

COMBICONTROL

AUTOUR DE LA JAMBE NOIRE

Un consortium français de partenaires académiques et privés s'est constitué autour de la problématique de la jambe noire, cause importante de refus en production de plant et source de pertes économiques en consommation et industrie. Trois objectifs étaient fixés : proposer des traitements et pratiques ; caractériser les populations bactériennes dans différents compartiments ; ainsi qu'étudier les facteurs de virulence.

Les maladies de la jambe noire et de la pourriture molle sont provoquées par les bactéries pathogènes *Pectobacterium* et *Dickeya* (anciennement *Erwinia*). En Europe, elles sont chaque année la cause de 25 à 50 % des refus en pro-

duction de plants de pommes de terre. Ces maladies peuvent également toucher les filières de consommation et de transformation engendrant des pertes économiques importantes.

Étant donné l'absence de traitement phytosanitaire contre ces bactéries, le premier challenge du projet CombiControl, lancé par un consortium français de partenaires académiques et privés (voir encadré), était de proposer des traitements et des pratiques non chimiques, durables pour réduire la propagation et l'impact de ces pathogènes sur les rendements et la qualité sanitaire des plants de pommes de terre.

Le deuxième challenge a consisté à caractériser la structure des populations des pathogènes *Pectobacterium* et *Dickeya* associés ou non à des cultures (parcelles de pomme de terre, rivières, lacs) et à des échelles géographiques variées (internationale, nationale, régionales, sites). De précédents travaux d'épidémiologie de la RD3PT ciblant la culture de pomme de terre avaient d'ailleurs déjà permis de mettre en évidence plusieurs espèces (*P. parmentieri*, *P. brasiliense*, *D. solani*) qui n'avaient jusqu'alors pas été identifiées correctement faute d'outils discriminants et adaptés à leur diagnostic (LPTF, numéro 603). Le projet CombiControl s'est aussi intéressé à analyser les dynamiques des populations de *Pectobacterium* et de *Dickeya* associées à des écosystèmes variés pour en caractériser les popu-

lations et mettre en évidence d'éventuels taxons émergents (nouvelles espèces, sous-espèces). Les agents de biocontrôle sélectionnés lors de travaux antérieurs entre la RD3PT, la Sipre et le CNRS, pour leurs propriétés d'antivirulence et d'antibiose (voir ci-contre) ont été testés vis-à-vis des espèces récemment identifiées afin de s'assurer de la pérennité de leur activité de biocontrôle.

Le troisième challenge du projet était d'étudier les facteurs de virulence et leur régulation chez les espèces *D. dianthicola* et *D. solani*, initialement mal connus.

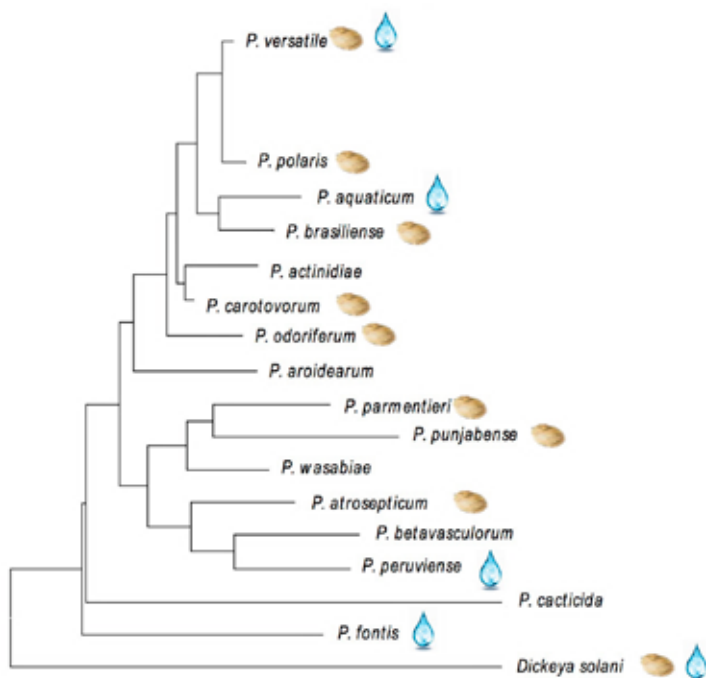
CHALLENGE 1 STRATÉGIES DE BIOCONTRÔLE

Les stratégies de biocontrôle qui ont été testées en conditions contrôlées et en parcelles (2016, 2017 et 2018) ont associé sept agents de biocontrôle vis-à-vis des mélanges de populations des genres *Pectobacterium* et *Dickeya*. Les résultats de ces travaux sont très encourageants. La RD3PT souhaite valoriser ces stratégies et recherche un partenaire industriel pour formuler et commercialiser ces produits de biocontrôle.

• Anti-virulence

La première stratégie de biocontrôle est fondée sur la dégradation des signaux de communication qui sont émis par les bactéries *Pectobacterium* et *Dickeya* pour induire la production d'enzymes pectinolytiques.

1 Rôle réservoir des systèmes aquatiques



L'exploration de divers compartiments environnementaux suggère le rôle réservoir des systèmes aquatiques pour certaines espèces pathogènes des plantes. Les inventaires réalisés en parcelles de pomme de terre montrent que les bactéries associées aux symptômes de jambe noire (🍅) appartiennent à au moins huit espèces de *Pectobacterium*.

L'analyse de systèmes aquatiques a permis de mettre en évidence des espèces bactériennes (💧) dont certaines semblent être plus particulièrement inféodées à ce milieu alors que d'autres ont également pu être identifiées sur plantes.



