

Diversité génétique et pathologique des souches de *Xanthomonas* responsables de la gale bactérienne des tomates et piments dans le sud-ouest de l'Océan Indien



HAMZA Abdou Azali
21-11-2013

UMR PVBMT



Taxonomie bactérienne

Taxonomie = systématique: classification, nomenclature, identification

Espèce = Maillon principal de la classification

Taxonomie polyphasique

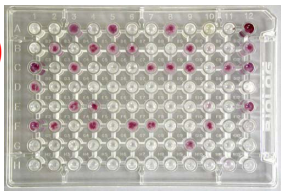
Données phénotypiques,
écologiques

Hybridation ADN/ADN
($DDH \geq 70\%$, $\Delta T_m \leq 5^\circ C$)
Méthode de référence
Lourdeur opératoire

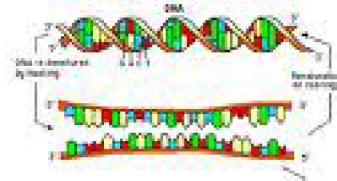
Autres techniques
(AFLP, rep-PCR, MLSA)

Séquençage complet
de génomes
(Konstantinidis et
Tiedje, 2005)

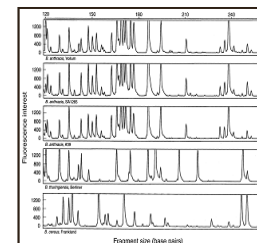
1939



1987



2002



20??



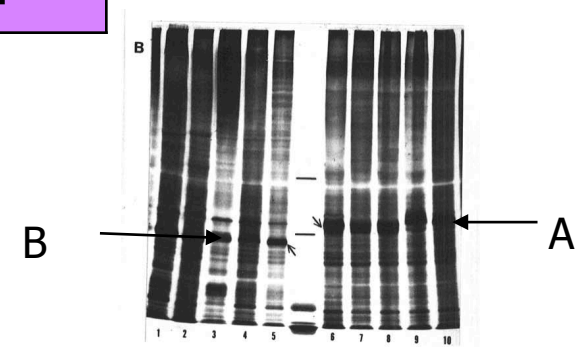
Introduction



X. campestris pv. *vesicatoria*

Classification phénotypique

Groupe	Réaction avec Mab	Protéine	Hydrolyse	
			amidon	pectate
A	1.21	32kDa (α)	-	-
A1	1.21	27kDa (β)	+	+
B	8.15	25kDa (β)	+	+
C	30	27kDa (β)	+	+
D	8	27kDa (β)	-	-





Xanthomonas des Solanées

Nomenclature

gr A: *X. axonopodis* (A) (Jones *et al.*, 2004) (~~*X. vesicatoria* (A) (Vauterin *et al.*, 1995)~~)

gr C: *X. perforans* (C) (Jones *et al.*, 2004)

gr B: *X. vesicatoria* (B) (Vauterin *et al.*, 1995)

gr D: *X. gardneri* (D) (Jones *et al.*, 2004)

- *X. campestris* pv. *raphani* (pathogène des crucifères)
 - ✚ est aussi pathogène des Solanées à graines après inoculation et en conditions naturelles (Kufli et Cuppels, 1997; Fragaria et Manceau, 2007; Punia *et al.*, 2007)

Gamme d'hôtes

■ *X. euvesicatoria*

■ *X. gardneri*

■ *X. perforans*

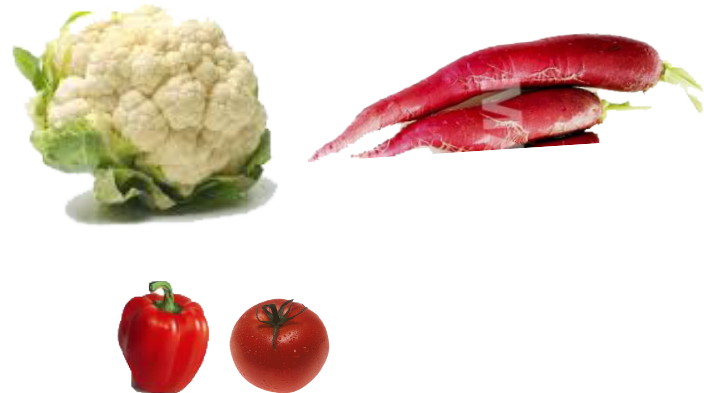
■ *X. vesicatoria*



Hôtes expérimentaux
(**Réalité biologique ?**)



