

Résistance des plantes à *Ralstonia*, des nouvelles pistes pour la création variétale

Marie Turner - Stéphane Genin



R. solanacearum agent du flétrissement sur plus de 200 espèces

Des hôtes privilégiés: les solanacées



Pomme de terre



Tomate

Aubergine



Mais également...

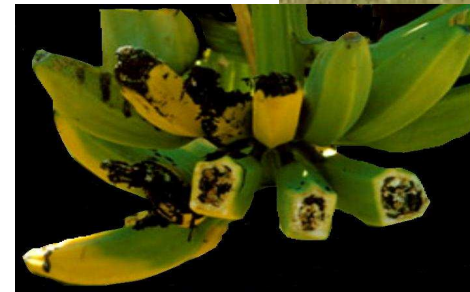
D'autres plantes d'intérêt économique



arachide



geranium



banane



Des arbres



eucalyptus



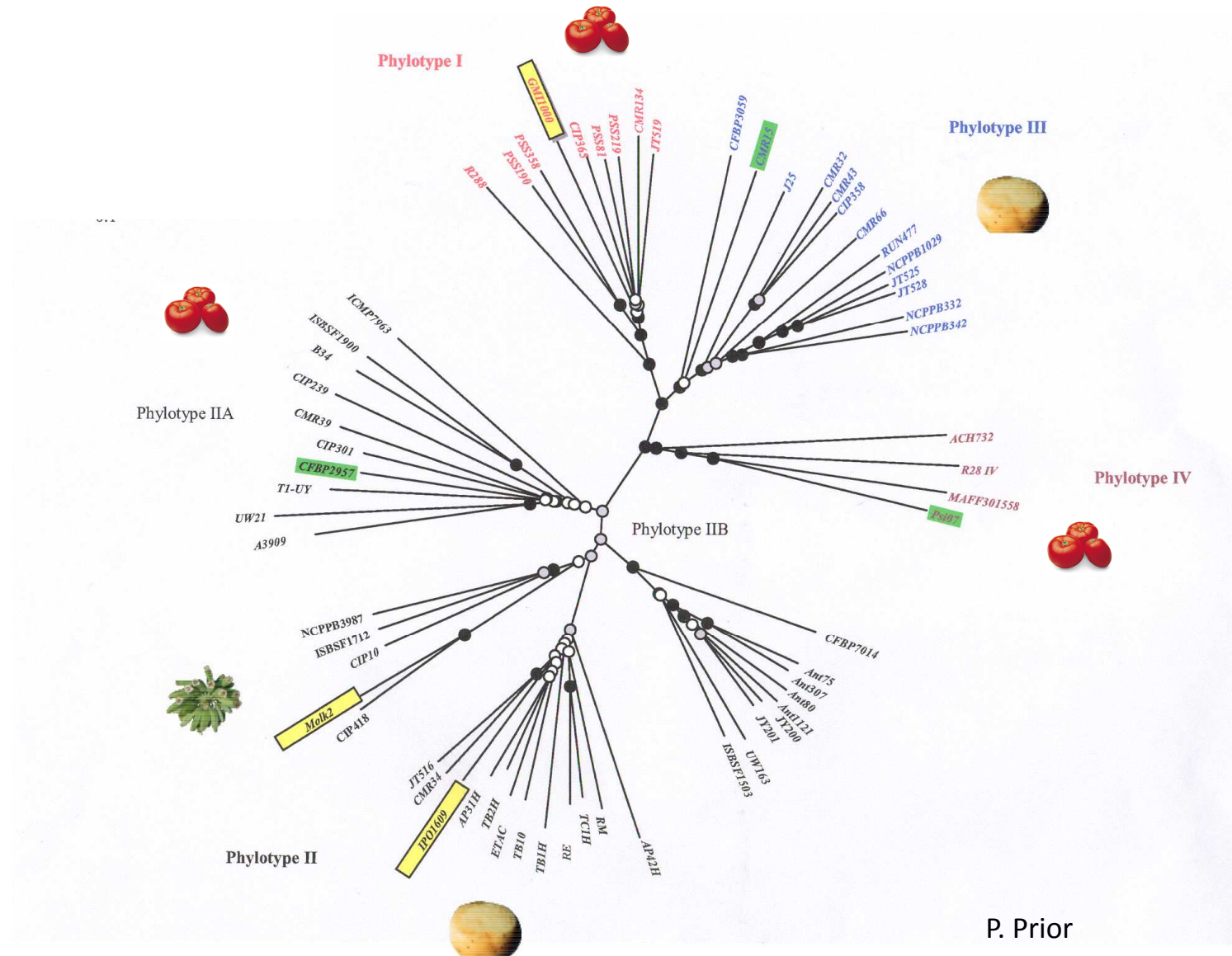
Medicago truncatula

Des plantes modèles



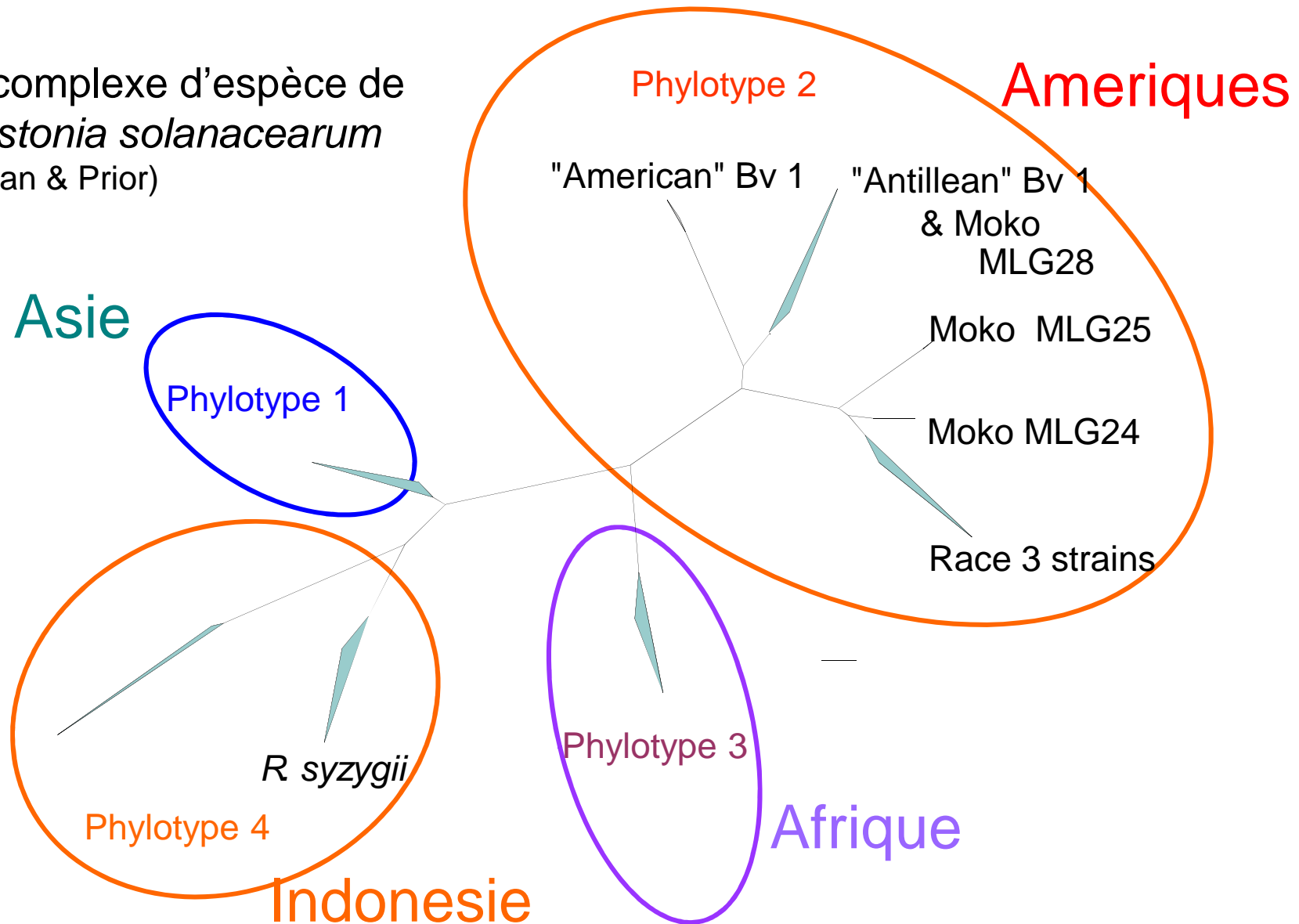
Arabidopsis thaliana

