ACTES DU COLLOQUE

IUT DE LA RÉUNION
Institut Universitaire de Technologie
UNIVERSITÉ DE LA RÉUNION
adiut
ASSEMBLÉE DES DIRECTEURS D'IUT
RÉGION RÉUNION
www.regionreunion.com
TECHNOPOLE DE LA RÉUNION
Techsud
Parc Technologique du Sud de La Réunion
LAB PIMENT
Crous La Réunion Mayotte
CIVIS
COMMUNAUTÉ D'AGGLOMÉRATION DES VILLES SOLIDAIRES
VILLE DE SAINT-PIERRE
exsel Authentic hotels
Frenchbee
NouLouTou.com

Prévalence contrastée des souches de l'agent causal du flétrissement bactérien (le complexe d'espèces *Ralstonia* solanacearum) dans les îles du sud-ouest de l'océan Indien

Marie Véronique Nomenjanahary[1] Stéphanie Javegny[2] Jean-Jacques Chéron[2]
Floriane Ichard[2] Antinéa Sallen[2] Manon Langelez[2] Santatra Ravelomanantsoa[3]
Stéphane Poussier[4] Yann Pecrix[2]
marie-veronique.nomenjanahary@univ-reunion.fr stephane.poussier@univ-reunion.fr
yann.pecrix@cirad.fr

[1] UFR Sciences de l'Homme et de l'Environnement, Université de La Réunion
UMR Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical, Saint Pierre, La Réunion

[2] Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
UMR Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical, Saint Pierre, La Réunion

[3] Centre National de Recherche Appliquée au Développement Rural FOFIFA/CENRADERU
Département de Recherche Agronomique, Antananarivo, Madagascar

[4] IUT de Saint Pierre, Université de La Réunion
UMR Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical, Saint Pierre, La Réunion

Thèmes – *Biologie*

Résumé – *Le complexe d'espèces Ralstonia solanacearum est l'agent responsable du flétrissement bactérien chez les plantes. Il peut être classifié en trois espèces, quatre phylotypes et une soixante-dizaine de variants phylogénétiques nommés sequevars. Dans le sud-ouest de l'océan Indien, il présente une répartition hétérogène. Le sequevar 31 prédomine partout sauf à Madagascar, à Maurice et à Rodrigues. Les tests de mise en compétition in vitro de ce sequevar prédominant avec le sequevar 18 prédominant à Madagascar montre qu'il est plus compétitif. Dans l'objectif de comprendre pourquoi le sequevar 31 n'arrive pas à prédominer à Madagascar, des analyses de génomiques comparatives ont été réalisées. Un effecteur bactérien, différenciant ces deux sequevars, a été mis en évidence. Des études démontrant l'avirulence de cet effecteur face à un gène de résistance présent chez une accession d'aubergine nous a permis d'établir une carte de prédiction, montrant de nouveau la présence de ce contraste entre Madagascar et les autres îles du sud-ouest de l'océan Indien.*

.

Mots-Clés – *Flétrissement bactérien, bactérie, pathogène, sud-ouest de l'océan Indien.*

1 Introduction

Le complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* est l'agent responsable du flétrissement bactérien. C'est une maladie qui sévit chez une grande variété de plantes, de cultures maraîchères, fruitières, ornementales et forestières [1].

Cet agent pathogène se retrouve sur tous les continents, mais il est principalement recensé dans les zones tropicales, subtropicales et tempérées chaudes [2]. Il est caractérisé par une forte diversité génétique, constitué de trois espèces ; et de quatre lignées phylogénétiques, appelés phylotypes, regroupant différents sequevars [3], au nombre de 71 répertoriés jusqu'à présent. Un sequevar est un groupe phylétique de souche partageant un seuil d'un pourcent de divergence sur une séquence partielle d'un gène qui code l'*endoglucanase* [3].

Dans le sud-ouest de l'océan Indien, les pertes agricoles engendrées par cet agent pathogène sont élevées. Les différentes prospections faites dans cette région ont montré la présence d'une diversité riche et contrastée dans les différentes îles [4], [5].

En effet, une hétérogénéité est observée dans la répartition géographique des souches dans la région du sud-ouest de l'océan Indien, où huit sequavars du phylotype prédominant (le phylotype I) sont répertoriés (figure 1). Une forte prévalence du sequevar 31 a été établi sur toutes les îles de la région, à l'exception de Madagascar, de Maurice et de Rodrigues ; où ce sont respectivement les sequevars 18 et 33 qui prédominent [4].