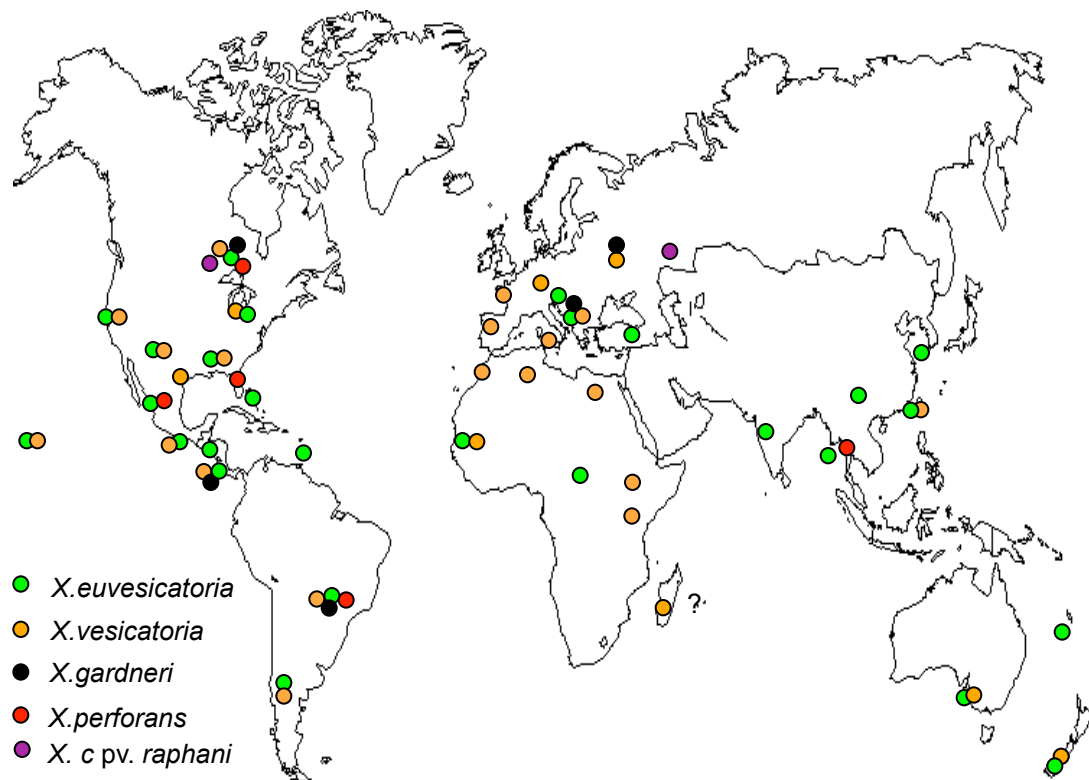
■ *X. campestris* pv. *raphani*





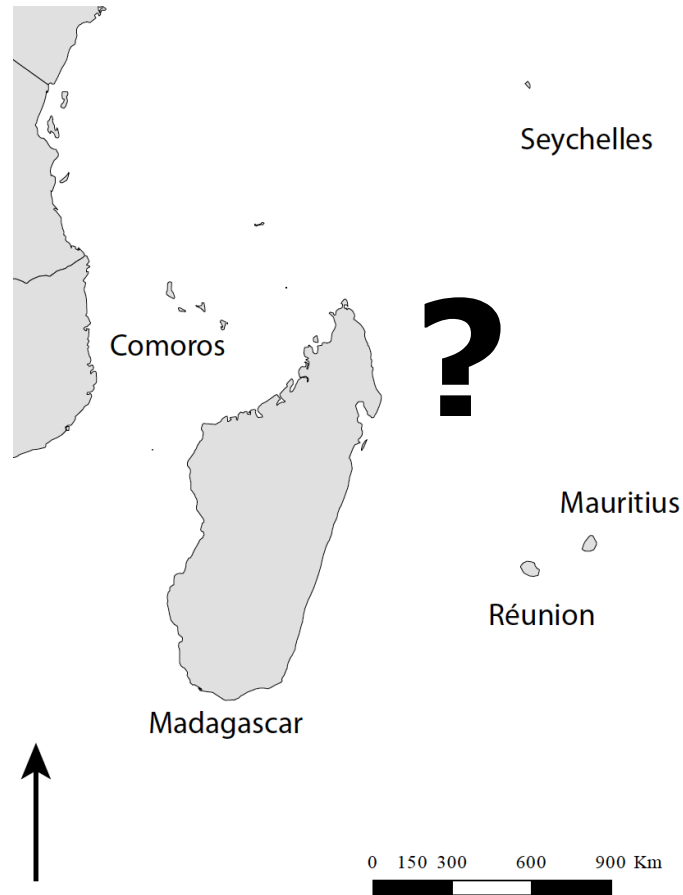
La gale bactérienne des Solanées

- Maladie présente dans les pays tempérés chauds et tropicaux (pluie abondante, humidité élevée, T° 24-30°C)
- Provoque une baisse de rendement dans les cultures de plein champ
- Causée par plusieurs espèces de *Xanthomonas* mais même symptomatologie





Situation dans les îles du sud-ouest de l'Océan Indien



Situation avant ce travail : présence uniquement de *X. vesicatoria* dans la région
(**Bouzar *et al.*, 1994**)

Symptomatologie

Convergence



Taches subérisées



Taches circulaires



Symptômes sur
tige de tomate

Gale bactérienne sur fruit et feuilles de tomate



Gale bactérienne sur fruit et feuilles de poivron



Symptômes de gale bactérienne
causée par *X. c. pv. raphani*



Analyse de la diversité des *Xanthomonas* spp. associés aux Solanées à graines dans le sud-ouest de l' Océan indien

Genetic and pathological diversity among *Xanthomonas* strains responsible for bacterial spot on tomato and pepper in the southwest Indian Ocean Region. A. A. Hamza, I. Robène-Soustrade, E. Jouen, L. Gagnevin, P. Lefeuvre, F. Chiroleu, and O. Pruvost. 2010, *Plant Dis.* 94(8): 993-999

Approche analytique

- AFLP
- MLSA
- Tests de pouvoir pathogène



