Évaluation d'une approche de phytoprotection alternative : cas de la biostimulation ciblant la virulence régulée par quorum-sensing lors de la culture de plants de pomme de terre

2010-2013

RESPONSABLE SCIENTIFIQUE

Denis **FAURE**
faure@isv.cnrs-gif.fr
CNRS Gif-sur-Yvette
Institut des Sciences du Végétal (ISV)

PARTENAIRE

Comité Nord Plants de Pommes de Terre (CNPPT)

MOTS-CLÉS

Biocontrôle, *Pectobacterium*, pomme de terre, anti-virulence, jambe noire

EN QUELQUES MOTS

Le projet ECOPRO soutient les efforts de transfert et d'évaluation d'une nouvelle éco-technologie de lutte contre le pathogène *Pectobacterium* responsable des maladies de la jambe noire et de la pourriture molle des cultures de plants de pommes de terre (et d'autres plantes d'intérêt agronomique: betterave, endive, carotte …). Cette éco-technologie consiste en l'introduction simultanée d'un nouvel intrant biochimique biodégradable (gamma-heptanolactone) et d'un agent bactérien de biocontrôle (*Rhodococcus erythropolis*). Le projet associe comme partenaire agronomique le CNPPT qui est le principal regroupement de producteurs de plants de pomme de terre en France et comme partenaire académique l'équipe Ecologie de la Rhizosphère du CNRS (Gif-sur-Yvette). Ce travail évalue le service agronomique rendu et l'impact environnemental liés à l'utilisation de cette nouvelle éco-technologie.

CONTEXTE ET OBJECTIF

Les pathogènes du genre *Pectobacterium* sont responsables de la jambe noire et de la pourriture molle affectant les parties aériennes et les tubercules de pomme de terre, et sont les principaux agents bactériens incriminés lors de l'évaluation en champ de la qualité des plants de pommes de terre en France et en Europe. Les recherches académiques ont mis à jour les mécanismes de régulation de la virulence de *Pectobacterium* et ainsi permis la proposition de nouvelles stratégies de lutte. En se basant sur des essais en serres et en parcelles, le projet ECOPRO (2010-2013) a évalué le service agronomique (phytoprotection) obtenu après l'apport d'agents phytobénéfiques (appelés agents de biocontrôle) de l'espèce bactérienne *Rhodococcus erythropolis* associés à des agents biodégradables (des lactones appelés biostimulants) qui favorisent l'installation de *R. erythropolis* dans la rhizosphère.

MÉTHODES

Essais en macrocosmes de sol en serre

Sous serre, des macrocosmes de sol sont semés de tubercules de pomme de terre afin de comparer l'efficacité de colonisation racinaire des bactéries indigènes et introduites de *R. erythropolis* selon quatre modalités : (1) absence de traitement ; (2) application d'un biostimulant, la gamma-heptanolactone (GHL) ; (3) introduction de l'agent de biocontrôle *R. erythropolis* R138 ; et (4) un couplage du biostimulant GHL et de *R. erythropolis* R138. La communauté bactérienne totale et la population de *R. erythropolis* sont dénombrées ; l'agent GHL est détecté par spectrométrie de masse.

Essais en parcelles en champ

Les essais sont conduits en parcelles expérimentales de 200 pieds de plants de pommes de terre (Figure 1). La campagne se déroule d'avril à

septembre. Afin d'assurer la présence de symtômes, le pathogène *Pectobacterium atrosepticum* est introduit lors du semis. Dans ces essais deux types de traitements, (1) apport de l'agent biologique R138 seul et (2) apport de R138 couplé au biostimulant GHL, sont comparés aux parcelles contrôle sans traitement ou subissant l'application de sulfate de cuivre. Au moins quatre parcelles sont analysées par condition. Les symptômes de jambe noire sont observés, ainsi que ceux liés à la présence éventuelle d'autres pathogènes (virose, mildiou).

Analyse de la biodiversité bactérienne dans les sols

L'ADN des communautés bactériennes est extrait d'échantillons de sol issus des essais en macrocosmes et en parcelles. Cet ADN est utilisé comme matrice pour une amplification par PCR d'une région du gène rrs-16S, marqueur de la biodiversité bactérienne. Les amplicons obtenus sont soumis à un séquençage à haut débit 454-Roche permettant l'analyse de la diversité des genres bactériens.

