une part, les inocula étant beaucoup plus concentrés en ADN, il serait intéressant d'estimer le volume d'inoculant apposé sur la surface des feuilles afin d'évaluer l'effet de la pulvérisation sur la concentration effective des bactéries et des champignons sur les feuilles traitées par rapport à celle observée sur les feuilles témoins.

⁽²⁾ Les bactéries ou champignons totaux du vermicomport sont exprimés en UA/g sec. La concentration d'ADN est en ng/g sec.

Tableau 3 Quantification moyenne des bactéries (BT) et des champignons (CT) totaux selon le type de traitement appliqué aux feuilles des trois parcelles

T '	Temps	T '1	Bactéries totales Champignons totaux		[ADN]
Tissus		Traitement	(UA/cm² de tissus)	(UA/cm² de tissus)	(ng/cm² de tissus)
Feuille	1h avant	Non-traité	4,63E+06	1,14E+04	66,10
Feuille	1h avant	Traité	4,32E+06	1,07E+04	68,05
Feuille	2h après	Non-traité	4,86E+06	1,69E+04	61,56
Feuille	2h après	Traité	5,80E+06	2,12E+04	77,50
Feuille	1 jour après	Non-traité	6,55E+06	1,90E+04	66,10
Feuille	1 jour après	Traité	5,52E+06	2,29E+04	58,09
Feuille	4 jour après	Non-traité	8,34E+06	3,36E+04	82,38
Feuille	4 jour après	Traité	6,49E+06	3,44E+04	92,20
Thé¹			3,24E+08	2,94E+05	518,74
Vermicompost ²			2,11E+10	3,35E+08	1,30E+05

⁽¹⁾ Les bactéries ou champignons totaux du thé sont exprimés en UA/ml. La concentration d'ADN est en ng/ml

Les résultats des décomptes moyens des bactéries et des champignons par cm² de feuilles en fonction des traitements (Tableau 3) indique bien le peu d'impact du traitement sur les dénombrements de bactéries et de champignons. Les extraits des feuilles analysées 2 h après le traitement montrent un très faible accroissement des dénombrements moyens et de la concentration moyenne d'ADN. Finalement, la petite tendance à la hausse des dénombrements 4 jours après applications est également perçue pour les feuilles non traitées (Tableau 3).

4.2 Diversité microbienne des tissus

4.2.1 Richesse microbienne

Tableau 4 Indice de Shannon caractérisant la diversité alpha, ou la richesse bactérienne ou fongique, selon le type de traitement appliqué aux feuilles des trois parcelles

T:	T	Traitement	Bactérienne			Fongique		
Tissus	Temps		Shannon	Chao1	Evenness	Shannon	Chao1	Evenness
Feuille	1h avant	Non-traité	0,69	35,70	0,20	3,70	102,33	0,80
Feuille	1h avant	Traité	0,70	29,94	0,21	3,78	95,67	0,83
Feuille	2h après	Non-traité	0,77	53,96	0,20	3,87	115,11	0,82
Feuille	2h après	Traité	0,91	86,67	0,21	3,90	120,90	0,81
Feuille	1 jour après	Non-traité	0,71	41,06	0,19	3,85	122,06	0,81
Feuille	1 jour après	Traité	0,83	60,05	0,21	3,89	123,79	0,81
Feuille	4 jour après	Non-traité	0,75	43,13	0,21	3,77	124,73	0,78
Feuille	4 jour après	Traité	0,77	48,30	0,21	3,51	92,06	0,78
Thé			2,51	92,14	0,56	4,42	116,00	0,93
Vermicompost			5,45	484,43	0,88	4,43	142,25	0,89

Chacun des trois indices de diversité alpha des communautés bactériennes montrent des valeurs beaucoup plus élevées pour le vermicompost, suivi de loin par l'extrait de thé de compost, alors que celles des extraits de feuilles

⁽²⁾ Les bactéries ou champignons totaux du vermicomport sont exprimés en UA/g sec. La concentration d'ADN est en ng/g sec.