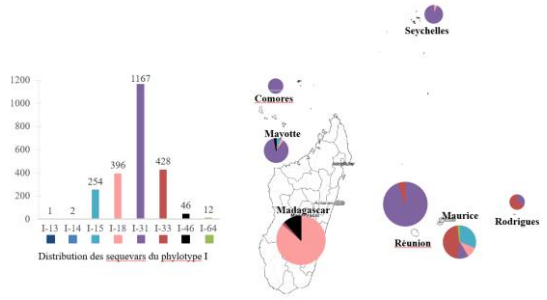

Figure 1 – Contraste dans la répartition des sequevars du phylotype I dans le sud-ouest de l'océan Indien

Nos travaux de recherche ont pour objectif de comprendre l'origine du succès épidémiologique des souches du sud-ouest de l'océan Indien.

2 Un sequevar plus compétitif qu'un autre

Des tests de compétition intraspécifique *in vitro* ont été effectués pour évaluer l'avantage adaptatif des différents sequevars. Pour différencier les deux souches, l'une d'elle a été complémentée avec un gène de résistance à la gentamicine, marqué par la lettre « G » dans nos résultats.

Leur abondance relative est suivie au cours du temps. Une souche, isolée à La Réunion, appartenant au sequevar le plus prédominant de la région (sequevar 31 ou 31R) et une souche appartenant au sequevar le plus prévalent à Madagascar (sequevar 18 ou 18M) ont été mises en compétition (figure 2).

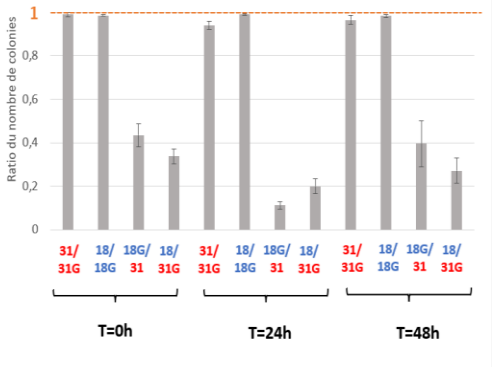

Figure 2 – La souche de sequevar 31 réunionnaise (31R) a un avantage adaptatif sur la souche de sequevar 18 malgache (18M), en compétition *in* vitro, où G=résistance à la gentamicine, un marqueur utilisé pour distinguer les souches en co-cultures compétitives

L'évolution du ratio constaté à T24h et à T48h montre la présence d'une compétition entre les deux souches (figure 2). Au regard des résultats, la souche réunionnaise (31R) présente un avantage adaptatif sur la souche malgache (18M). Pourtant, ce constat n'est pas le même *in situ* à Madagascar où le sequevar 18 est plus prévalent que le sequevar 31.

3 Une différence au niveau moléculaire

Grâce à la disponibilité de génomes de quelques souches représentatives de chaque sequevar prédominant, une analyse de génomique comparative a pu être effectuée sur ces deux souches mises en compétition. La comparaison du nombre de polymorphismes nucléotidiques (SNPs) a montré un éloignement génétique entre les deux sequevars. Un total de 26 516 SNPs diffèrent les génomes des deux souches de ces deux sequevars.

D'une manière exploratoire, une comparaison de contenu en effecteurs de type III chez ces souches a été faite. Par définition, un effecteur de type III est une protéine injectée dans l'espace intercellulaire des plantes hôtes [6]. Ces effecteurs ont plusieurs rôles, notamment, la suppression de défense de la plante hôte, la modification du métabolisme, du fonctionnement et de la structure cellulaire végétale, dans le but de faciliter l'infection bactérienne [7].

Cette analyse a montré que, si aucun effecteur n'est spécifique aux souches du sequevar 31, quelques effecteurs sont propres aux souches du sequevar 18. Il y a

également 22 effecteurs différenciant les deux souches mises en compétition.

4 Un effecteur de type III, cible de mutation

Les effecteurs de type III peuvent être reconnus par de gènes de résistance présents chez les plantes hôtes et déclencher l'immunité. Parmi ces effecteurs figure *RipAX2*. Ce dernier interagit avec un locus de résistance *EBWR9* [8] chez une accession d'aubergine *Solanum melongena* appelée AG91-25 [9], [10]. Il a été démontré que la présence de RipAX2, notamment de l'allèle de la souche de référence GMI1000 est suffisante pour que AG91-25 contrôle la maladie du flétrissement bactérien.

Dans l'objectif de pouvoir proposer un plan de déploiement raisonné de ce type d'accession résistante dans les agroécosystèmes du sud-ouest de l'océan Indien, une sélection de 500 souches représentatives ont été analysées. La séquence nucléique de cet effecteur RipAX2 a été identifiée et testée sur l'aubergine AG91-25.

Il s'est avéré que la totalité des souches réunionnaises (tous sequevars confondus) analysées sont prédites contrôlées. Par contre, 66% des souches malgaches (sequevar 18 pour la plupart) ne le sont pas (figure 3). Ces dernières présentent des mutations majeures modifiant la longueur et la séquence protéique de l'effecteur RipAX2.