Une phylogénie non corrélée à la gamme d'hôte

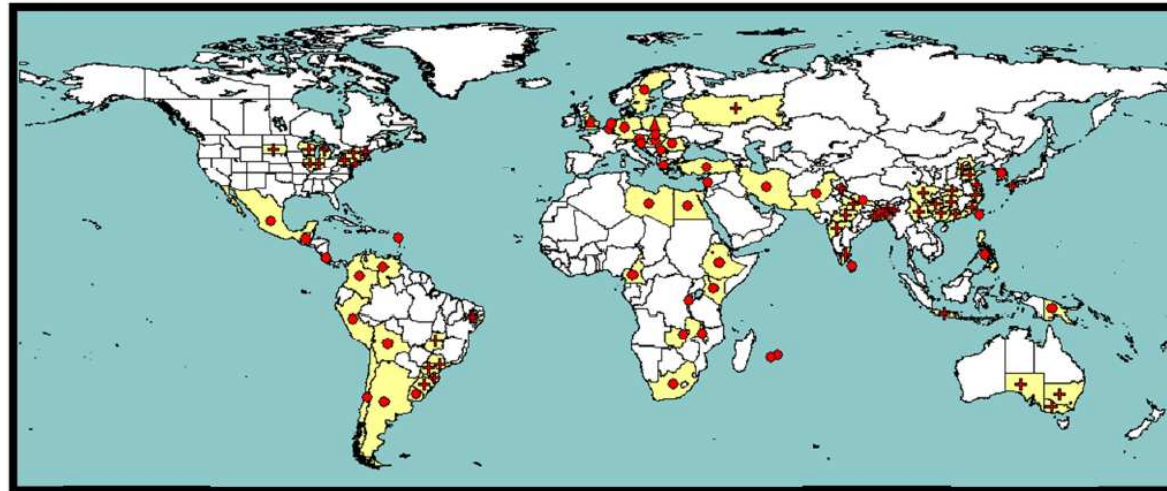


Une phylogénie en corrélation avec l'origine géographique

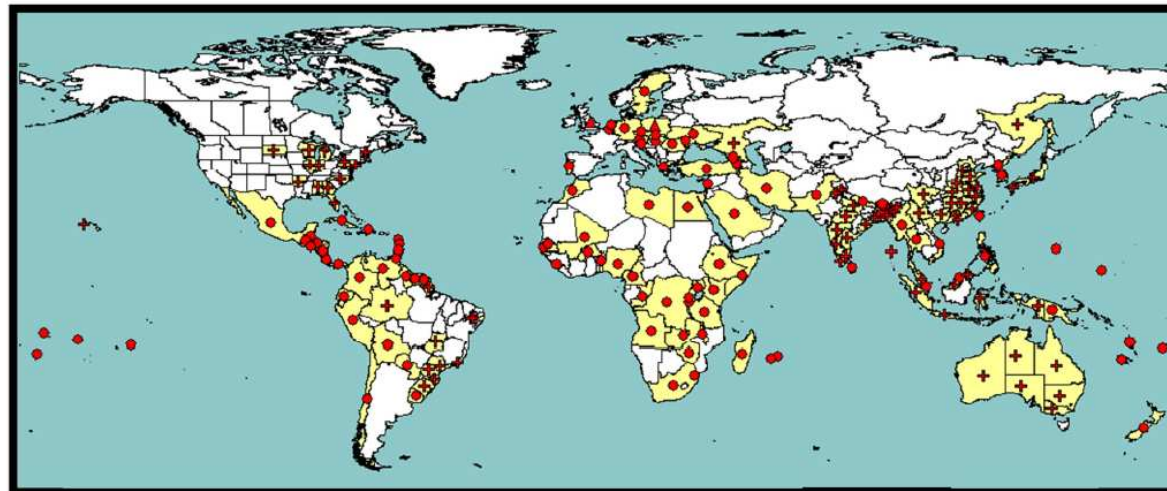
Le complexe d'espèce de
Ralstonia solanacearum
(Fegan & Prior)



Une répartition mondiale des souches, toujours en expansion



1999



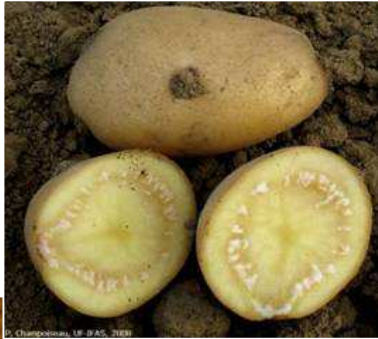
EPPO 2012

2012

Dissémination principale via des tubercules de pomme de terre et des boutures de géranium infectés

Les souches « froides », une menace pour l'Europe

Risque principal: pommes de terre et cultures vivrières (tomate, aubergine)