PRINCIPAUX RÉSULTATS LIEN AVEC LE PLAN ÉCOPHYTO

Colonisation racinaire des bactéries phytoprotectrices

Les expérimentations réalisées en macrocosmes de sol en serre montrent : (1) une biodégradation rapide de l'agent biochimique (GHL) à un niveau 1000 fois inférieur à celui de son introduction; la GHL atteint un niveau indétectable par les outils HPLC/MS-MS, donc ne s'accumule pas dans le sol, ni dans la plante ou le tubercule ; (2) une biostimulation faible du niveau des populations *R. erythropolis* indigènes du sol dans la condition de biostimulation par la GHL ; ce traitement par la GHL seule montre donc peu d'effet en macrocosmes de sol contrairement aux effets observés en cultures hydroponiques ; (3) une faible (ou non significative) augmentation de la population *R. erythropolis* lorsque l'agent biologique R138 est introduit seul dans la rhizosphère ; (4) une forte colonisation de la rhizosphère par *R. erythropolis* qui atteint 40% de la communauté totale lors du couplage des agents biologique R138 et biochimique GHL. Il est important de noter qu'en absence de nouveaux traitements la population introduite R138 décroît en quelques semaines ; l'installation de cette population est transitoire. Ainsi, l'introduction couplée d'un agent biologique et biochimique est la meilleure combinaison permettant l'installation de l'agent biologique dans la rhizosphère de plants de pomme de terre.

Phytoprotection en parcelles expérimentales

En 2011, les essais en parcelles expérimentales ont montré une diminution des symptômes dans les conditions traitées avec l'agent biologique *R. erythropolis* R138 seul ou en couplage avec l'agent biochimique GHL. Le traitement au sulfate de cuivre n'a pas montré de diminution statistiquement significative des symptômes. Aucun symptôme associé à d'autres pathogènes (virus, mildiou) n'a été observé dans cet essai. En 2012, les conditions climatiques exceptionnelles n'ont pas permis l'exploitation des données recueillies. En 2013, les essais n'ont pas montré de baisse significative des symptômes.

Ces essais ont permis de mettre en place une procédure d'évaluation du bénéfice agronomique de cette éco-technologie. L'évaluation se poursuit, notamment en modulant le mode d'introduction du pathogène, qui dans ces essais a été très favorable au déclenchement de la maladie à un niveau 10 fois supérieur à celui attendu en champ.

Dynamique de la biodiversité bactérienne

Lors des essais en macrocosmes de sol, l'analyse de la diversité bactérienne montre que les genres et groupes dominants (*Rhizobiales*, *Pseudomonas*, *Commamonas*, *Acidovorax* …) ne sont pas affectés lors des différents traitements. En revanche, cette analyse a permis de confirmer l'installation dans la rhizosphère du genre *Rhodoccocus* lors de la modalité couplant application de la GHL et introduction de l'agent de biocontrôle *R. erythropolis* R138. D'une manière similaire, aucune modification significative des communautés bactériennes n'est observée entre les modalités comparées lors des essais en parcelles en 2011. Les traitements utilisés préservent la diversité bactérienne des sols.

PERSPECTIVES DE TRANSFERT

Ce projet a permis de développer et de mettre en œuvre des outils d'évaluation d'une éco-technologie de phytoprotection des plants de pommes de terre. Cette évaluation a été réalisée en serre et en parcelles expérimentales. Une diminution des symptômes associés au phytopathogène *Pectobacterium* a pu être mise en évidence après l'application de traitements associant l'agent de biocontrôle *R. erythropolis* R138 et l'agent de biostimulation GHL.

D'autres essais en parcelles sont en cours afin de consolider cette étude et de développer des formu-

lations d'applications commerciales des agents de phytoprotection. Sachant que les pathogènes *Pectobacterium* infectent d'autres plantes hôtes, ce paradigme de phytoprotection pourrait être généralisé à d'autres cultures d'intérêt agronomique.

PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Actuellement les travaux se poursuivent pour évaluer cette approche de phytoprotection associant l'agent de biocontrôle *R. erythropolis* R138 et l'agent de biostimulation GHL.

D'autres travaux sont engagés pour proposer d'autres approches de phytoprotection basées sur des approches d'antibiose et de phagothérapie, et leurs associations entre elles et avec d'autres traitements de phytoprotection.

Figure 1 : Test au champ de différents traitements des plants de pommes de terre (© CNRS).

VALORISATION

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

- Tannières M., Beury-Cirou A., Vigouroux A., Mondy S., Pellissier F., Dessaux Y., Faure D. (2013) A metagenomic study highlights phylogenetic proximity of quorum-quenching and xenobiotic-degrading amidases of the AS-family. PLoS ONE, 8: e65473.
- Crépin A., Cirou A., Barbey C., Farmer C., Hélias V., Faure D., Latour X. (2012) N-acyl homoserine lactones in diverse *Pectobacterium* and *Dickeya* plant pathogens: diversity, abundance, and involvement in virulence. Sensors, 12: 3484-3497.
- Crépin A., Barbey C., Cirou A., Tannières M., Orange N., Feuilloley M., Dessaux Y., Burini J-F., Faure D., Latour X. (2012) Biological control of pathogen communication in the rhizosphere: A novel approach applied to potato soft rot due to *Pectobacterium atrosepticum*. Plant and Soil, 358: 27-37.