sont les plus faibles. Cependant, les trois indices de diversité alpha des communautés fongiques sont seulement un peu plus élevés dans les extraits de vermicompost ou de thé de compost par rapport aux extraits de feuilles. Lorsque les valeurs des indices de Shannon et Chao1 des communautés bactériennes des extraits de feuilles sont comparés entre les deux traitements, les écarts les plus grands entre les valeurs d'indice sont observés pour les extraits préparés 2 h après le traitement (Tableau 4). L'écart entre les valeurs d'indices rétrécissent entre les extraits préparés 1 j après le traitement et sont similaires pour les extraits préparés 4 j après l'application.

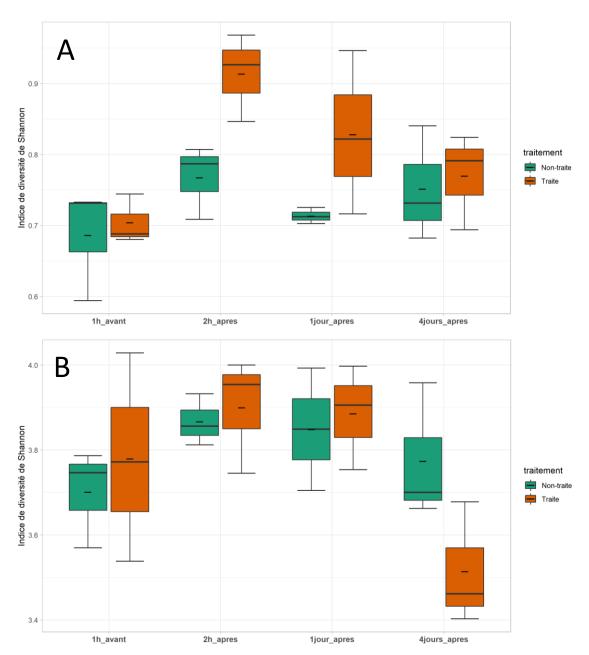


Figure 1 Représentation boxplot de la comparaison des Indices de richesse de Shannon des communautés bactériennes (A) et fongiques (B) pour les extraits de feuilles témoin ou traités au thé de compost.

La figure 1-A illustre bien que les indices de Shannon des bactéries des extraits de feuilles 2 h après avoir été traitées au thé sont plus élevés que ceux des extraits des feuilles non-traitées, tandis que la différence des valeurs

pour les indices des extraits traités ou non aux autres périodes de prélèvement ne montrent pas tant de différence. La figure 1-B illustre que les indices de Shannon des communautés fongiques ne varient pas selon la période des traitements.

4.2.2 Composition de la diversité bactérienne

Ordination-PCoA-emp-feuille

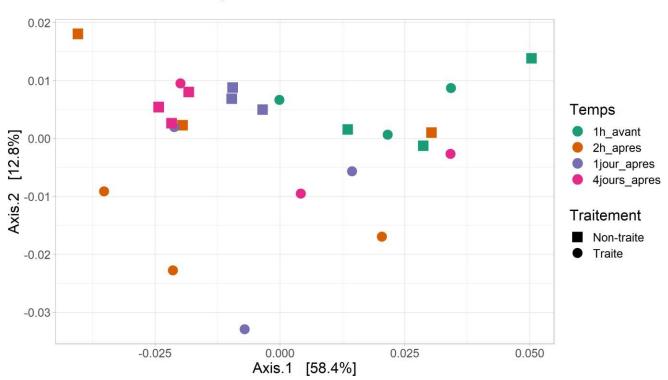


Figure 2 Ordination PCoA permettant de comparer la composition de la diversité bactérienne des feuilles.

La figure 2 illustre l'évolution de la composition des communautés bactériennes des extraits de feuilles témoins (carrés) ou traités au thé de compost (ronds) lorsque les extraits sont préparés 1 h avant (verts), 2 h après l'application du thé (brun), 1 j après (violet) ou 4 j après le traitement (rose). Plus deux points sont rapprochés, plus similaires sont les communautés bactériennes contenues dans ces deux extraits.

