

# STREPTO- CONTROL

Identification, mode d'action et synthèse des composés inducteurs des réponses immunitaires et antifongiques d'une souche bactérienne utilisée pour la protection des plantes

> Projet de recherche

## RESPONSABLE SCIENTIFIQUE

### Bernard Dumas

Université de Toulouse  
bernard.dumas@univ-tlse3.fr

## FINANCEMENTS

**Coût total du projet :** 1 655 518€

**Montant de la subvention OFB :** 156 154€

[Appel ANR maturation \(2017\)](#)

## PARTENAIRES

- ◇ Université Paul Sabatier Toulouse 3 (LRSV UMR 5546),
- ◇ I2BC UMR 9198 (CEA, CNRS, Université Paris Sud),
- ◇ DE SANGOSSE, Bonnel

## En bref

La protection des plantes contre les maladies s'est accompagnée au XXème siècle de l'utilisation massive de produits issus de la chimie de synthèse posant des problèmes environnementaux ou de sécurité pour les consommateurs. Afin de remplacer ces produits, de nouvelles stratégies sont développées dont l'utilisation de composés d'origine naturelle (produits de biocontrôle). Une source majeure de matières actives est constituée des microorganismes qui se développent au contact des plantes et qui participent à leur protection contre les organismes pathogènes. Le projet STREPTOCONTROL a pour but de comprendre l'activité biologique et d'optimiser l'utilisation d'une bactérie du sol, appelée Streptomyces AgN23, afin de développer une nouvelle génération de produits de protection des plantes.

Plantes

Streptomyces

Bio-fongicides

Immunité

Biocontrôle



Les streptomycètes sont des bactéries du sol retrouvées dans de nombreux habitats naturels et en particulier au niveau de la rhizosphère, une zone à proximité immédiate des racines des plantes. Ces microorganismes sont caractérisés par leur capacité à produire une large diversité de métabolites spécialisés présentant des activités antimicrobiennes et stimulatrices des défenses végétales. Dans ce contexte, l'identification et la caractérisation de souches de streptomycètes bénéfiques pour les plantes pourraient avoir un impact majeur pour le développement de nouvelles solutions phytosanitaires respectueuses de l'environnement.

Malgré leurs propriétés bénéfiques, seulement quelques souches de streptomycètes sont utilisées dans l'agriculture au niveau mondial, suggérant qu'une meilleure connaissance de ces organismes et de leur comportement dans les milieux naturels permettrait de développer leur utilisation. Le projet STREPTOCONTROL a pour but de **comprendre l'activité biologique d'une nouvelle souche de Streptomyces sélectionnée, AgN23, capable d'induire le système immunitaire des plantes et de produire des activités inhibitrices de la croissance de champignons phytopathogènes.** La pulvérisation de spores ou de mycélium d'AgN23 à la surface de feuilles protège les plantes d'infections microbiennes. Cependant, le mode d'action et le comportement dans

le milieu naturel de cette souche ne sont pas connus.

◆ **Le premier objectif** du projet STREPTOCONTROL était d'identifier les métabolites spécialisés actifs de la souche en utilisant une combinaison d'approches génomiques, génétiques et biochimiques.

◆ **Le deuxième objectif** visait à identifier les gènes clés dans la production des métabolites d'intérêt par des études moléculaires et génétiques.

◆ **Le troisième objectif** visait à comprendre le comportement d'AgN23 dans des conditions environnementales contrôlées en présence de divers types d'espèces végétales et microbiennes. ➤

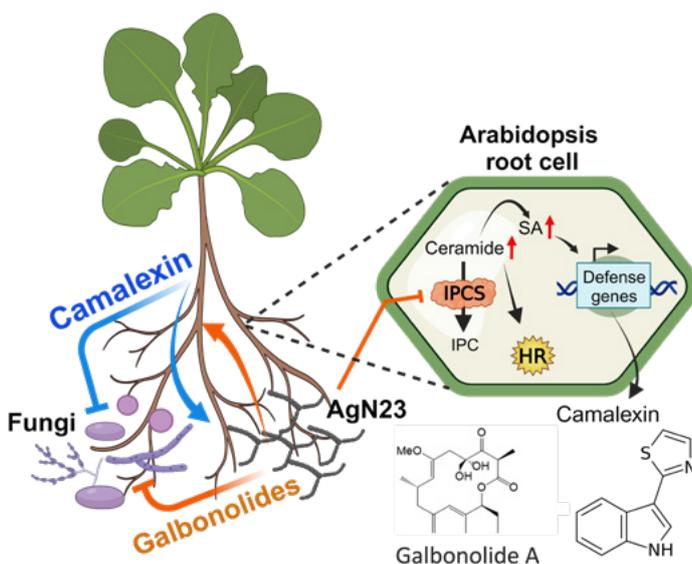


Figure 1 : Modèle de l'activité des galbonolides produits par les streptomycètes. Les galbonolides sont des molécules complexes produites par plusieurs espèces de streptomycètes du sol, au contact des racines végétales. Ces molécules bloquent la synthèse de composés de champignons et de plantes ce qui provoque une toxicité pour les champignons et une induction de défenses naturelles chez les plantes. Parmi ces défenses, il y a production de molécules antimicrobiennes comme la camalexine chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*. L'action concertée des galbonolides et de la camalexine permet le développement d'AgN23 dans la rhizosphère et la protection de la plante contre les organismes pathogènes.



