

## JAMBE NOIRE EN EUROPE

# UNE ESPÈCE MIEUX IDENTIFIÉE

La taxonomie des bactéries pectinolytiques, responsables de la maladie de la jambe noire a récemment évolué. *Pectobacterium punjabense*, nouvelle espèce pathogène décrite en 2018 et isolée sur symptôme de jambe noire au Pakistan, a fait l'objet d'une étude spécifique révélant sa présence en champ de pomme de terre européen.

Les bactéries du genre *Pectobacterium* et *Dickeya* sont les agents pathogènes responsables des maladies de la jambe noire sur tiges et des pourritures molles sur tubercules. Ces bactéries sont capables de produire des enzymes extracellulaires dégradant les parois végétales et générant les symptômes caractéristiques de la maladie.

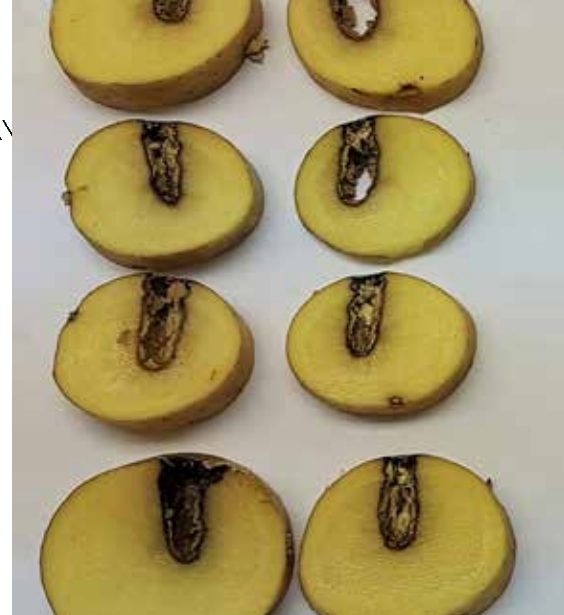
Les dégâts occasionnés sont parfois importants et peuvent être source de déclassements, voire de refus, lors du processus de certification des plants. Ce contrôle est d'autant plus important qu'aucune solution de traitement n'existe à ce jour pour lutter contre ces bactéries pectinolytiques.

### ÉVOLUTION DE LA TAXONOMIE

Depuis 2016 et le développement massif des méthodes de séquençage nouvelle génération (NGS), le nombre d'espèces de *Pectobacterium* et *Dickeya* officiellement décrites a plus que doublé avec pas moins de trente espèces différentes décrites à ce jour. Ces nouvelles descriptions témoignent de la grande diversité génétique de ces deux genres et expliquent leur très large spectre de plantes-hôtes. Fort heureusement, ces espèces ne sont pas toutes présentes sur notre territoire, ou ne sont pas toutes adaptées à l'hôte pomme de terre.

### DESCRIPTION DE PECTOBACTERIUM PUNJABENSE

Des travaux collaboratifs impliquant le CNRS, l'université de Faisalabad au Pakistan, ainsi que l'équipe Inov3PT dédiée à la thématique jambe noire

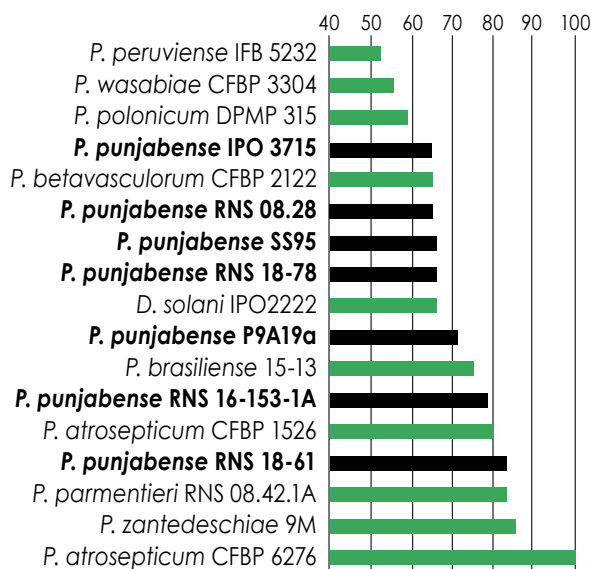


ont permis d'identifier des souches n'appartenant jusque-là à aucune espèce de *Pectobacterium* connue. Ces isolats, collectés en 2017 sur symptôme de jambe noire dans un champ de pomme de terre pakistanais, ont été étudiés au CNRS de Gif-sur-Yvette (91) et décrits comme appartenant à une nouvelle espèce, nommée *Pectobacterium punjabense*, en référence à la province du Pendjab où ils ont été initialement isolés.