Les communautés bactériennes des feuilles témoins sont davantage similaires puisque les carrés sont plus rapprochés les uns des autres comparativement à l'étalement des ronds sur les deux axes de l'ordination PCoA. Cela démontre bien que, l'application du thé de compost a un effet beaucoup plus perturbant par rapport à l'homogénéité apparente des communautés des feuilles témoins. Cet effet perturbateur s'estompe progressivement toutefois, puisque le très grand étalement des points bruns (2 h après l'application) fait place à des points violets plus rapprochés et des points roses encore moins dispersés (Figure 2).

La figure 3 illustre la plus grande diversité taxonomique des phyla bactériens de l'extrait du vermicompost, alors que le thé de compost et les extraits de feuilles ont une composition de phyla bactériens beaucoup plus simple. La répartition des ordres bactériens est conséquente avec les plus faibles valeurs d'indice de Shannon de la richesse de la communauté bactérienne calculées pour les échantillons de feuilles (Tableau 4 et Figures 3 et 4).

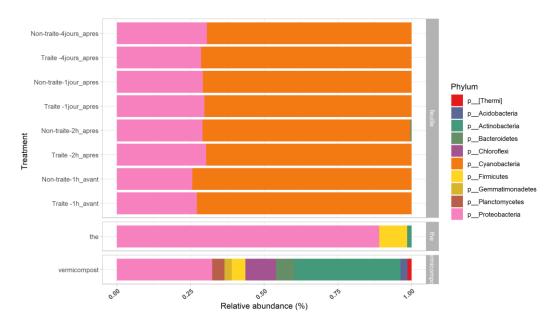


Figure 3 Proportions relatives des principaux phyla bactériens des échantillons composites (groupes > 1%)

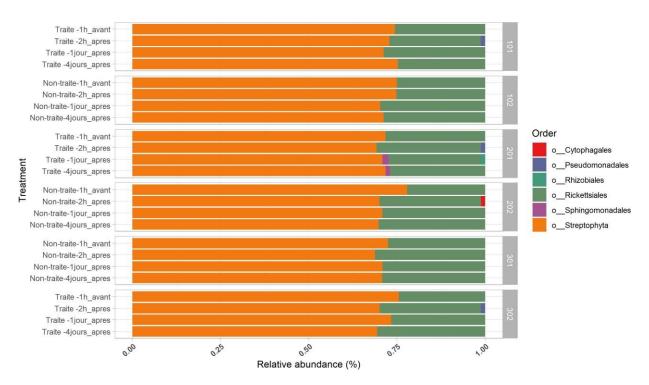


Figure 4 Proportions relatives des principaux ordre bactériens dans les extraits de feuilles (groupes > 1%)

À l'échelle taxonomique des phyla bactériens, les extraits de feuilles regroupent surtout des Cyanobactéries et des Protéobactéries. Le vermicompost est surtout composé d'Actinobactéries, de Protéobactéries, de Chloroflexi et de Firmicutes. Le thé de compost regroupe pour sa part les phyla bactériens des Protéobactéries, des Firmicutes et des Actinobactéries. Les Cyanobactéries sont très présentes dans les extraits de feuilles, mais elles ne sont pas détectées dans le thé de compost ni dans le vermicompost (Figure 3). L'analyse détaillée des ordres bactériens

des extraits de feuilles de chaque bloc indique que seuls les extraits préparés 2 h après la pulvérisation montrent une très faible proportion de Pseudomonadales (tous du genre des Pseudomonas) dans les feuilles traitées (Figure 4). Ce genre était absent avant la pulvérisation (traité et non-traité) et sur les plants témoin mais se retrouve dans le thé de compost.

