

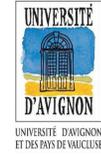


Participants

Odile Berge¹, Frédérique Razan¹, Wafa Achouak²,
 Caroline Monteil¹, Catherine Glaux¹, Marie Bertrand²,
 Caroline Guilbaud¹, Annette Bérard³, Frédéric Rimet⁴
 & Cindy E. Morris¹

Laboratoires

¹INRA-PACA, UR407, Pathologie végétale, Montfavet (France)
²LEMIRE IBEB, UMR 6191 CEA, CNRS Univ mediterrane, Cadarache (France)
³INRA-PACA, UMR 1114 INRA Univ avignon, Montfavet (France)
⁴INRA, Thonon-les-bains, France



CONTEXTE

La bactérie phytopathogène *Pseudomonas syringae* peut provoquer des maladies chez de nombreuses plantes, comme le melon ou le kiwi.



Epidémie mondiale sur kiwi depuis 2010



Torrent de haute Durance à Ceillac

Elle est aussi largement dispersée dans l'environnement où elle suit le cycle de l'eau douce. Le fond de tous les cours d'eau est recouvert de biofilms naturels (épilithes) qui hébergent des *P. syringae*.

Ces biofilms pourraient constituer une réserve d'agents phytopathogènes et représenter une source de souches agressives.

QUESTIONS

- Quelles sont les types de populations de *P. syringae* dans les biofilms des eaux des bassins agricoles ?
- Quelles sont les caractéristiques des populations microbiennes dans les biofilms hébergeant *P. syringae* en amont et en aval de la Durance ?
- Quel rôle pour les microalgues dans le maintien et la diversité des *P. syringae* dans les biofilms épilithes ?
- La gestion des canaux d'irrigation a-t-elle une influence sur les biofilms et leurs populations ?

En amont, montagnes de haute Durance dédiées au pastoralisme



La Durance au lac de Serre-Ponçon en haute Durance



Torrent de haute Durance à Ceillac



Biofilm épilithes dans un torrent au Col de Vars

Echantillonnage
 4 sites
 6 dates sur 2 ans
 44 biofilms épilithes

En aval, plaine de basse Durance cultivée et irriguée



Culture de poivrons à Moustiers sous serre chauffée par l'eau de la Durance amenée par une ficelle



Canal Monte au lieu dit « Le logis neuf » entre Moustiers et le canal St Julien

Echantillonnage
 4 sites
 5 dates sur 2 ans
 30 biofilms épilithes
 30 échantillons d'eau des réseaux d'irrigation



Echantillonnage de biofilm épilithes sur un caillou venant d'une filasse d'eau d'irrigation à Gargas

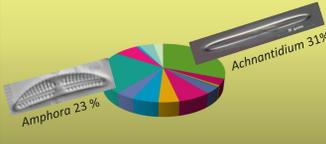
Prélèvement d'eau dans un bassin de rétention destiné au pompage d'eau d'irrigation à Gargas

Isolement des populations de *P. syringae*

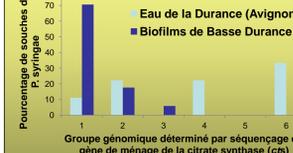
- 300 souches en collection (génotypage en cours)
- 40 % des biofilms contiennent *P. syringae*
- Abondance moyenne 10^4 *P. syr.* / g biofilm (10^9 bact. cult. / g)
- Abondance relative de *P. syringae* dans les biofilms : 1 / 70 000 bactéries cultivables dans l'eau : 1 / 7 000 bactéries cultivables
- 80 % des souches sont « pathogènes »

Détermination des Diatomées

Il y a une grande diversité de diatomées 2 genres représentent 54 % des diatomées



Les populations de *P. syringae* se structurent selon leur substrat d'isolement



Bassin versant de la Durance

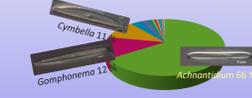


Isolement des populations de *P. syringae*

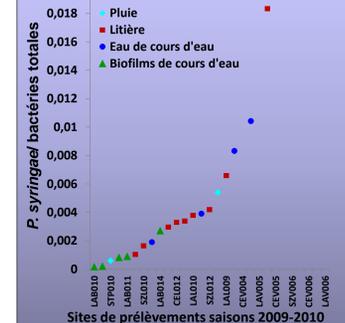
- 300 souches en collection (génotypage programmé)
- 90 % des biofilms contiennent *P. syringae*
- Abondance moy.: $7 \cdot 10^4$ *P. syr.* / g biofilm ($4 \cdot 10^8$ bact. cult. / g)
- Abondance relative de *P. syringae* dans les biofilms = 1 / 10 000 bactéries cultivables dans l'eau : 1 / 1 000 bactéries cultivables
- 90 % des souches sont « pathogènes »