Une présence détectée en France en 2012



Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

PRÉFET DE SAÔNE-ET-LOIRE

DIRECTION DÉPARTEMENTALE
DES TERRITOIRES

Service Économie agricole

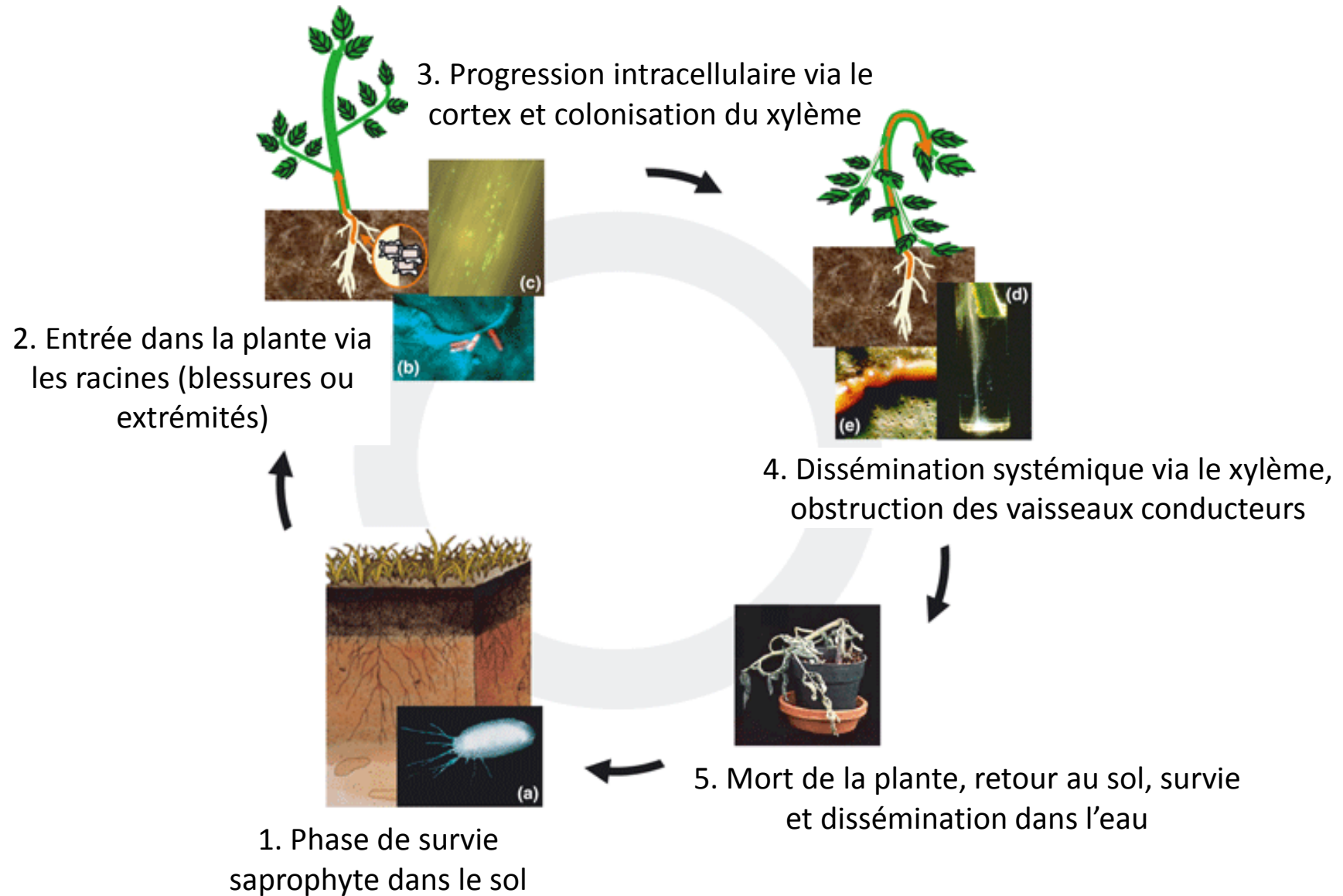
Le préfet de Saône-et-Loire,
chevalier de la Légion d'honneur,
chevalier de l'ordre national du Mérite

ARRÊTÉ n° 12-00664

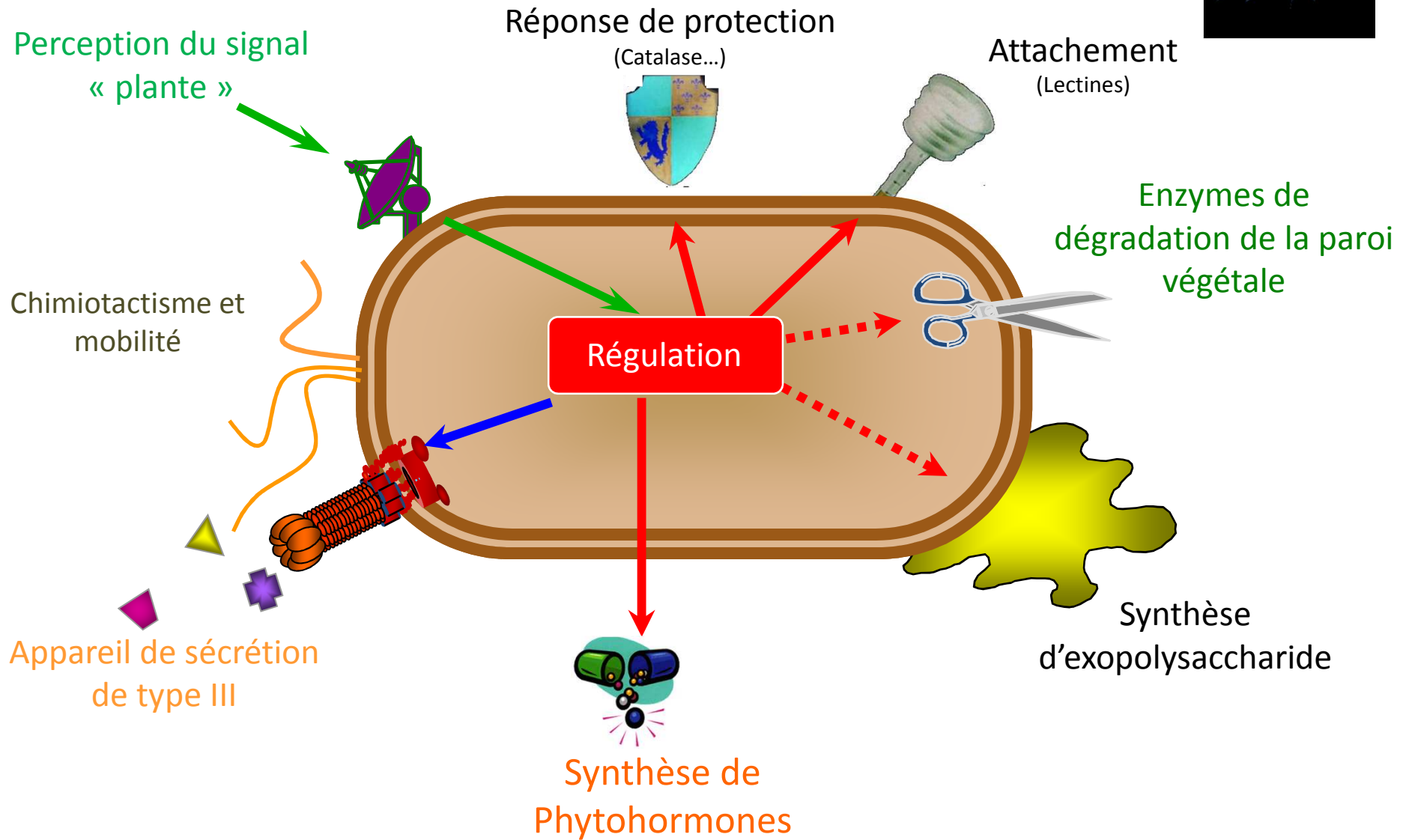
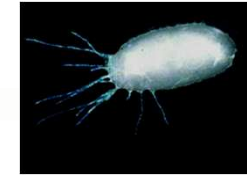
déclarant contaminées par la bactérie *Ralstonia solanacearum* les eaux
de surface de la Dheune en aval du lieu-dit « Les grandes terres »
jusqu'à sa confluence avec la Saône, y compris les cours d'eau
permanents et intermittents partant de cette rivière

réglementant les prélèvements d'eau de surface en vue de leur utilisation sur les
parcelles cultivées

Ralstonia solanacearum, cycle de vie



Ralstonia solanacearum, ses armes



La lutte contre *Ralstonia solanacearum*

Méthode prophylactiques :

Rotation culturale avec des plantes non-hôtes, solarisation, matériel végétal sain, désinfection de l'outillage...