Diversité des *Xanthomonas* spp. associés aux Solanées à graines

■ **AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)**

Marqueurs neutres

Loci répartis sur l'ensemble du génome

■ **MLSA (MultiLocus Sequence Analysis):**

Analyse sur des portions ciblées du génome

Gènes de ménage («core genome») soumis à sélection purificatrice, et dispersés sur le génome

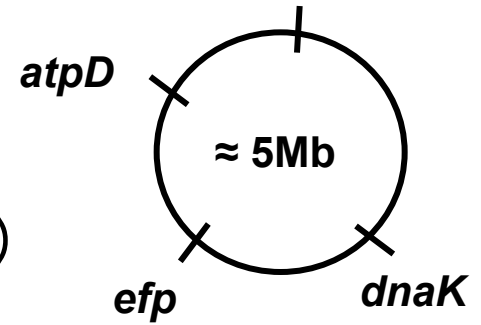
■ **Tests de pouvoir pathogène**

Etude du spectre d'hôtes et de la symptomatologie

MultiLocus Sequence Analysis

Séquençage d'un fragment interne dans 4 gènes de ménage *gyrB*

- ***atpD*** = sous unité β ATP synthase (≈ 750 pb)
- ***dnaK*** = Heat shock protein 70 (≈ 750 pb)
- ***efp*** = facteur d'élongation P (≈ 400 pb)
- ***gyrB*** = sous unité β de l'ADN gyrase (≈ 750 pb)



Sur 72 souches représentatives de la diversité de *Xanthomonas* spp. des solanées déterminée par AFLP

Exploitation des résultats

- Calcul des distances génétiques
- Congruence des topologies
- Analyse des recombinaisons (RDP3)

Pouvoir pathogène

- Infiltration $\approx 10^2$ ufc par point d'inoculation
- Au moins 2 répétitions indépendantes
- 4 espèces: *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria*,
X. perforans, *X. gardneri*
- 2 espèces-hôte :
 - ✚ *Capsicum annuum* (Aiguille et Yolo wonder)
 - ✚ *Solanum lycopersicum* (Marmande)