4.2.3 Composition de la diversité fongique

La figure 5 illustre l'évolution de la composition des communautés fongiques des extraits de feuilles témoins (carrés) ou traités au thé de compost (ronds) lorsque les extraits sont préparés 1 h avant (verts), 2 h après l'application du thé (brun), 1 j après (violet) ou 4 j après le traitement (rose). La répartition très éclatée des points associés aux extraits préparés 2h après la pulvérisation indique que la pulvérisation a un effet perturbateur sur les communautés fongiques. Toutefois, l'étalement des points, autant les carrés que les ronds, de tous les autres traitements indique que la diversité plus restreinte des communautés fongiques est moins affectée par le traitement et par la période à laquelle les extraits de feuilles sont préparés

Ordination-PCoA-bits-feuille

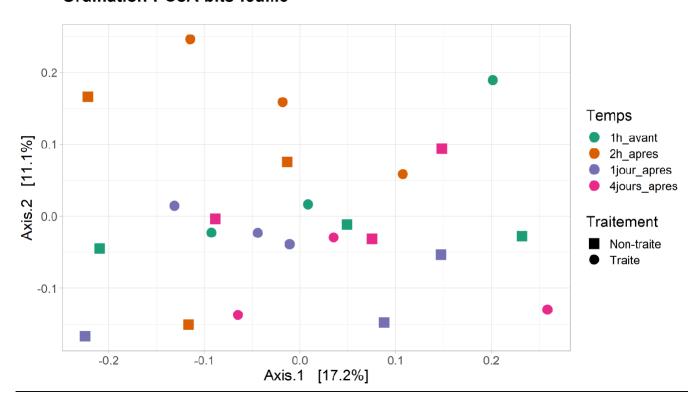


Figure 5 Ordination PCoA permettant de comparer la composition de la diversité fongique des feuilles.

La composition taxonomique des communautés fongiques révèle que le thé de compost offre la plus grande diversité, tous les groupes fongiques étant représentés. Le vermicompost regroupe des Ascomycètes et des

Basidiomycètes avec une bonne proportion de champignons non identifiés (Figure 6). Les traitements ne semblent pas avoir eu d'effets majeurs sur la répartition des proportions des ordres fongiques (Figure 7) à une exception. Une analyse détaillée des ordres fongiques des extraits de feuilles de chaque bloc indique la détection de *Humicola nigrescens* (ordre des Sordariales) dans le bloc 302 (2 h après la pulvérisation) et les blocs 101 et 201 (1 jour après la pulvérisation) dans les feuilles traitées (Figure 7). Cette espèce était absente avant la pulvérisation (traité et non-traité) et sur les plants témoin mais se retrouve dans le thé de compost.

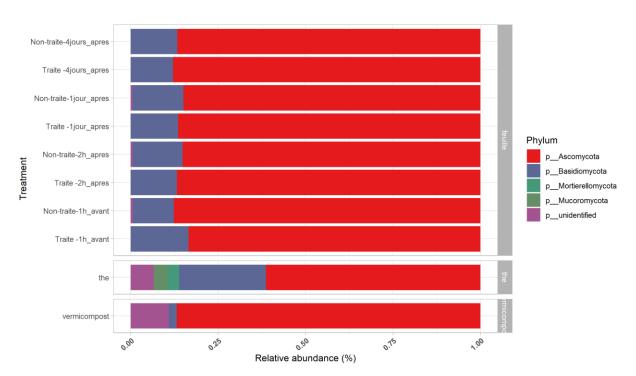


Figure 6 Proportions relatives des principaux phyla fongiques détectés dans tous les échantillons (groupes supérieurs à 1%)

La figure 6 illustre la plus grande diversité taxonomique des phyla fongiques de l'extrait du thé, alors que le vermicompost et les extraits de feuilles ont une composition de phyla fongiques beaucoup plus simple. L'on observait une plus grande diversité taxonomique des phyla bactériens dans le vermicompostage (Figure 3).

La diversité des ordres fongiques est conséquente avec les valeurs plus élevées d'indice de Shannon de la richesse de la communauté fongique calculées pour les échantillons de feuilles (Tableau 4 et Figure 7).