Lutte biologique :

Bactérie	Hôte
<i>Pseudomonas aeuginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Bulkhoderia glumae</i> , <i>Bacillus</i> spp., <i>Bacillus polymyxa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus</i> <i>pumilus</i> , <i>Bacillus atrophaeus</i> , <i>Streptomyces mutabilis</i> , actinomycètes	Tomate
<i>P. fluorescens</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>B. subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , actinomycètes	Pomme de terre
<i>Corynebacterium</i> sp., <i>Bacillus</i> spp., <i>B. subtilis</i> , <i>Escherichia</i> sp., <i>Serratia</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp.	Piment
<i>P. fluorescens</i> , <i>Bacillus</i> spp.,	Banane
<i>P. fluorescens</i> , <i>Bacillus</i> spp.,	Aubergine
<i>Bacillus</i> spp.,	Tabac
<i>B. subtilis</i>	Mûre

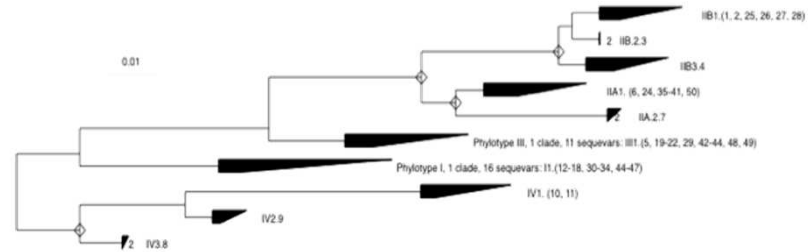
Rosyidah 2014, saddler 2005 et Lebeau 2010

Résistance variétale : le plus efficace (quand elle existe...)

La spécificité de la résistance de Solanacées potagères aux souches du complexe d'espèce *Ralstonia solanacearum*



X



Core-TEP

27 accessions de tomate, aubergine, poivron (forte synténie) internationalement référencées, rassemblées par INRA et AVRDC

Core-Rs2

13 souches virulentes, phylogénétiquement différenciées

Identification de géniteurs de résistance: résistance aux souches large vs spécifique

Profils de virulence/agressivité

Modèles d'interaction

- résistance (ni flétrissement, ni infection)
- tolérance (plantes asymptomatiques)
- Sensibilité (flétrissement)

Core-TEP: un ensemble de ressources génétiques connues pour leur résistance à *R. solanacearum*

Référencée par des experts en sélection variétale:

Tomate: H. Laterrot (INRA), P. Hanson (AVRDC), J. Scott (Univ. Florida), M.C. Daunay (INRA).

Aubergine: P. Hanson (AVRDC), J.-F. Wang (AVRDC), M.C. Daunay (INRA)

Poivron: P. Gniffke (AVRDC), A. Palloix (Inra)

Tomate

- T1. CRA 66
- T2. Okitsu Sozai n°1
- T3. NC 72 TR 4-4
- T4. IRAT L3
- T5. Hawaii 7996
- T6. TML 46
- T7. CLN 1463
- T8. R3034
- T9. L 285 *S. lycop. escul. var. cerasiforme*
- T10. L 390 (témoin sensible)



Aubergine

- E1. MM853, Dingras multiple purple
- E2. MM643, SM6
- E3. MM152, Ceylan SM164
- E4. MM1752, EG203, Surya
- E5. AG91-01, MM931
- E6. **AG91-25, MM960**
- E7. MM195 *S. linnaeanum* (parent d'une population d'aubergine cartographiée)
- E8. **MM738** (parent d'une population d'aubergine cartographiée)
- E9. S56B, Terong Bulat Hijau
- E10. Florida Market, MM 136 (témoin sensible)



Poivron

- P1. Narval, PM 1143
- P2. PI 322719, PM 687
- P3. Cristal Blanco, PM 1022, Pen 79 (*C. baccatum*)
- P4. CM 334, PM 702
- P5. 0209-4, BC3F5 (BC₃F₅[*C. annum* x *C. chinense*])
- P6. CA8, PBC631A
- P7. MC4, PBC66
- P8. Perennial, PM 659
- P9. PBC384
- P10. Yolo Wonder (témoin sensible)

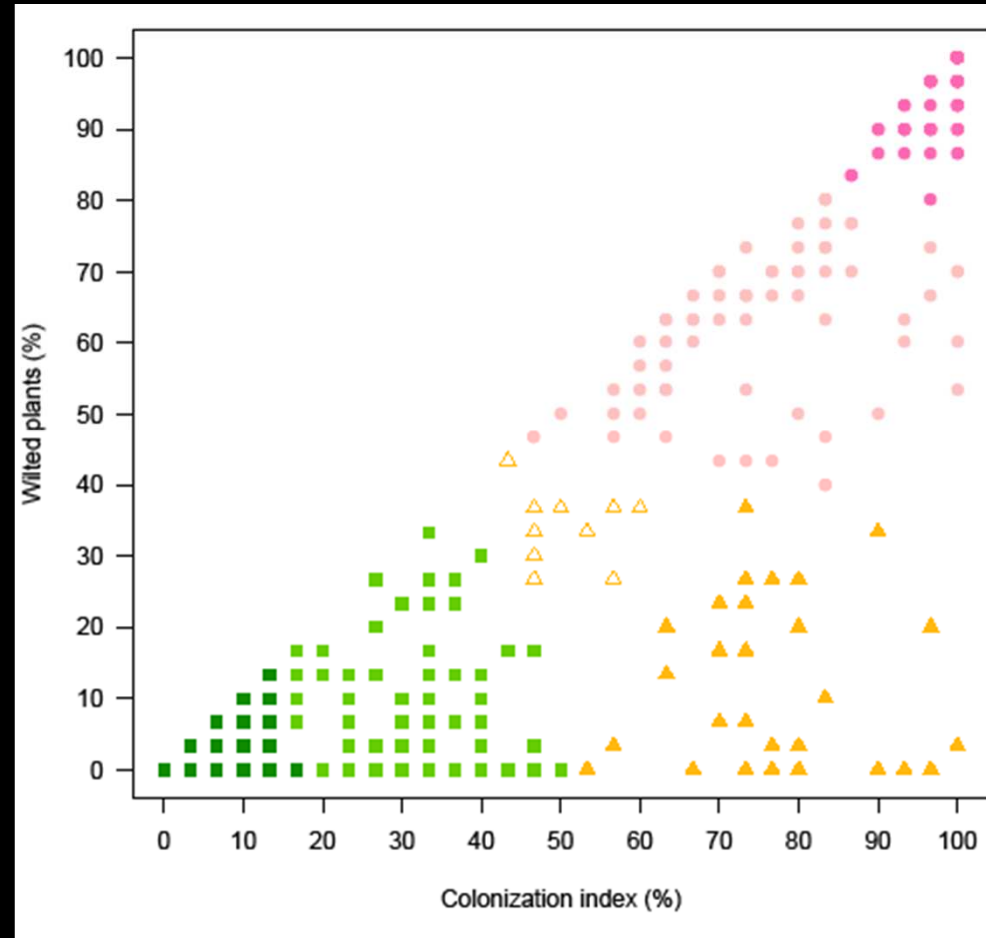


Classification des phénotypes par partition statistique

Phenotype	Cluster	Percentage of wilted plant	Colonization index
Highly resistant	1	$\leq 13,3\%$	$\leq 16,67\%$
Moderately resistant	2	$\leq 33,33\%$	$16,67\% \leq \dots \leq 50\%$
Intermediate	3	$\leq 43,33\%$	$\geq 43,33\%$
Susceptible	4	$40\% \leq \dots \leq 80\%$	$\geq 46,67\%$
Highly susceptible	5	$\geq 80\%$	$\geq 86,67\%$

Phenotype 'intermédiaire' divisé en
2 groupes :