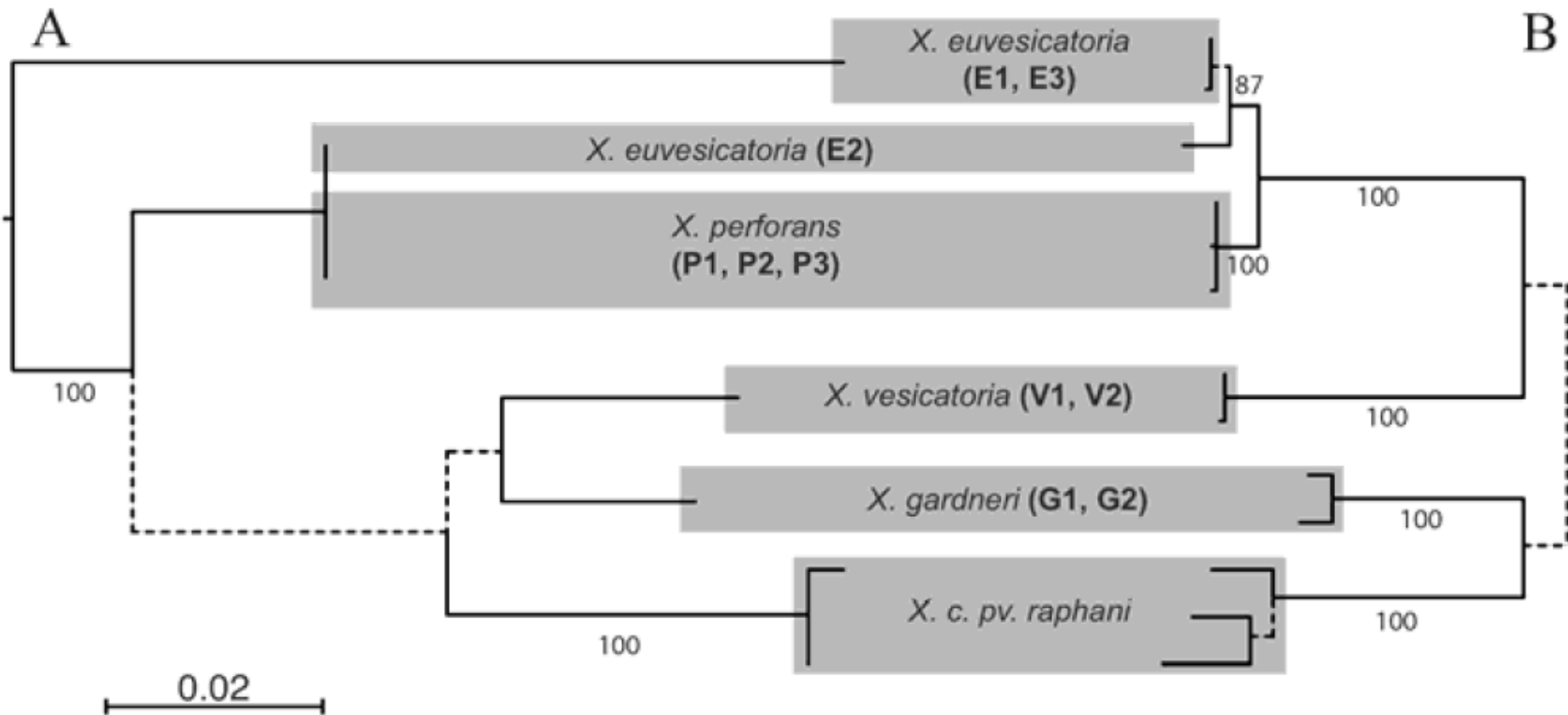
Développement de
lésions 25j (calcul des
SSCM ou AUDPC)

Densité de population
(Milieux semi- sélectifs)





Diversité des *Xanthomonas* spp. associés aux Solanées à graines dans le sud-ouest de l'océan indien

