



Recherche pour la référence

Nouvelle perception de la diversité phénotypique des écotypes de *R. solanacearum*

G. Cellier (1), P. Prior (2)

- (1) Anses - Laboratoire de la santé des végétaux, Station de la Réunion, Unité Ravageurs et agents pathogènes tropicaux
(2) Inra - Cirad - UMR Peuplements végétaux et bioagresseurs en milieu tropical, Pôle de protection des plantes



La diversité phénotypique et génétique des souches européennes de *Ralstonia solanacearum*, connu comme agent phytopathogène de quarantaine, est basée sur un schéma de classification en phylotypes et sequevars. L'arbre phylogénétique, construit à partir de souches de collection couvrant la diversité génétique connue de ce complexe d'espèces, a montré que seul l'écotype Brown rot, d'origine andine, était présent en Europe. Des incohérences ont été mises en évidence entre l'hôte d'isolement et le pathotype de l'écotype de certaines souches connues pour être inféodées à un hôte particulier. Les tests de pathogénie confirmèrent des virulences insoupçonnées pour deux écotypes majeurs: Brown rot et Moko.

Ralstonia solanacearum est une bêta-protéobactérie rhizosphérique, considérée comme un organisme modèle pour l'étude des bactéries phytopathogènes vasculaires d'origines telluriques. Cette espèce forme un complexe d'espèces dont les souches sont distribuées en quatre groupes majeurs, appelés phylotypes (Fegan and Prior 2005). Les phylotypes, numérotés de I à IV, reflètent l'origine géographique des souches et sont respectivement associés à l'Asie, l'Amérique, l'Afrique, et l'ensemble de l'Indonésie, du Japon et de l'Australie. Ces phylotypes sont eux-mêmes subdivisés en sequevars, une définition de travail basée sur la séquence partielle de l'endoglucanase (*egl*), qui intervient comme facteur secondaire du pouvoir pathogène. Les souches de ce complexe d'espèces présentent une distribution mondiale (tropicale, intertropicale) et provoquent un flétrissement bactérien sur plus de 200 espèces hôtes réparties dans plus de 50 familles botaniques (Hayward 1994). De par sa gamme d'hôtes inhabituellement étendue, sa constante évolution génétique (Hayward 1991; Denny 2006), ainsi que les risques économiques encourus aux productions agricoles, cet agent pathogène est classé dans la liste des organismes de quarantaine et de bioterrorisme en Europe et aux États-Unis.

Historiquement, le flétrissement bactérien affectant les plantes est une maladie qui frappe gravement les régions tropicales et subtropicales de plaines. Cependant, les souches de l'écotype Brown rot parviennent à exprimer leurs virulences à basse température (< 24 °C). Ces souches appartiennent au phylotype IIB sequevar 1 (IIB-1) et sont pathogènes des *Solanaceae*, mais plus précisément de la pomme de terre, de la tomate, mais aussi de plantes ornementales (Pelargonium, Anthurium, Pothos...). De nombreux rapports font état de la forte agressivité de ces souches adaptées au froid dans les zones de production d'altitude en Amérique latine, mais aussi en Afrique, dans l'Océan Indien et en Asie (Chine, Taïwan...), où leur introduction a été favorisée par la mondialisation des échanges de tubercules de pommes de terre. Leur introduction en Europe était donc prévisible et ces souches ont des incidences fortes sur les échanges internationaux et impactent fortement la production (Janse 1996; Elphinstone 2005). Les

souches tropicales provoquant la maladie de « Moko » sont responsables de la quasi-destruction des bananiers de type Bluggoe en région amazonienne dans les années 1970 et sont généralement virulentes sur les *Musaceae* et plantes associées (*Heliconia*).