### Identification des métabolites produits par AgN23

Le premier résultat de notre projet a été d'obtenir une séquence génomique de haute qualité d'AgN23 ce qui nous a permis de **prédire les clusters de gènes impliqués dans la synthèse de métabolites spécialisés et les éléments régulateurs de ces gènes**. Nous avons aussi pu déterminer la position taxonomique d'AgN23 au sein du clade *S. violaceus-niger*. Ce clade renferme de nombreuses espèces de *Streptomyces* largement répandues dans des écosystèmes du sol, notamment la rhizosphère. Une approche biochimique (métabolomique) a été suivie afin d'identifier les métabolites issus de cultures in vitro d'AgN23. Cette approche a confirmé la plupart des prédictions de l'approche génomique. AgN23 produit plus d'une quarantaine de métabolites complexes, certains étant connus pour des activités antimicrobiennes. Nous avons également identifié plusieurs molécules identiques à des phytohormones comme l'auxine, une hormone végétale impliquée dans des processus de développement des plantes. La production de ces hormones par AgN23 pourrait indiquer un effet bénéfique de la bactérie sur le développement racinaire (Gayrard et al., 2023).

### Caractérisation des métabolites responsables de l'activité biologique

A partir de ces résultats, nous avons choisi de focaliser nos travaux sur une classe particulière de molécules, les galbonolides. Ces métabolites ont une activité antifongique en ciblant un métabolisme particulier chez les champignons (les sphingolipides) entraînant une mort cellulaire. Ce même métabolisme est également présent chez les plantes, jouant cette fois un rôle important dans les défenses immunitaires. Des mutants d'AgN23 incapables de produire des galbonolides ont été obtenus. De façon remarquable, **ces mutants étaient significativement affectés dans leurs activités anti-**

**fongique et stimulatrice des défenses de la plante**. Nous avons également pu montrer que **ces mutants étaient moins efficaces pour la colonisation de la rhizosphère**. Des analyses complémentaires nous ont permis de dresser un modèle expliquant l'activité biologique d'AgN23 (*Figure 1*) centré sur le rôle des galbonolides qui en activant les défenses de la racine entraînent la production de métabolites végétaux antimicrobiens qui favorisent en retour le développement d'AgN23, probablement par un effet de compétition (Nicolle et al., 2024).

### Comportement d'AgN23 dans des conditions environnementales contrôlées en présence de divers types d'espèces végétales et microbiennes.

Un questionnement important concernant l'utilisation des souches microbiennes de biocontrôle est leur capacité à se développer et se maintenir dans la rhizosphère et leur impact potentiel sur le microbiome de la plante. Pour étudier cette question nous avons construits des souches d'AgN23 exprimant un marqueur fluorescent permettant de suivre facilement la souche. Nous avons ainsi pu **observer un développement préférentiel d'AgN23 dans la rhizosphère des plantes comparé au sol sans plantes**. Afin d'étudier l'impact d'AgN23 sur la rhizosphère, le microbiome racinaire a été analysé par une approche de « barcoding » après plusieurs semaines de culture en présence d'AgN23. **Aucune modification majeure de la structuration du microbiome en présence d'AgN23 n'a été mis en évidence suggérant l'absence d'impact d'AgN23**.

L'ensemble de nos travaux montrent que **l'utilisation d'approches globales (génomique, métabolomiques, métabarcoding...) associées à des expériences de génétique moléculaires permettent de décrypter le mode d'action des souches de biocontrôle** et ainsi d'améliorer et de contrôler leur utilisation. ➤



## Du côté du transfert

Mieux comprendre les mécanismes à l'origine de l'activité des souches microbiennes est essentiel pour leur développement en tant que produits de protection des plantes. Répandre des souches microbiennes sélectionnées dans l'environnement nécessite tout d'abord d'identifier les mécanismes responsables de leur activité biologique (production de métabolites par exemple) qui peuvent servir d'indicateurs afin de monitorer la présence de ces souches dans l'environnement et les produits agricoles. Il est également nécessaire de vérifier l'impact de ces souches sur l'environnement microbien naturelle des plantes et les interactions avec d'autres microorganismes, bénéfiques notamment. Les données obtenues par le projet STREPTOCONTROL serviront donc au développement ultérieur de la souche AgN23, mais l'expertise et les connaissances que nous avons obtenues permettent de progresser plus rapidement sur le développement de nouvelles souches de Streptomyces.