### IDENTIFICATION D'ISOLATS EN EUROPE

Depuis ces travaux initiaux, l'équipe Inov3PT a constitué un groupe de travail impliquant différents laboratoires européens et ayant pour objectif de mieux comprendre la distribution, la diversité et l'agressivité de cette nouvelle espèce. Ainsi, les collections de bactéries pectinolytiques d'Inov3PT en France, de l'université de Wageningen aux Pays-Bas et de l'université de Gdansk en Pologne ont été utilisées pour rechercher la présence de *P. punjabense* en Europe. À ce stade de l'étude, l'identification des souches de *P. punjabense* au sein des collections étudiées a été réalisée grâce à l'analyse de courtes séquences génomiques amplifiées par PCR. *P. punjabense* a ainsi pu être identifié dans chacune des collections analysées, à chaque fois sur des isolats provenant de symptômes de jambe noire. En revanche, la proportion de *P. punjabense* identifiée est faible et ne

**Graphie. INDEX PATHOLOGIQUE COMPARANT L'ENSEMBLE DES SOUCHES TESTÉES (P. PUNJABENSE EN NOIR) APRÈS ESSAI DE MACÉRATION AU LABORATOIRE (en %, contrôle NaCl)**



## → OUTIL

### AMÉLIORER LA DÉTECTION DE L'ESPÈCE

Dans le cadre de la caractérisation de l'espèce *P. punjabense*, des génomes des souches isolées en Europe ont été séquencés par l'équipe Inov3PT. Une approche bio-informatique, qui fait suite à des travaux précédents ayant permis de développer des outils moléculaires sur d'autres espèces, a ensuite été utilisée pour définir des régions génomiques spécifiques à l'espèce *P. punjabense*. Un outil qPCR Taqman a finalement été développé et permet maintenant de détecter spécifiquement cette espèce dans tout type de matrice. Ces travaux ont été publiés dans la revue internationale *Microorganisms* et l'outil a été mis à disposition de la communauté scientifique, ce qui devrait contribuer à améliorer notre vision sur la distribution de cette espèce encore méconnue.

si les conditions environnementales sont favorables, cette espèce serait capable d'induire des symptômes de pourriture molle en condition de stockage. La capacité à induire des symptômes de jambe noire au champ a été testée uniquement pour la souche IPO3715 lors d'essais expérimentaux menés précédemment aux Pays-Bas. Dans ces conditions, aucune plante symptomatique n'a pu être observée, tandis que dans le même temps, les plants inoculés avec *P. brasiliense* ont montré une incidence de la maladie de 80 %. Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude ont permis de fournir pour la première fois des informations concernant la distribution et la fréquence d'isolement de cette espèce, démontrant sa présence depuis au moins vingt-cinq ans dans les champs de pomme de terre européens. Le peu de souches isolées combiné au manque d'outils d'identification spécifiques ont empêché jusque-là de la mettre en évidence. Le développement d'un outil qPCR dans le cadre de cette étude (**voir encadré**) devrait permettre à l'avenir de mieux détecter *P. punjabense* à l'intérieur et hors du contexte pomme de terre, afin de mieux appréhender les niches écologiques préférentielles de cette espèce. / JÉRÉMY CIGNA, FN3PT/Inov3PT



*P. punjabense* a pour l'instant été isolé au Pakistan, Pologne, France et Pays-Bas.

Les sept souches de *P. punjabense* présentent des niveaux d'agressivité divers, mais toutes sont capables de macérer les tubercules. Ici, résultat après cinq jours de macération avec la souche *P. punjabense* RNS 18-61.

J. Cigna, Inov3PT

dépasse pas 0,2 % de l'ensemble des bactéries isolées au sein de chaque collection analysée, ce qui est bien en deçà des espèces plus classiquement retrouvées tel que *P. atrosepticum*, *P. parmentieri* ou encore *P. brasiliense*. La souche IFB5596 prélevée en 1996 en Pologne est la plus ancienne collectée et indique que cette espèce, présente en Europe depuis au moins vingt-cinq ans, est restée inaperçue du fait des faibles taux d'isolement et d'un manque d'outils spécifiques pour bien l'identifier.

#### DIVERSITÉ GÉNOMIQUE

Les génomes de plusieurs souches identifiées ont ensuite été séquencés et assemblés. L'équipe Inov3PT a ainsi pu calculer différents paramètres bio-informatiques révélant un niveau de diversité génomique important allant dans le sens d'un pathogène présent depuis longtemps. Ici, le cas d'étude "*P. punjabense*" est bien différent de la situation rencontrée en 2005 lors de l'émergence de *Dickeya solani* en champs de pomme de terre européens. Depuis lors, *D. solani* s'est rapidement installé et les souches isolées encore aujourd'hui présentent un caractère clonal très fort. Dans le cas de *P. punjabense*, la faible fréquence de souches collectées à l'intérieur des symptômes de jambe noire combinée à une forte diversité génomique pose la question du réservoir de *P. punjabense* et suggère une présence probable

dans d'autres niches écologiques, en dehors du contexte pomme de terre. Des campagnes de prélèvements en rivières françaises, ainsi qu'un screening dans la Collection française de bactéries associées aux plantes (CFBP, Beaucauzé), qui possède un large panel d'isolats pathogènes collectés sur diverses plantes hôtes, n'ont pu permettre l'identification d'autres souches de *P. punjabense* dans l'environnement, laissant cette question en suspens.

#### CAPACITÉ DE MACÉRATION

Afin de connaître les capacités de macération des souches de *P. punjabense*, un test d'agressivité a été réalisé au laboratoire, incluant des souches d'autres espèces utilisées comme référence. Chaque suspension bactérienne est inoculée directement à l'intérieur des tubercules de variété Bintje, et mis à incuber à 25 °C en chambre humide. Après cinq jours, les tubercules sont coupés et les résultats sont observés (**photo**). Les tubercules sont répartis en six classes visuelles suivant l'intensité des symptômes. Un index pathologique est ensuite calculé permettant de définir le niveau d'agressivité moyen de chaque souche dans les conditions testées. Les résultats ont montré que les sept souches de *P. punjabense* présentent des niveaux d'agressivité divers, mais toutes sont capables de macérer les tubercules (**graphe**). Ces données indiquent que