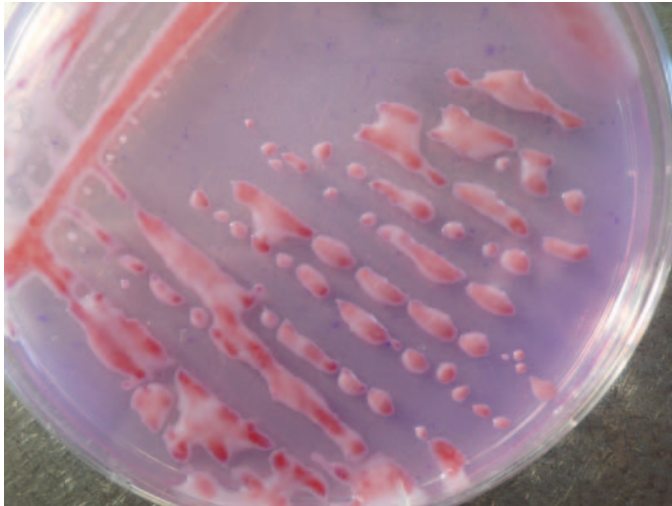
Ainsi face aux nombreux problèmes posés par *R. solanacearum* et compte tenu de la circulation importante de certaines souches au plan mondial, il devenait urgent d'estimer le degré de diversité génétique et phénotypique des souches de *R. solanacearum* présentes sur le territoire européen. Cette étude a porté sur les souches isolées ($n = 129$) aussi bien de foyers infectieux (toutes zones géographiques), que sur du matériel contrôlé à l'entrée dans l'union européenne, associées à des souches de référence internationale ($n = 57$), afin de décrire la diversité génétique en les assignant dans leurs groupes phylogénétiques.

Une attention particulière a été portée sur les souches appartenant au phylotype II, qui a révélé la plus large base génétique et phénotypique dans ce complexe d'espèces. De plus, ce phylotype abrite deux écotypes majeurs dont le pathotype est rapporté comme divergent par la littérature: les souches Brown rot, adaptées aux températures froides et aux *Solanaceae*; et les souches provoquant la maladie de Moko, adaptées aux températures chaudes et aux *Musaceae*.

Dans un premier temps, l'arbre phylogénétique obtenu à partir du séquençage partiel du gène *egl* a confirmé le caractère monophylétique (clonal) des souches de l'écotype Brown rot de phylotype IIB-1, qui regroupe 101 des 106 souches d'origine européenne ou méditerranéenne. L'Europe semble ainsi faire face à une épidémie uniquement causée par les souches de l'écotype Brown rot. Seules cinq souches de collection se distinguent de ce cluster et parmi elles, deux ont attiré notre attention. Une première souche originale isolée de tomate en France appartient au sequevar 4NPB, un cluster de souches émergentes décrites en 2007 à la Martinique, hautement agressif sur *Solanaceae*, mais pas sur bananier (non pathogène du bananier). Il s'agit là de la première description d'une souche relative au groupe émergent des sequevars 4NPB en France. La seconde souche a été isolée de la pomme de terre, mais



Recherche pour la référence



Ralstonia solanacearum

appartient contre toute attente à l'écotype Moko, alors censé être inféodé au bananier.

Pour vérifier le résultat concernant la seconde souche, nous avons mis en place des tests de pouvoir pathogène. L'originalité de la description s'est appuyée sur des tests de pathogénie de grande échelle sur pomme de terre, puis sur une collection de ressources génétiques en tomate et aubergine, issues de précédents travaux et présentant divers degrés de résistance (Carmeille, Caranta *et al.* 2006; Carmeille, Prior *et al.* 2006; Mahbou Somo Toukam, Cellier *et al.* 2009; Lebeau, Daunay *et al.* 2010), ainsi que sur banane, permettant de décrire au mieux les pathotypes des souches. Les résultats montrent premièrement que des souches distribuées dans les quatre phylotypes étaient capables de flétrir la pomme de terre, suggérant une large base génétique pour l'adaptation à cet hôte. Il a aussi été montré des différences significatives d'agressivité dans le cluster des souches Brown rot pourtant d'apparence clonal.