- Partiellement résistant
- Infection latente



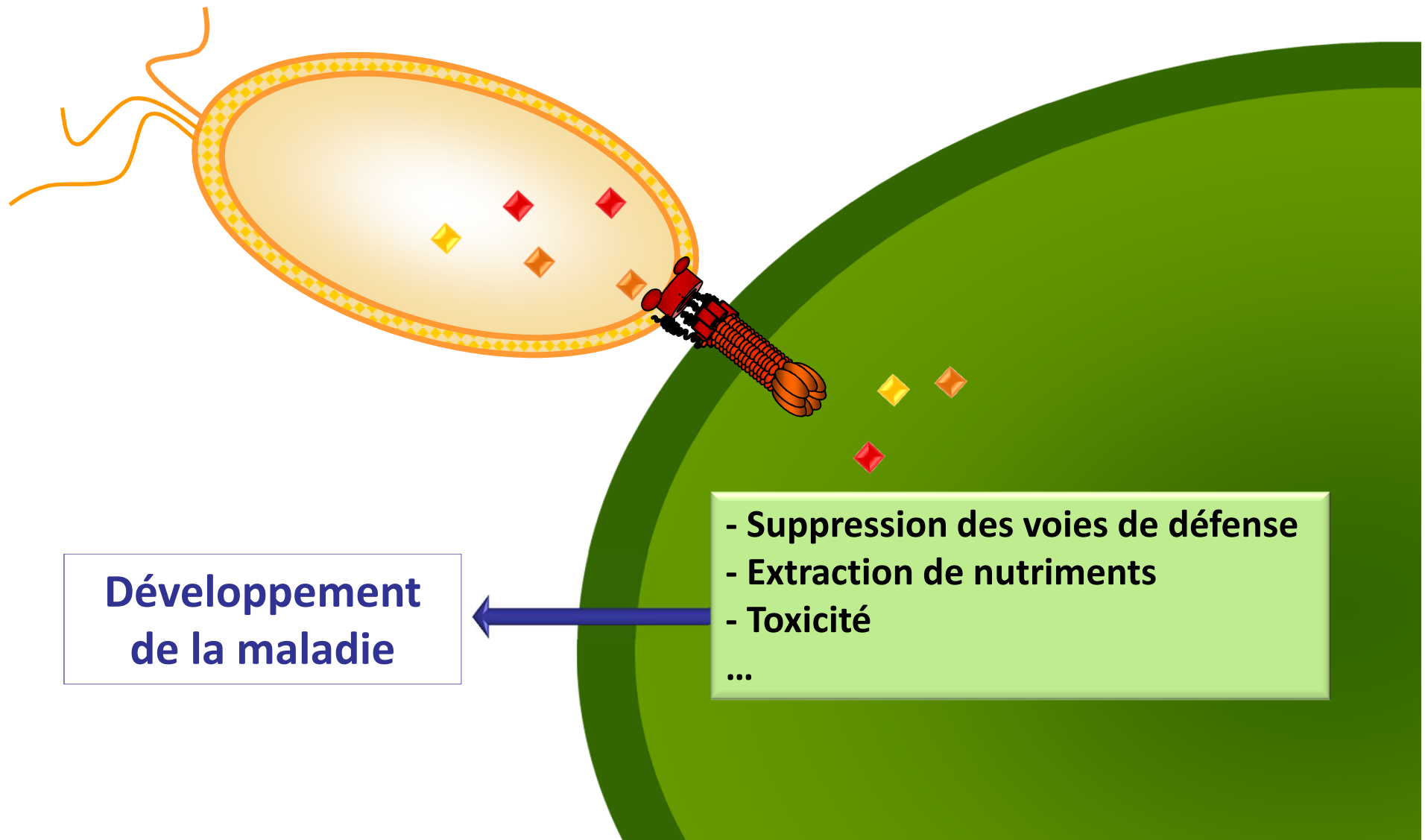
→ Interactions Core-RS2 X Core-TEP : 6 phénotypes

Résistance des solanacées potagères au flétrissement bactérien

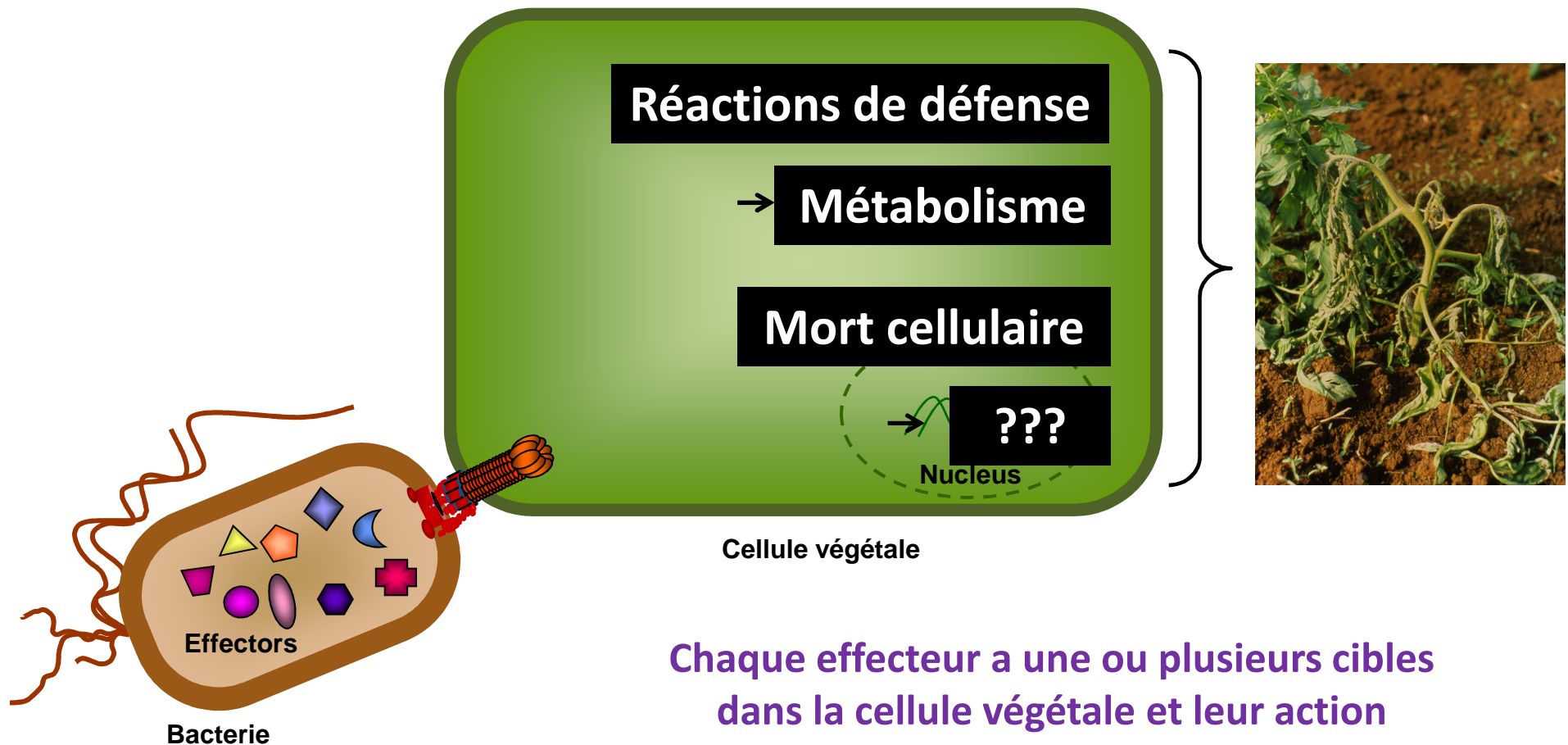


- Vers le développement de stratégies de résistance durables, raisonnées régionalement prenant en compte la phylogéographie du pathogène.
- Démonstration de l'existence d'interactions incompatibles 'souche-spécifiques' ("résistance"), à la fois fortes (type gène-for-gène insoupçonné?) et partielles.
- Identification de pathosystèmes modèles pour révéler des QTLs associés à des formes de résistance/tolérance phylotype-spécifique. Vers la description des répertoires de gènes bactériens associés à ces phénotypes d'incompatibilité.