Détermination des Diatomées

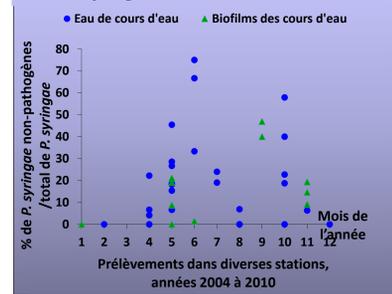
4 espèces sont majoritaires (90 %)



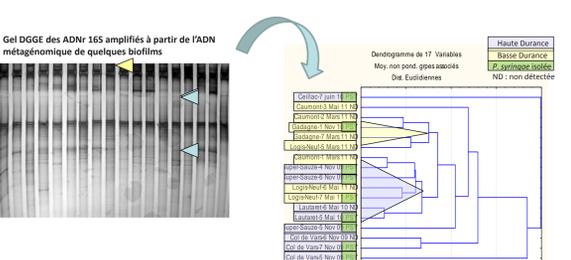
Abondance relative de *P. syringae* dans différents substrats



Pouvoir pathogène des populations de *P. syringae* au cours des saisons



Comparaison des structures de communauté bactérienne des biofilms de haute et basse Durance



Des tendances apparaissent:
 • Structuration des communautés bactériennes des biofilms par site d'échantillonnage
 • Structuration en fonction de la provenance haute ou basse Durance et de la présence de *P. syringae*, des marqueurs (\triangleleft) pourraient être identifiés par découpage et séquençage de bandes

RÉSULTATS HAUTE-DURANCE

- *P. syringae* est très fréquemment isolée de l'eau et des biofilms épilithes
- L'abondance relative de *P. syringae* est plus faible dans les biofilms que dans l'eau ou les autres substrats
- Les populations de *P. syringae* des biofilms comme de l'eau sont très majoritairement pathogènes et il existe des variations saisonnières du pourcentage de souches pathogènes
- Les biofilms ont une faible diversité de diatomées

CONCLUSIONS – PERSPECTIVES 1

- Les biofilms épilithes de haute Durance hébergent la bactérie phytopathogène *P. syringae*, toute l'année, même en absence de plantes cultivées.
- La présence de *P. syringae* en majorité pathogènes, dans les réseaux hydrologiques des plaines cultivées de la Durance pendant plusieurs saisons est démontrée pour la première fois.
- La comparaison des génotypes des *P. syringae* de haute et basse Durance permettra de tester l'hypothèse selon laquelle les *P. syringae* de basse Durance proviendraient en majorité de haute Durance.

CONCLUSIONS – PERSPECTIVES 3

- Chaque biofilm possède un pattern spécifique de communauté bactérienne identifiée par DGGE, quelques populations pourraient toutefois être associées à *P. syringae*
- Les communautés de microalgues de type diatomées sont clairement structurées géographiquement car très sensibles à la qualité de l'eau.
- Des techniques de pyroséquencage du métagénome de certains de ces biofilms sont envisagées pour caractériser les déterminants biologiques (bactéries, champignons, archae, algues) des biofilms hébergeants *P. syringae*.

CONCLUSIONS – PERSPECTIVES 2

- *P. syringae* semble plus compétitive :
 1) dans les cours d'eau de haute Durance que de basse Durance : basse température, oligotrophie et/ou présence de certaines diatomées abondantes pourraient l'expliquer
 2) dans l'eau que dans les biofilms : compétition sévère avec une grande diversité d'organismes. L'eau est le vecteur principal de cette espèce.
- Même en petit nombre ces *P. syringae* des biofilms représentent un certain risque pour les cultures. Leur génotypage montre qu'elles sont différentes de celles de l'eau.
- Les déterminants de cette spécificité pourront être étudiés via des systèmes de biofilms artificiels en laboratoire.

CONCLUSIONS – PERSPECTIVES 4

- La pratique de chômage des canaux en basse Durance est intéressante car elle élimine les *P. syringae* présents dans les biofilms.
- Par contre les bassins de rétention destinés à envoyer l'eau sous pression aux agriculteurs irrigués, entretiennent des populations dans leurs biofilms.
- Le génotypage de ces populations montrera s'ils hébergent des populations spécifiques par rapport à l'eau.

Lectures de référence

Morris, C. E. et al. 2007. Infection, Genetics & Evol 7: 84-92.
 Morris, C. E. et al. 2008. ISME Journal 2: 321-34.
 Morris C. E. et al. 2009. PLoS Pathog 5(12).
 Morris et al. 2010. MBO 1 (3).
 Riffaud C. & Morris C. E. 2002. Eur J Plant Pathol 108: 539-45.



JOURNÉE DE RESTITUTION
 DES PROJETS ECCOREV 2009 - 2010
 14 OCTOBRE 2011 – CÉRÈGE - AIX-EN-PROVENCE