Les résultats publiés montrent aussi la capacité, jusqu'alors insoupçonnée, des souches de l'écotype Moko pathogènes du bananier à flétrir la pomme de terre, ainsi que les ressources génétiques sensibles en tomate. Il a été aussi montré que certaines souches étaient capables de se développer dans les tissus des ressources génétiques résistantes en tomate et aubergine, sans pour autant provoquer de symptômes (infections latentes) et présentent un risque de dissémination. Réciproquement, les données expérimentales montrent que la plupart des souches de l'écotype Brown rot a conservé la capacité d'induire des infections latentes chez le bananier. Ainsi, nous avons montré que ces deux écotypes rapportés par la littérature comme ayant des gammes d'hôtes bien distinctes, étaient phénotypiquement proches et ne devraient plus être considérés comme des souches à spectre d'hôtes réduit.

La description originale de ces véritables passerelles phénotypiques entre ces souches capables d'envahir les tissus des *Musaceae/Solanaceae* amène à s'interroger sur la nature des mécanismes évolutifs impliqués. Bien que des points de vue de l'épidémiologie et des pratiques culturales, les souches IIB-1 géolocalisées sur les hauts plateaux n'ont qu'une infime probabilité de concerner une culture extensive tropicale telle que le bananier (et inversement), certaines de ces souches

ont bien conservé le potentiel d'infecter chacun de ces hôtes particuliers et ont été isolées sur un hôte inattendu. Il reste néanmoins à savoir si la pathogénie sur banane de l'écotype Moko a été acquise par transfert horizontal de gènes ou s'il s'agit d'une perte des déterminants de pathogénie par les autres souches sur cet hôte, dû à une faible pression de sélection. L'une des principales conclusions de ce travail a été d'améliorer les connaissances des souches de *R. solanacearum* en tant qu'espèce biologique et non plus uniquement au plan de la diversité génétique. Il a été consenti un effort important pour revisiter le pathotype de nombreuses souches, pourtant décrit dans la littérature. Ces connaissances orientent vers une meilleure appréhension des mécanismes sous-jacents de la spécialisation d'hôte et nous donnent une nouvelle vision de l'écologie et de l'épidémiologie de cet agent phytopathogène.

Références bibliographiques

- Carmeille, A., Caranta, C., Dintinger, J., Prior, P., Luisetti, J. and Besse, P. 2006. Identification of QTLs for *Ralstonia solanacearum* race 3-phylo-type II resistance in tomato. *Theoretical and Applied Genetics*, 113(1): 110-121.
- Carmeille, A., Prior, P., Kodja, H., Chiroleu, F., Luisetti, J. and Besse, P. 2006. Evaluation of Resistance to Race 3, Biovar 2 of *Ralstonia solanacearum* in Tomato Germplasm. *Journal of Phytopathology*, 154: 398-402.
- Denny, T. 2006. Plant pathogenic *Ralstonia* species. In: *Plant-Associated Bacteria*. S. S. Gnanamanickam, Springer Netherlands, Dordrecht, The Netherlands: 573-644.
- Elphinstone, J. G. 2005. The current bacterial wilt situation: A global overview. In: *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. C. Allen, P. Prior and A. C. Hayward, APS Press, St Paul, MN: 9-28.
- Fegan, M. and Prior, P. 2005. How complex is the "*Ralstonia solanacearum* species complex". In: *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. C. Allen, P. Prior and A. C. Hayward, APS Press, St Paul, MN: 449-461.
- Hayward, A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, 29: 67-87.
- Hayward, A. C. 1994. The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. A. C. Hayward and G. L. Hartman, CAB International, Wallingford: 9-24.
- Janse, J. D. 1996. Potato brown rot in western Europe - history, present occurrence and some remarks on possible origin. *EPPO Bulletin*, 26(3-4): 17.
- Lebeau, A., Daunay, M. C., Fray, A., Palloix, A., Wang, J. F., Dintinger, J., Chiroleu, F., Wicker, E. and Prior, P. 2010. Bacterial wilt resistance in tomato, pepper, and eggplant: genetic resources respond to diverse strains in the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Phytopathology*, 101(1): 154-165.
- Mahbou Somo Toukam, G., Cellier, G., Wicker, E., Guilbaud, C., Kahane, R., Allen, C. and Prior, P. 2009. Broad Diversity of *Ralstonia solanacearum* Strains in Cameroon. *Plant Disease*, 93(11): 1123-1130.