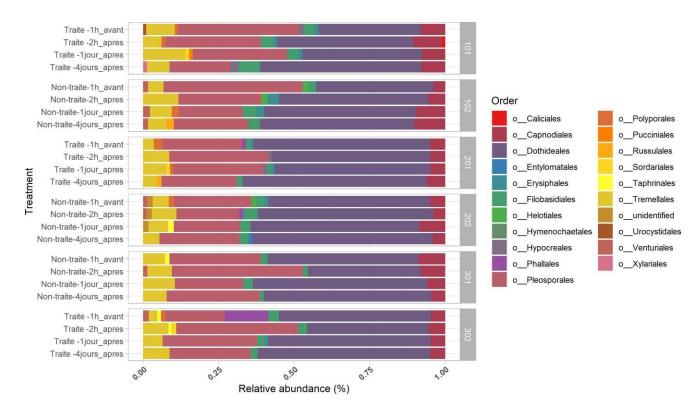


Figure 7 Proportions relatives des principaux ordre fongiques détectés dans toutes les feuilles (groupes supérieurs à 1%)

4.3 Conclusions

L'application des thés de compost a davantage eu d'impact sur l'indice Shannon de richesse des populations bactériennes au temps T1 et T2, soit respectivement 2 h et 1 j après l'application (Tableau 4). La plus grande richesse et diversité taxonomique bactérienne du vermicompost et du thé de vermicompost par rapport à celle de la surface des feuilles explique cet impact qui n'est toutefois pas persistant puisque les valeurs d'indice de Shannon des échantillons de feuilles 4 j après pulvérisation redeviennent plus similaires à celles des feuilles 1 h avant pulvérisation (Tableau 4). L'analyse détaillée de la composition a révélé que le thé de compost semble avoir apporté sur les feuilles des bactéries du genre Pseudomonas et des champignons de l'espèce *Humicola nigrescens*. Elles ont été détectées jusqu'a 1 jour après l'application de thé, mais elles n'étaient plus détectables après 4 jours.

5 RÉFÉRENCES

Apprill, A. et al. (2015) 'Minor revision to V4 region SSU rRNA 806R gene primer greatly increases detection of SAR11 bacterioplankton', *Aquatic Microbial Ecology*, 75(2), pp. 129–137. doi: 10.3354/ame01753.

Bokulich, N. a and Mills, D. a (2013) 'Improved selection of internal transcribed spacer-specific primers enables quantitative, ultra-high-throughput profiling of fungal communities.', *Applied and environmental microbiology*, 79(8), pp. 2519–26. doi: 10.1128/AEM.03870-12.

Caporaso, J. G. et al. (2010) 'QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data.', *Nature methods*. Nature Publishing Group, 7(5), pp. 335–6. doi: 10.1038/nmeth.f.303.

Comeau, A. M., Douglas, G. M. and Langille, M. G. I. (2017) 'Microbiome Helper: a Custom and Streamlined Workflow for Microbiome Research', *mSystems*, 2(1), pp. e00127-16. doi: 10.1128/mSystems.00127-16.

DeSantis, T. Z. et al. (2006) 'Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB.', Applied and environmental microbiology, 72(7), pp. 5069–72. doi: 10.1128/AEM.03006-05.

Emerson, J. B. *et al.* (2015) 'Impacts of flood damage on airborne bacteria and fungi in homes after the 2013 Colorado Front Range flood', *Environmental science & technology*. ACS Publications, 49(5), pp. 2675–2684.

Fierer, N. et al. (2005) 'Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays', Applied and Environmental Microbiology, 71(7), pp. 4117–4120. doi: 10.1128/AEM.71.7.4117.

Koljalg, U. et al. (2013) 'Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi', *Molecular ecology*, 22, pp. 5271–5277.

Parada, A. E., Needham, D. M. and Fuhrman, J. A. (2016) 'Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples', *Environmental microbiology*. Wiley Online Library, 18(5), pp. 1403–1414.

Quast, C. et al. (2013) 'The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and webbased tools', *Nucleic Acids Research*, 41(D1), pp. D590-6. doi: 10.1093/nar/gks1219.