COLLOQUES

- Kwasiborski A., Mondy S., Latour X., Beury-Cirou A., Faure D. (2013) Genomique et transcriptomique de l'agent de phytoprotection *Rhodococcus erythropolis* R138. Rennes. 2e Colloque Génomique Environnementale.
- Kwasiborski A., Mondy S., Mothe N., Cirou A., Faure D. (2012) Biocontrol of *Pectobacterium*: Genomic of the biological agent *Rhodococcus erythropolis* R138. Wageningen-Holland. Integrated Pest Management, 10th Conference of the European Foundation for Plant Pathology.
- Mothe N., Cirou A., Deveaux V., Faure D. (2012) Stratégie anti-quorum-sensing visant les bactéries macergènes de la pomme de terre. Tours. AFPP 10e conférence internationale sur les maladies des plantes.

- Tannières M., Cirou A., Mondy S., Faure D. (2012) Biostimulation of quorum quenching bacteria for protecting potato plants against *Pectobacterium sp*. Gent-Belgium. 64th International Symposium on Crop Protection.
- Tannières M., Cirou A., Mondy S., Faure D. (2012) Functionnal metagenomics for evaluating biostimulation of native quorum-quenching populations in the potato rhizosphere. Rhodes-Greece. 28th New Phytologist Symposium. Functions and Ecology of the Plant Microbiome.
- Raoul des Essarts Y., Cirou A., Mothe N., Hélias V., Faure D. (2012) Development of biocontrol strategies against the pathogenic bacteria causative of blackleg and soft-rot, *Pectobacterium* and *Dickeya*. Rennes. European Dickeya Meeting.
- Kwasiborski A., Mondy S., Cirou A., Faure D. (2012) Lutte biologique contre *Pectobacterium* : Génomique de l'agent phytoprotecteur *Rhodococcus erythropilis* R138. Paris. 8ème Colloque de la Société française de phytopathologie.
- Mothe N., Cirou A., Vast S., Deveaux V., Faure D. (2012) Biostimulation de *Rhodococcus erythropolis* R138 comme stratégie anti-quorum sensing visant *Pectobacterium atrocepticum*, bactérie pathogène de la pomme de terre. Aussois. 10ième Rencontre Plantes-Bactéries.

THÈSES

- Cirou A. (2010) Développement de stratégies d'anti-virulence ciblant la régulation quorum-sensing chez *Pectobacterium atrosepticum*, bactérie pathogène de la pomme de terre. Université d'Orsay (CIFRE-CNPPT).
- Tannières M. (2012) Interruption de la communication bactérienne dans la rhizosphère par la dégradation enzymatique des signaux quorum sensing. Université d'Orsay (Région Ile de France).
- Raoul des Essarts Y. Développement de stratégies d'antibiose ciblant *Pectobacterium* et *Dickeya* (thèse en cours ; CIFRE-FN3PT).

ENSEIGNEMENT / FORMATION

- Université Paris 7 : Licence 3 Sciences du Vivant, Parcours Biologie Cellulaire et Physiologie, UE Interactions plantes microorganismes.

EXPERTISE

- D. Faure. Evaluation des stratégies de biocontrôle contre les pahtogènes *Dickeya* et *Pectobacterium*. Comité scientifique du CNPPT 2010, 2011, 2012, 2013, 2014.

ARTICLE DE VALORISATION / VULGARISATION

- Cirou A., Tannières M., Mothe N., Deveaux V., Faure D. (2012) L'ingénierie écologique des agrosystèmes au service de la réduction des intrants chimiques dans le cadre du plan Écophyto 2018. Eclairage n°13 Janvier-Mars 2012. http://www.r2ds-ile-de-france.com/

PRÉSENTATION À DES INSTANCES PROFESSIONNELLES OU DE DÉCISION

- Faure D. (2011) Développement et évaluation des stratégies de biocontrôle contre les pahtogènes *Dickeya* et *Pectobacterium*. Fédération Nationale des Producteurs de Plants de Pommes de Terre, Conseil scientifique annuel 2011.

ACTION VERS LES MÉDIAS

- Mothe N., Deveaux V., Faure D. (2012) Les journées de l'Ingénierie Ecologique : Ingénierie écologique sous le projecteur du plan Écophyto 2018 (Visite du site 8). CNRS, Région Nord-Pas-de-Calais.