Des champs expérimentaux d'essai de protection des plants de pomme de terre par biocontrôle ont été mis en place dans le cadre du projet Combicontrol.

→ ZOOM

LES PARTENAIRES DU PROJET

• C'est en 2015 qu'un consortium français de partenaires académiques et privés s'est structuré dans le cadre du projet de recherche Combicontrol pour travailler sur l'évaluation, la combinaison et l'adaptation d'approches de biocontrôle ainsi que sur la caractérisation génétique et fonctionnelle des populations complexes de *Pectobacterium* et *Dickeya*. Ce consortium s'est inscrit dans la continuité de travaux menés par les partenaires (RD3PT/Sipre/CNRS) sur la thématique du biocontrôle contre la jambe noire et la pourriture molle, initiés en 2007.

Le projet Combicontrol a été soutenu par l'Agence nationale de la recherche de 2016 à 2019 (ANR-15-CE21-0003). Il associait la Sipre, la RD3PT, le CNRS, l'Université de Lyon, l'Institut d'écologie et des sciences de l'environnement de Paris et était coordonné par Denis Faure (Institut de biologie intégrative de la cellule, CNRS Gif-sur-Yvette).

Ces enzymes provoquent la macération des tissus végétaux. Ce mode de communication bactérienne est appelé *quorum-sensing* (QS). Des bactéries naturellement présentes dans le sol, appartenant à l'espèce *Rhodococcus erythropolis*, ont été isolées pour leur capacité à produire des enzymes capables de dégrader les signaux QS permettant ainsi de bloquer l'agressivité des pathogènes. La stimulation dans le sol des bactéries bénéfiques dont *Rhodococcus erythropolis* via des biostimulants a fait l'objet d'un dépôt de brevet international.

• Antibiose

La deuxième stratégie est fondée sur des mécanismes d'antibiose de certaines bactéries et notamment des genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. Plus de dix mille bactéries ont été isolées à partir de rhizosphères provenant de différents sols français. Après des étapes successives de criblage réalisées en cultures en microplaques, en boîtes de Pétri et enfin sur tranches de tubercules, les isolats bactériens parmi les plus prometteurs ont été testés lors d'essais en serre et au champ pour valider leur efficacité (Raoul des Essarts FN3PT/RD3PT, Comité Nord/Sipre, CNRS).

CHALLENGE 2 DIVERSITÉ ET COMPLEXITÉ DES ESPÈCES BACTÉRIENNES

Le projet Combicontrol a permis d'évaluer la diversité naturelle des pathogènes *Dickeya* et *Pectobacterium*, non seulement au sein de

parcelles de plants de pommes de terre grâce aux prospections réalisées par la RD3PT/Sipre en lien avec les trois OP (Comité Nord, Bretagne Plants, Comité Centre et Sud) mais aussi dans des eaux de surfaces de diverses origines (voir **figure 1**). Ces environnements peu explorés à ce jour, sont des réservoirs potentiels de ces bactéries. Ainsi, le projet a mis en évidence, à l'échelle française et/ou internationale, plusieurs nouvelles espèces appartenant aux genres *Dickeya* (*D. lacustris*, *D. undicola*) et *Pectobacterium* (*P. punjabense*, *P. aquaticum*, *P. fontis*, *P. versatile*) ainsi que la présence en France d'espèces jusqu'alors décrites uniquement à l'étranger (*D. fangzhongdai* et *P. peruvienne*). Un outil moléculaire a par ailleurs été développé par les partenaires (RD3PT/Sipre/CNRS) permettant d'identifier rapidement les isolats des différentes espèces des genres *Pectobacterium* et *Dickeya*. Ces résultats montrant la grande diversité de ces pathogènes permettront de développer des outils de détection et des méthodes de lutte ciblant les espèces pathogènes représentant un risque majeur pour la pomme de terre.

CHALLENGE 3 FACTEURS DE VIRULENCE ET LEUR RÉGULATION CHEZ *D. DIANTHICOLA* ET *D. SOLANI*

Des travaux de génomique ont comparé les deux pathogènes *D. dianthicola* et *D. solani* qui présentent plus de 3000 gènes communs. Certains de ces gènes communs, comme

des gènes de virulence, ont une régulation différente chez *D. solani* et *D. dianthicola*. La comparaison d'isolats de ces deux espèces a permis d'identifier des traits potentiellement impliqués dans l'émergence du pathogène *D. solani* et dans sa capacité d'installation aux côtés des autres espèces *D. dianthicola* et *Pectobacterium spp.* Ces travaux permettent de comprendre les processus d'adaptation et les modes de vie de ces pathogènes, donc de mieux cibler les méthodes de lutte afin d'en améliorer l'efficacité.

POUR CONCLURE

Le projet Combicontrol a permis la production de nouvelles connaissances utilisables pour la filière plants de pommes de terre notamment pour améliorer les stratégies de biocontrôle dans la lutte contre les bactéries pectinolytiques *Dickeya* et *Pectobacterium* en tenant compte aussi de leur diversité. Les résultats ont aussi conduit à la publication de quinze articles scientifiques ainsi que des communications orales ou sous forme de posters au niveau national et international renforçant ainsi l'expertise des partenaires sur ces thématiques. /

AMÉLIE BEURY, VIRGINIE GOBERT, VALÉRIE HÉLIAS (FN3PT) ET DENIS FAURE (CNRS)



Jambe noire et pourriture molle sont chaque année la cause de 25 à 50 % des refus en production de plants.