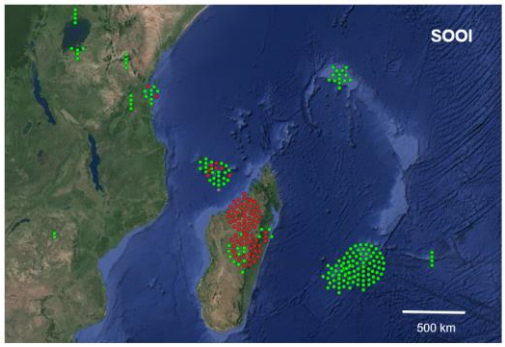

Figure 3 – Prédiction de la virulence des souches malgaches sur l'aubergine AG91-25 dans le sud-ouest de l'océan Indien (en rouge les souches virulentes, non contrôlées par la résistance de la plante et en vert celles avirulentes, contrôlées par la résistance de la plante)

5 Conclusions

Notre étude montre la présence d'un contraste entre La Réunion et Madagascar. Les souches du complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* présentes dans les deux îles semblent avoir une grande différence génétique. Etonnamment, malgré l'avantage adaptatif de la souche du sequevar 31 qui prédomine dans le sud-ouest de l'océan Indien, cette dernière n'arrive pas à s'étendre à Madagascar. Notre hypothèse est qu'il pourrait y avoir à Madagascar des conditions agro-écologiques différenciant la grande île des autres îles de la région. L'hypothèse principale porte sur *Solanum aethiopicum*, l'aubergine africaine, une plante hôte largement cultivée à Madagascar, d'où proviendrait l'accession d'aubergine résistante AG91-25 [11].

6 Remerciements

Les auteurs remercient la Région La Réunion et le FEDER, ainsi que le CIRAD et l'Université de La Réunion pour le financement octroyé à la réalisation des travaux de recherche. Nous remercions également la Pôle de Protection des Plantes et le FOFIFA où les expérimentations ont été conduites.

Références

[1] A. C. Hayward, « The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. », *Bact. Wilt Dis. Its Causative Agent Pseudomonas Solanacearum*, p. 9-24, 1994.

[2] EPPO, « *Ralstonia solanacearum* (RALSSL)[World distribution]| EPPO Global Database », 2023. https://gd.eppo.int/taxon/RALSSL/distribution (consulté le 9 février 2023).

[3] P. Prior et M. Fegan, « Recent developments in the phylogeny and classification of *Ralstonia solanacearum* », *Acta Hortic.*, nº 695, p. 127-136, nov. 2005, doi: 10.17660/ActaHortic.2005.695.14.

[4] N. Yahiaoui *et al.*, « Genetic Diversity of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex in the Southwest Indian Ocean Islands », *Front. Plant Sci.*, vol. 8, p. 2139, déc. 2017, doi: 10.3389/fpls.2017.02139.

[5] H. Rasoamanana *et al.*, « Contrasting genetic diversity and structure among Malagasy *Ralstonia pseudosolanacearum* phylotype I populations inferred from an optimized Multilocus Variable Number of Tandem Repeat Analysis scheme », *PLOS ONE*, vol. 15, nº 12, p. e0242846, déc. 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0242846.

[6] M. Erhardt, K. Namba, et K. T. Hughes, « Bacterial Nanomachines: The Flagellum and Type III Injectisome », *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 2, nº 11, p. a000299, nov. 2010, doi: 10.1101/cshperspect.a000299.

[7] D. Landry, M. González-Fuente, L. Deslandes, et N. Peeters, « The large, diverse, and robust arsenal of *Ralstonia solanacearum* type III effectors and their in planta functions », *Mol. Plant Pathol.*, vol. 21, nº 10, p. 1377-1388, 2020, doi: 10.1111/mpp.12977.

[8] S. Salgon *et al.*, « Eggplant Resistance to the *Ralstonia solanacearum* Species Complex Involves Both Broad-Spectrum and Strain-Specific Quantitative Trait Loci », *Front. Plant Sci.*, vol. 8, p. 828, 2017, doi: 10.3389/fpls.2017.00828.

[9] J. Guinard, B. A. Vinatzer, S. Poussier, P. Lefeuvre, et E. Wicker, « Draft Genome Sequences of Nine Strains of *Ralstonia solanacearum* Differing in Virulence to Eggplant (*Solanum melongena*) », *Genome Announc.*, vol. 4, nº 1, p. e01415-15, janv. 2016, doi: 10.1128/genomeA.01415-15.

[10] A. Morel *et al.*, « The eggplant AG91-25 recognizes the Type III-secreted effector RipAX2 to trigger resistance to bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* species complex) », *Mol. Plant Pathol.*, vol. 19, nº 11, p. 2459-2472, 2018, doi: 10.1111/mpp.12724.

[11] G. Ano, Y. Hebert, P. Prior, et C. M. Messiaen, « A new source of resistance to bacterial wilt of eggplants obtained from a cross – *Solanum-aethiopicum* L × Solanum-melongena L », *Agronomie*, vol. 11, p. 555-560, 1991.