## Du côté de la recherche

Nos travaux ont montré pour la première fois le rôle de métabolites de Streptomyces sur les défenses immunitaires des plantes et en quoi cette activité était bénéfique pour le développement de ces bactéries dans la rhizosphère. De plus, favoriser la présence des streptomycètes augmente la résistance des plantes aux maladies du sol, à la fois par la stimulation des défenses mais aussi grâce aux activités antimicrobiennes produites par la bactérie. L'expertise que nous avons acquise sur ces organismes nous a amené à développer des travaux sur d'autres souches de streptomycètes.

## Livrables, valorisation et transfert

CONFÉRENCES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES, AVEC ET SANS ACTES

◆ Gayrard, D., Vergnes, S., Rey, T., Dumas, B. (2018) *Study of a Streptomyces sp. derived signals*

*and their plant perception mechanisms* Natural Products and Biocontrol September 25-28 Perpignan oral

◆ Gayrard D., Rey T. Dumas B (2019) *Colonisation of Arabidopsis leaves by a Streptomyces sp. results in a protection against fungal diseases relying on plant immunity* XVIII IS-MPMI Congress 14-18 July 2019 Glasgow, Scotland, UK

◆ Amiel A, Benamar A, Fournier S, Puech Pagès V, Dumas B, André O (2020) *Characterization of A. thaliana responses to plant defence elicitors using untargeted metabolomics* European RFMF ➤



*Metabomeeting* January 22-24 2020 Toulouse

◇ Alba N., Hortala M., Gayrard D., Rey T., Dumas B., Lautru S. *Study of the interactions between plants and a Streptomyces strain with plant defence-eliciting properties*. Journées Jean Chevaugéon Bactéries, Aussois 2020

◇ Nicolle C, Hortala M, Gayrard D, Amiel A, Belmas E, Noel A, Lautru S, Rey T, Dumas B. *Molecular basis of plant defense stimulation by the soil borne Streptomyces strain AgN23: characterization of a novel necrotic elicitor*. **Oral presentation delivered at the 13th International Conference of the French Society of Plant Biology**. Perpignan, France, September 2022.

◇ Nicolle C, Hortala M, Gayrard D, Amiel A, Belmas E, Noel A, Lautru S, Rey T, Dumas B. *Molecular basis of plant defense stimulation by the soil borne Streptomyces strain AgN23: characterization of a novel necrotic elicitor*. **Oral presentation delivered at the 13th International Conference of the French Society of Plant Biology**. Montpellier, France, August 2022.

◇ Nicolle C, Hortala M, Gayrard D, Amiel A, Belmas E, Noel A, Lautru S, Rey T, Dumas B. *Molecular basis of plant defense stimulation by the soil borne Streptomyces strain AgN23: characterization of a novel necrotic elicitor*. **Poster presentation delivered at the 9th John Innes/Rudjer Boskovic Summer School on "Microbial Specialized Metabolites: Ecology, Evolution and Applications"**, Dubrovnik, Croatia.

◇ Dumas B *Identification and characterization of new microbial strains for plant protection and nutrition: The BioPlantProducts project*. MicrobiOccitanie 4-6 Juillet 2022 **3e rencontre des laboratoires de microbiologie de la région Occitanie**.

◇ Nicolle C, Gayrard D, Amiel A, Noel A, Long M, Lautru S, Rey T, Dumas B. *Identification of a Streptomyces necrotic elicitor involved in antifungal activity, plant defense stimulation and bacteria fitness in the rhizosphere*. **Oral presentation to be delivered at 12th International Congress**

**of Plant Pathology (ICPP) PlantBioRes Satellite Symposium**. Lyon, France, August 2023.

◇ Nicolle C, Gayrard D, Amiel A, Noel A, Long M, Lautru S, Rey T, Dumas B. *Identification of a Streptomyces necrotic elicitor involved in antifungal activity, plant defense stimulation and bacteria fitness in the rhizosphere*. **Poster presentation to be delivered at 12th International Congress of Plant Pathology (ICPP)**. Lyon, France, August 2023.

#### PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

◇ Vergnes S. et al., (2020) *Phyllosphere colonization by a soil Streptomyces sp. promotes plant defense responses against fungal infection* **Mol Plant Microbe Interact** 33:223-234

◇ Gayrard D et al. (2023) *Genome sequence of a Streptomyces strain revealed expansion and acquisition of gene repertoires potentially involved in adaptation to the root rhizosphere*. **Phytofrontiers** 3:535-547

◇ Nicolle C. et al. (2024) *Root associated Streptomyces produce galbonolides to modulate plant immunity and promote rhizosphere colonisation* **bioRxiv** 2024.01.20.576418; <https://doi.org/10.1101/2024.01.20.576418> (soumis pour publication)

#### AUTRES VALORISATIONS

◇ Dumas B Protection des plantes à l'aide des Stimulateurs de Défense des Plantes (SDP) Conférence sur invitation Journée Biocontrôle SNHF, ENSAT Toulouse, 12 mars 2019

◇ Dumas B Rencontre Exploreur Université de Toulouse – Quai des Savoirs dans le cadre du cycle « du laboratoire à l'entreprise. Présentation du Laboratoire Commun « BioPlantProducts » 9 mars 2021 |