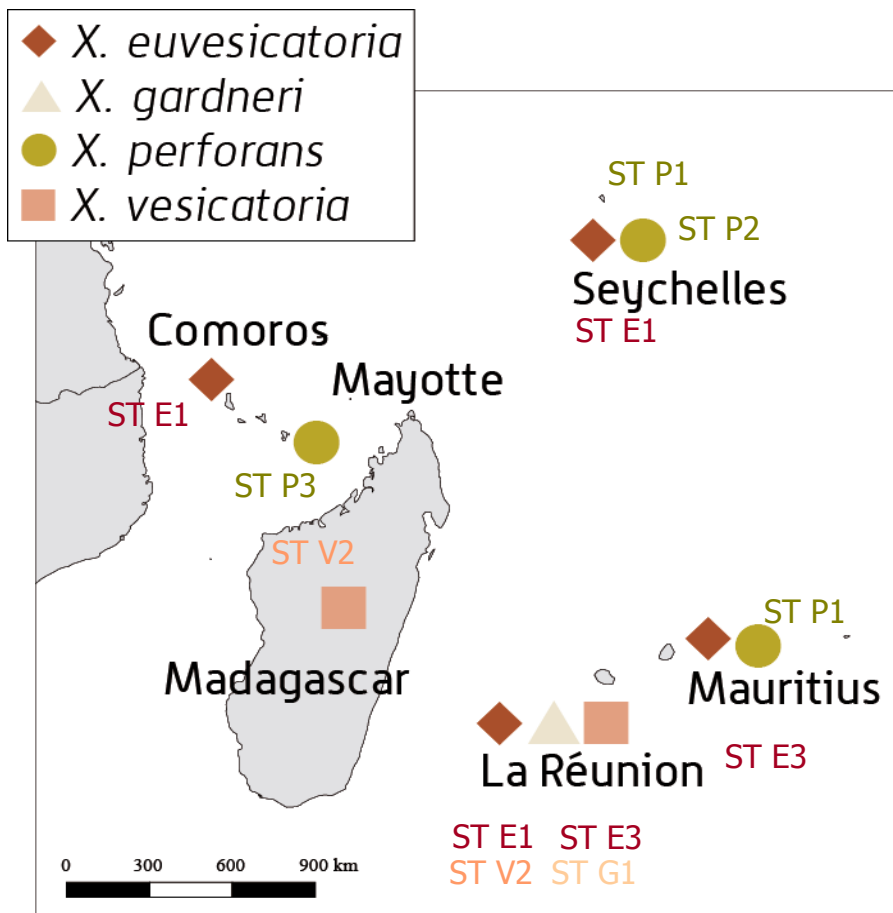


■ Concordance globale des données AFLP et MLSA



Situation dans les îles du sud-ouest de l'Océan Indien

AFLP/MLSA



- *X. campestris* pv. *raphani* non identifié
- Prévalence de *X. euvesicatoria* (65%)



Pouvoir pathogène

- Profil pathologique des souches de *Xanthomonas* spp. de la région conforme aux données de la littérature.
- Profil pathologique des souches de *X. euvesicatoria* de la région Océan Indien variable

Hôte d'isolement	Pays	Tomate cv. Marmande		Piment cv. Aiguille	
		Pathogénie	Population	Pathogénie	Population
<i>C. annum</i>	Comores	+ (4-7)	++	+ (9-11)	++
<i>C. annum</i>	Comores	+ (3)	++	+ (9-13)	++
<i>C. annum</i>	Maurice	+ (4)	+	+ (5-6)	+++
<i>C. annum</i>	Maurice	+ (4)	+	+ (5)	+++
<i>C. annum</i>	Seychelles	+ (4-5)	+	+ (5-7)	+++
<i>S. lycopersicum</i>	Comores	+ (3-4)	+++	-	NA
<i>S. lycopersicum</i>	Réunion	+ (3-4)	+++	-	NA



Diversité des *Xanthomonas* spp. associés aux Solanées dans les îles de l' Océan Indien

- Première description du statut des *Xanthomonas* spp. associés à la gale bactérienne dans la région Océan Indien
- Confirmation supplémentaire de l' intérêt de l' AFLP et MLSA pour la caractérisation moléculaire de *Xanthomonas* au niveau de l' espèce et/ ou du pathovar



Merci de votre attention
!



Merci

* Olivier, Isabelle, Christian, Lionel, Manu, Philippe, Bernard, Emmanuel, Michel, Jean Mi, Michel et encore un autre Michel, Nathalie, Claudine, Annie, Karine, Aurélie, Stéphanie, Walter, Pierre, Hélène, Fred, Elisabeth, Marcel, Benoit, Jacques, Serge, Laurent, Leila, Mag, Aurore, Gilles, Benj, Mireille, Innocent, Murielle, Magalie, le petit Fred, Daph, Sévrine, Willy, Kenny, Nath, Fred stat, Véronique, Océane, Emanuelle, Jaela, David, Jean-jacque, Mehdi, et tous les autres VCAT stagiaires et formes apparentées, Samuel, Moulan, Viviane, Magalie, Chantal, Micheline, DD super Hoareau, martial, lulu, Antoine..... Merci a tous