L'injection d'effecteurs via l'appareil de sécrétion de type 3 : déterminant majeur du pouvoir pathogène



Les effecteurs de type 3 et leurs cibles végétales



Chaque effecteur a une ou plusieurs cibles dans la cellule végétale et leur action collective est nécessaire pour le déclenchement de la pathogénie

Exploitation de la connaissance sur les effecteurs pour révéler de la résistance durable

1. Identification des effecteurs conservés parmi les souches

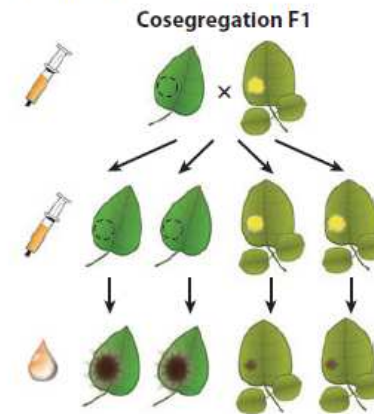
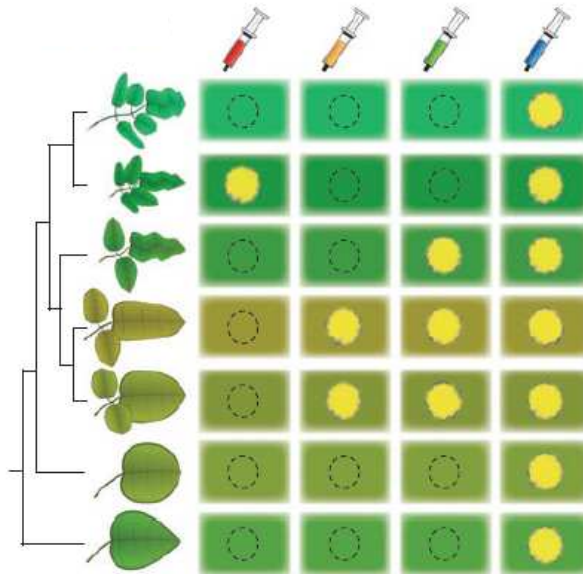


2. Clonage dans des vecteurs d'expression d' *Agrobacterium*

3. Criblage par agroinfection de germplasmes



Recherche de
phénotypes de
mort cellulaire
(HR)
Candidats R/Avr



4. Validation :
Co-segregation
de la résistance
avec le
phénotype de
mort cellulaire
induit par
l'effecteur

Intérêts d'une "sélection assistée par effecteurs"

	Intérêt des effecteurs	Approche
Identifier de nouvelles sources de résistance	Révéler	Essai fonctionnel avec gene <i>avr</i>
Clonage de gène R	Accélérer	Essai fonctionnel avec gene <i>avr</i> (co-infiltration)
Distinguer la redondance fonctionnelle	Eviter les efforts de sélection redondants	} Essai fonctionnel avec gene <i>avr</i>
Détection de spécificité	Disséquer des empilements de gènes R dans des lignées	
Déploiement de gènes R	Cibler le choix de gènes R	Suivi spatio-temporel des effecteurs dans les populations du pathogène
	Aider la décision des mesures de contrôle	Suivi en cours de saison des effecteurs dans les populations locales du pathogène

CURRENT REVIEW

Effectors as Tools in Disease Resistance Breeding Against Biotrophic, Hemibiotrophic, and Necrotrophic Plant Pathogens

Vivianne G. A. A. Vleeshouwers¹ and Richard P. Oliver²

¹Wageningen UR Plant Breeding, Wageningen University and Research Centre, P.O. Box 386, 6700 AJ, Wageningen, The Netherlands; ²Australian Centre for Necrotrophic Fungal Pathogens, Curtin University, Perth WA 6845, Australia

Submitted 16 October 2013. Accepted 17 December 2013.

Les effecteurs conservés ('core') sont importants au pouvoir pathogène de *R. solanacearum*

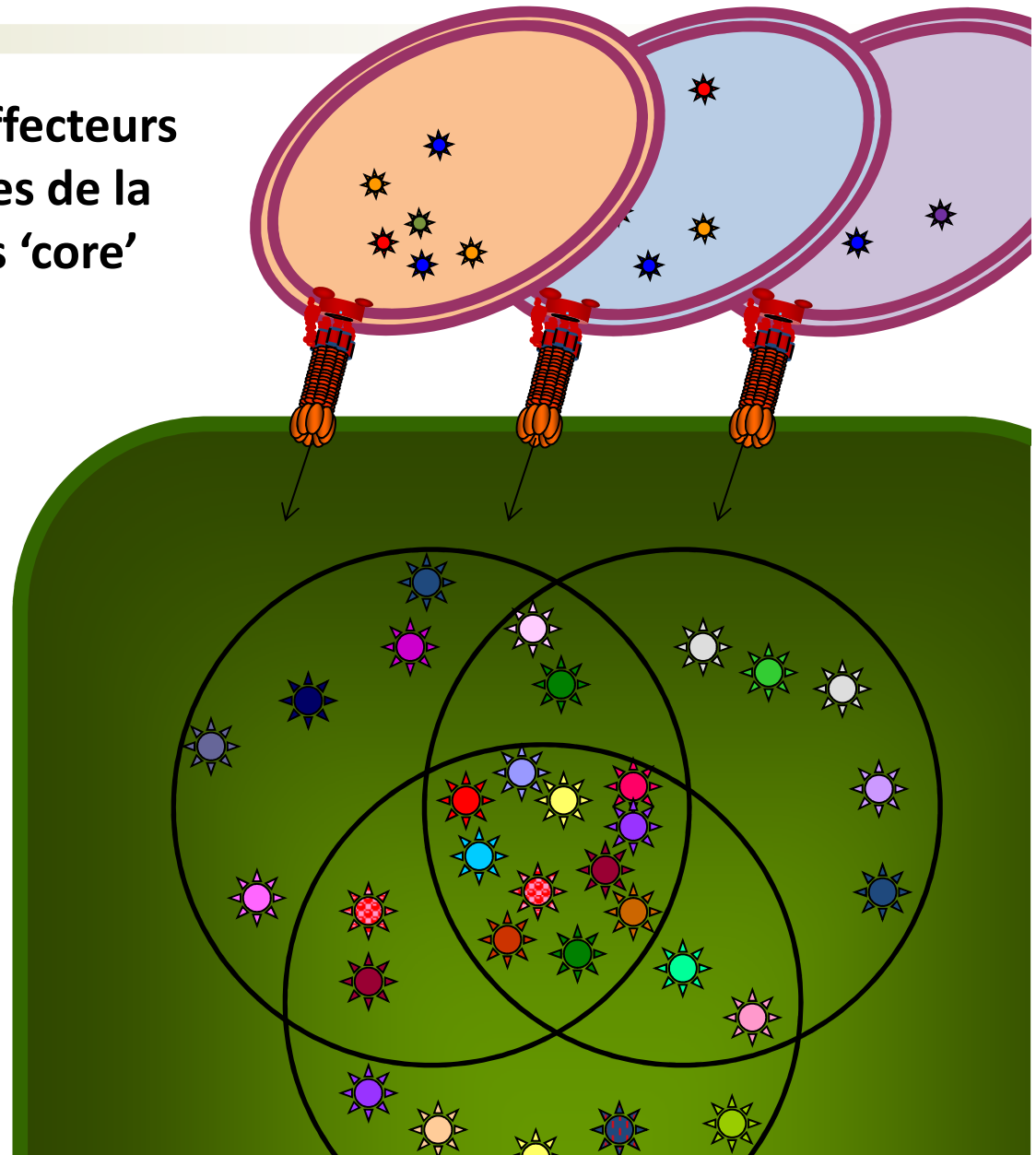
Comparaison des répertoires d'effecteurs dans des souches représentatives de la diversité de l'espèce: ~30 gènes 'core'



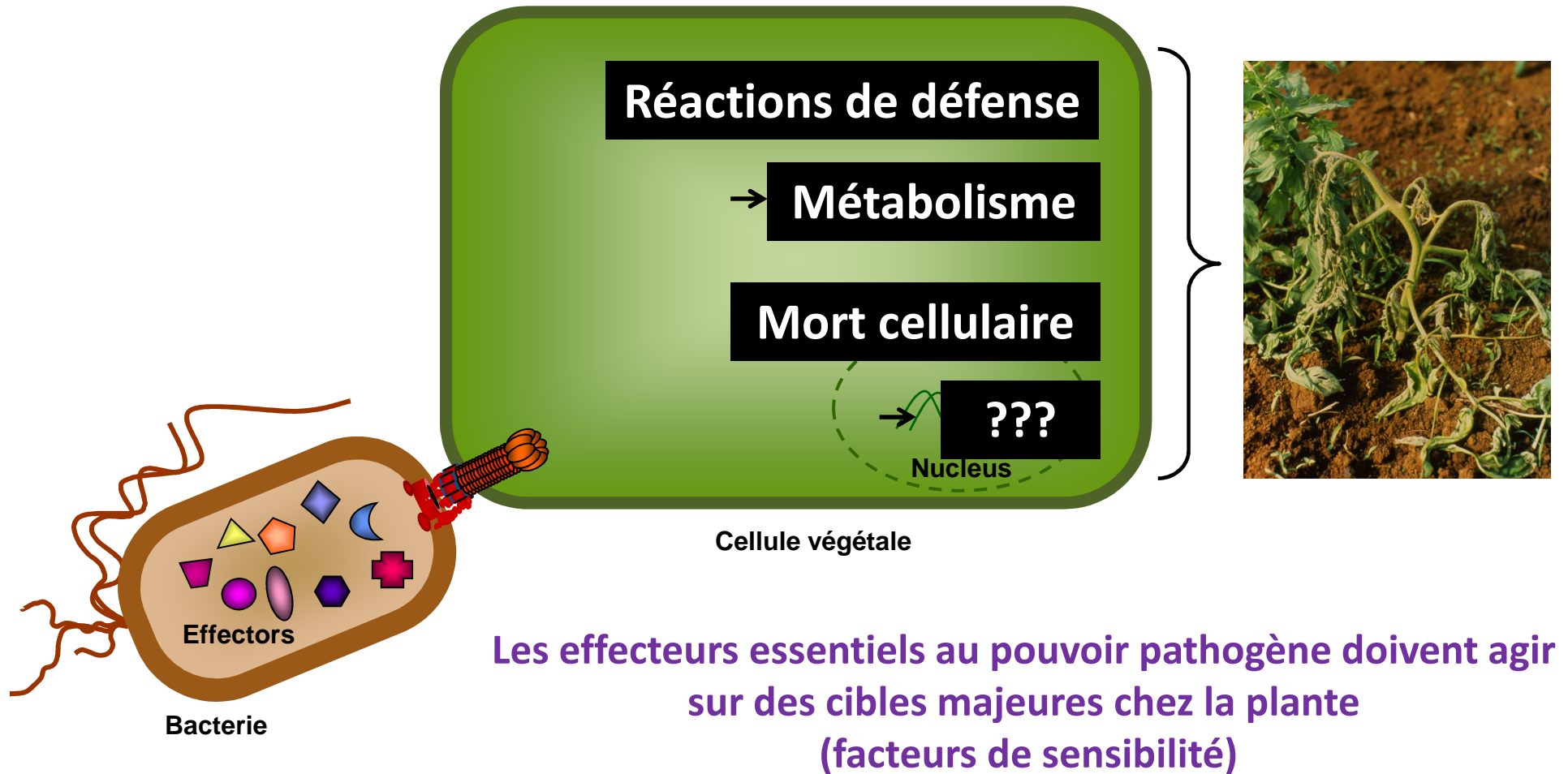
Approche de disruption cumulative de gènes



Certains polymutants d'effecteurs sont fortement compromis en virulence sur tomate

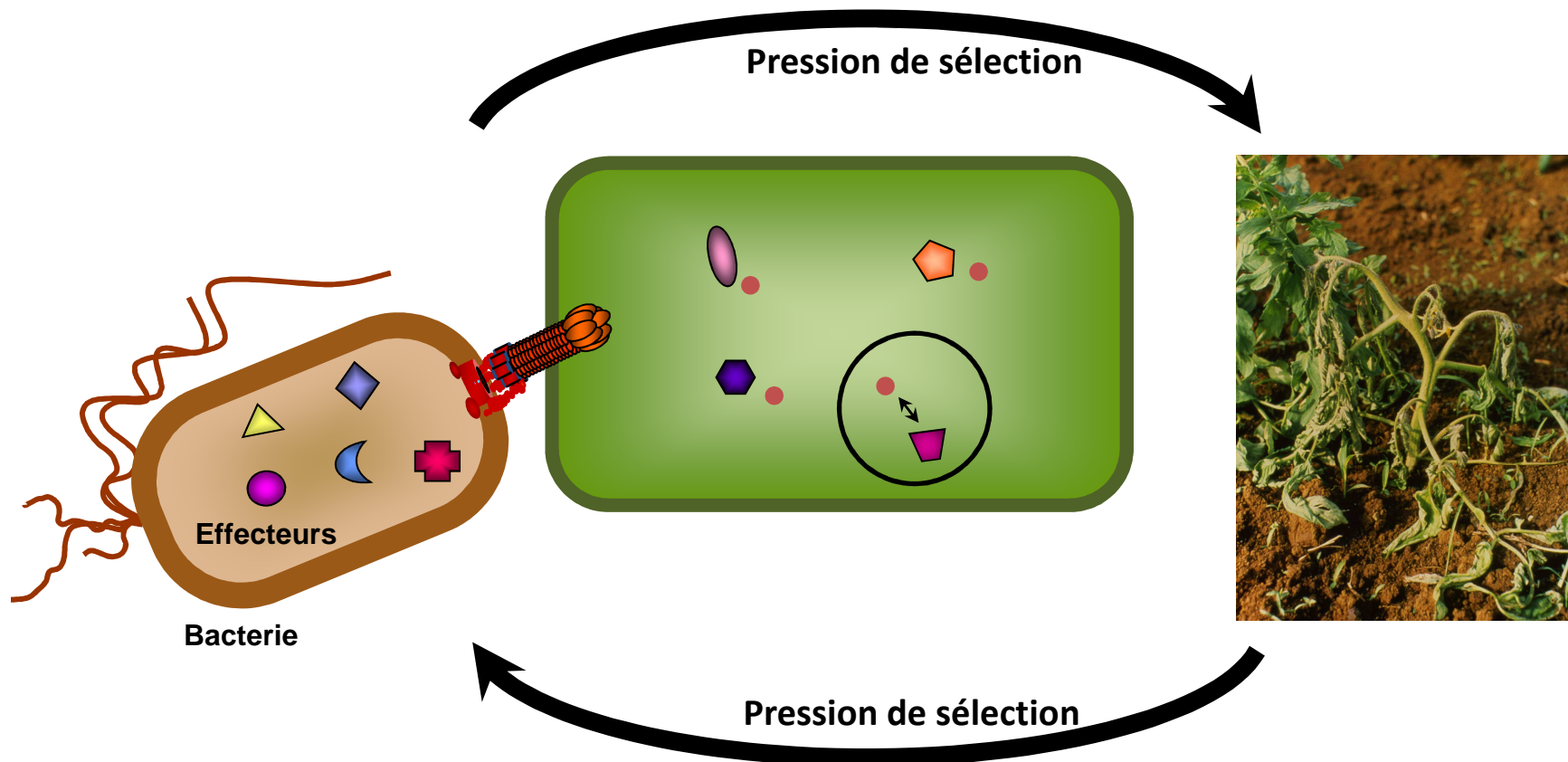


Enjeux des recherches sur les effecteurs de type 3 et leurs cibles végétales



Objectifs: (i) identifier ces cibles, (ii) comment modifier une cible pour annuler l'action de l'effeteur et donc 'créer' de nouvelles sources de résistance

La coévolution de l'interaction hôte-pathogène



- La plante et la bactérie sont sujettes à de fortes pressions de sélection durant leur coévolution
- Ces pressions de sélection s'exercent aussi au niveau moléculaire sur les effecteurs de type 3 et leurs cibles végétales

Ralstonia solanacearum comme modèle bactérien pour étudier l'adaptation à ses hôtes : une approche d'évolution au laboratoire...

Emergence de souches avec une extension de gamme d'hôte au champ

Martinique 2002: émergence sur concombre, courgette, pastèque et citrouille

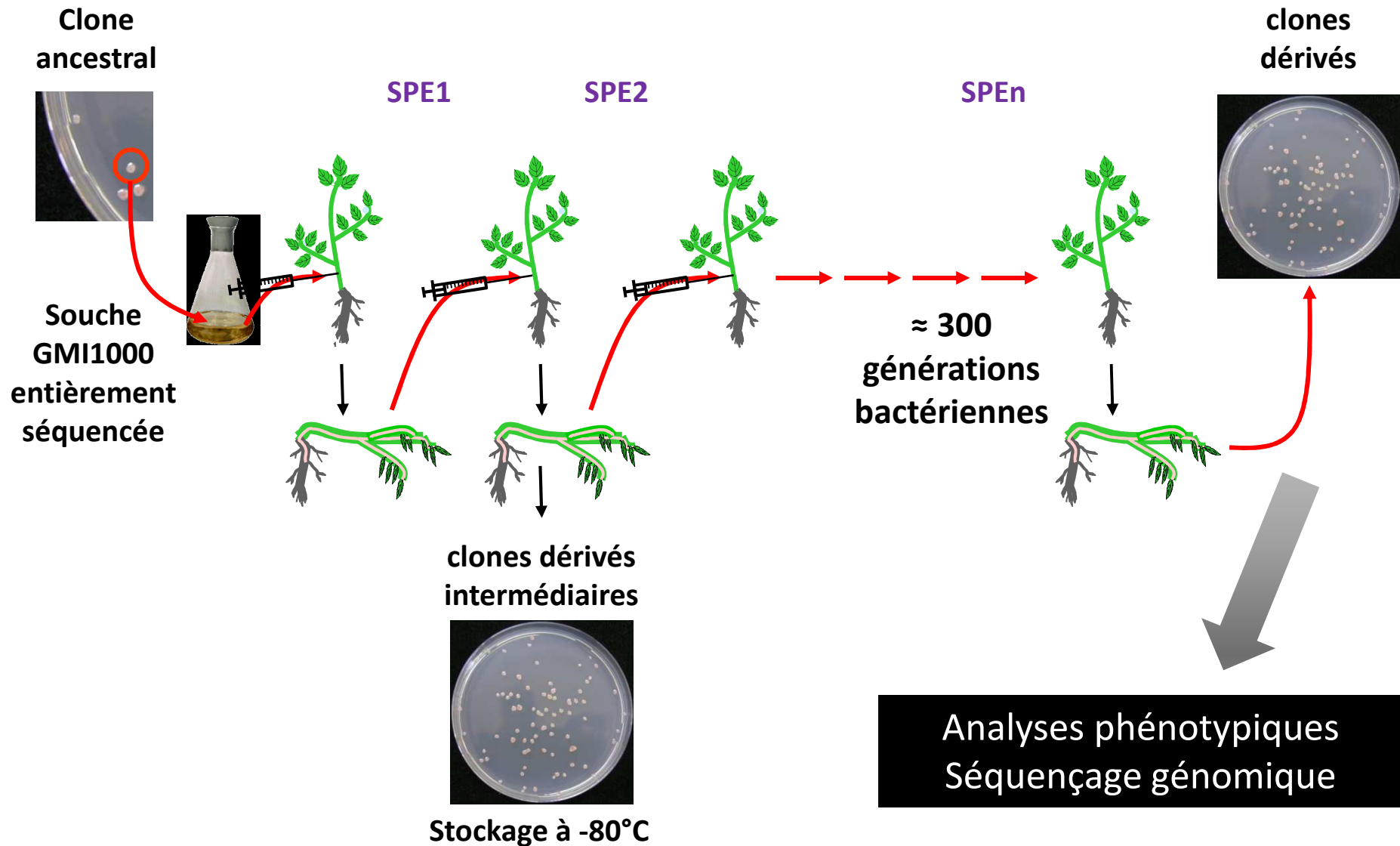


Wicker *et al.*, AEM 2007

Les cucurbitacées étaient auparavant considérées comme plantes 'non-hôtes'

Evolution expérimentale d'une souche de *R. solanacearum*

Expériences de Passages en Série (SPE) sur un hôte



Evolution expérimentale multihôtes de la souche GMI1000

passages en série sur 8 plantes

Plante	Famille botanique	Sensibilité / Résistance à GMI1000
1. Tomate <i>Marmande VR</i>	Solanaceae	Sensible
2. Tomate <i>Hawaï 7996</i>	Solanaceae	Résistante
3. Aubergine <i>Zebrina MM61</i>	Solanaceae	Sensible
4. Aubergine <i>MM134</i>	Solanaceae	Résistante
5. Geranium <i>Maverick Ecarlate</i>	Geraniaceae	Sensible
6. Haricot <i>Blanc précoce</i>	Fabaceae	Tolerant (Asymptomatique)
7. Chou <i>Bartolo</i>	Brassicaceae	Tolerant (Asymptomatique)
8. Melon <i>Vedrantais</i>	Cucurbitaceae	'Non-hôte'

Evolution expérimentale: suivre l'évolution du pathogène au laboratoire...

- ◆ Après 300 générations (env. 25 à 30 passages), 90-100% des clones dérivés ont une aptitude parasitaire supérieure au clone ancestral sur la plante chez laquelle ils ont été évolués
- ◆ Des mutations ('single nucleotide polymorphisms') conférant un gain de fitness ont été identifiées et caractérisées

Guidot et al. (2014) Molecular Biology & Evolution

Comprendre les mécanismes d'adaptation aux hôtes et identifier les déterminants génétiques mis en jeu pour atteindre une durabilité de la résistance

- ◆ suivi du potentiel adaptatif des souches
- ◆ pression de sélection rencontrée dans la plante?
- ◆ connaissances requises pour une approche raisonnée des rotations culturales



Merci pour votre
attention

