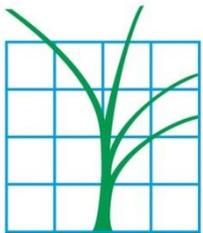


# Les bactérioses du melon

- Diagnostic des échantillons de melon campagne 2017
- Intérêt des peptides antimicrobiens vis-à-vis des bactériose

**Ctifl**



19/11/2018

**Marie Lisa Brachet**

Responsable • Unité de virologie et de biologie moléculaire

Centre opérationnel de Lanxade

CTIFL • 28 route des Nébouts – 24130 Prignonrieux

Tél. 05 53 58 00 05 Email [brachet@ctifl.fr](mailto:brachet@ctifl.fr)



# Les bactéries phytopathogènes

- Organismes microscopiques unicellulaires
- Les genres les plus importants : *Erwinia*, *Pectobacterium*, *Pantoea*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Burkholderia*, *Acidovorax*, *Xanthomonas*, *Clavibacter*, *Streptomyces*, *Xylella*, *Spiroplasme* et *Phytoplasme*
- Présentes dans l'espace intercellulaire (à l'inverse des virus)
- Modes d'action divers :
  - Production de toxines
  - Injection de protéines spéciales qui entraînent la mort des cellules de l'hôte
  - Production d'enzymes qui agissent directement sur les fonctions des cellules végétales ou leur paroi
  - Colonisation des vaisseaux conducteurs d'eau du Xylème

## Bactériose de l'abricotier



## Bactériose du melon



## Bactériose du kiwi





# Les bactéries phytopathogènes

- Problématique émergente et/ou en recrudescence ces dernières années
- Impacts variables selon les filières, allant de simples attaques foliaires à des dépérissement complets de la plante
- Principales cultures concernées :
  - Kiwi : *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*
  - Melon : *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*
  - Noyer : *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*



# Moyens de protection : leviers d'action

- Résistance variétale / moindre sensibilité
- Pratiques culturales préventives
- Application de produits :
  - Composés cupriques : menace de diminution UE ?
  - Contrôle des insectes vecteurs
  - Antibiotiques : interdits en Europe, risque de développement de résistance (ex. kiwi)
- Au niveau recherche :
  - Peptides antimicrobiens
  - Les bacteriophages

# Les bactérioses recensées sur melon

Agent pathogène	Origine	Symptôme	Réf.
<i>Acidovorax avenea</i> subsp. <i>citrulli</i>	Etats Unis (Texas)	Lésions sur fruits	(Isakeit et al., 1997)
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	Europe (France)	Nécroses sur feuilles et tiges	(Blancard, Lecoq, et Pitrat, 1991)
<i>Erwinia trachephila</i>	Asie, Afrique, Amérique du Nord	Flétrissement du feuillage	(Blancard, Lecoq, et Pitrat, 1991)
<i>Sphingomanas</i> sp.	Europe (Espagne)	Lésions sur fruits	(Buonauro, Stravato, et Cappelli, 2001)
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>aptata</i>	Europe (France)	Nécroses sur feuilles, chancres sur tiges et lésions sur fruits	(Morris et al., 2000)
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	Europe (France)	Nécroses sur feuilles	(Blancard, Lecoq, et Pitrat, 1991)
<i>Pseudomonas viridiflava</i>	Europe du sud-est (Grèce)	Flétrissement et dessèchement des feuilles	(Goumans et Chatzaki, 1998)
<i>Xanthomonas melonis</i>	Amérique du sud (Brésil)	Pourriture des fruits	(Neto, Sugimori, et Oliveira, 1984)

**Ctifl**



# DIAGNOSTIC ÉCHANTILLONS 2017

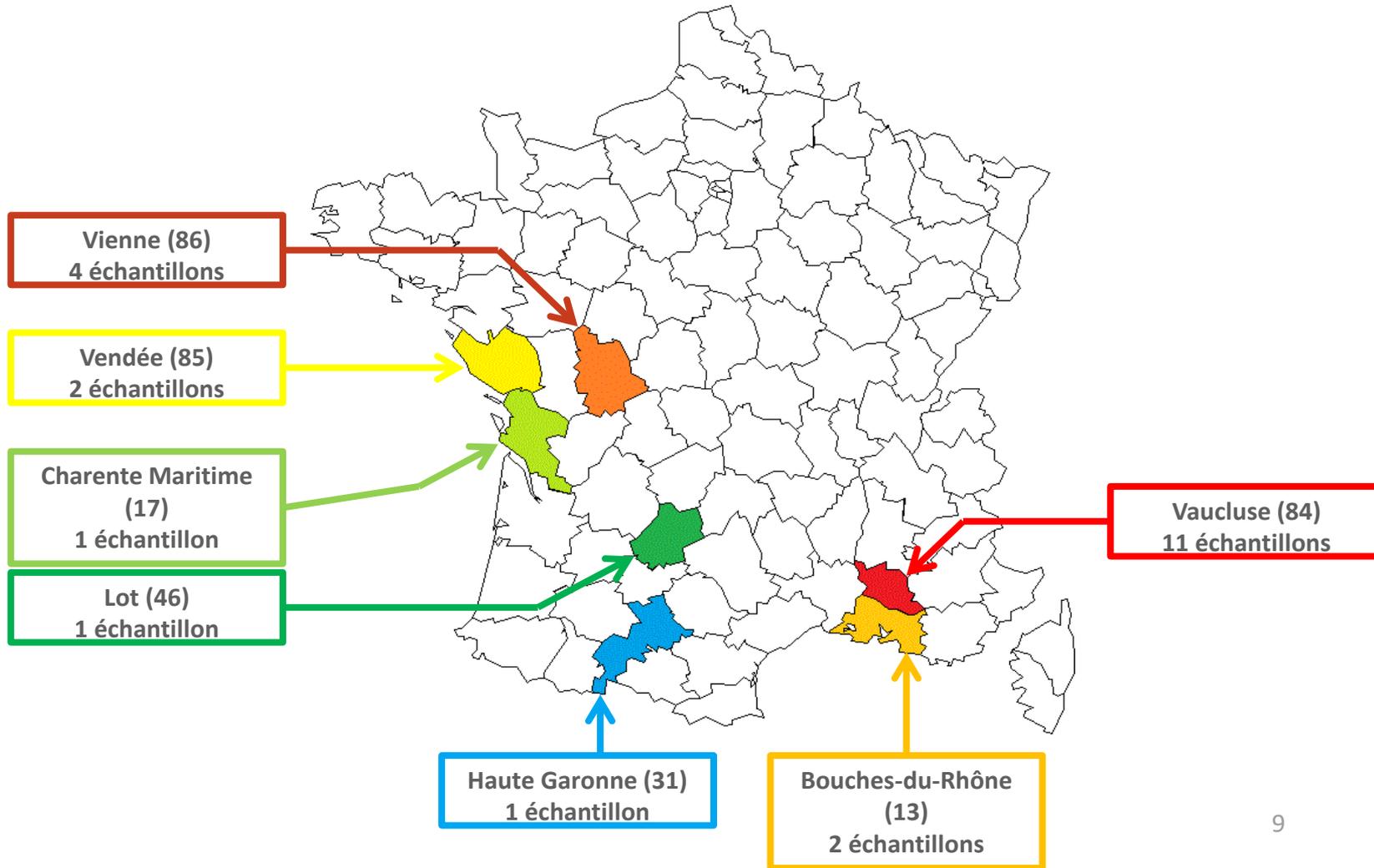
Aude Moronvalle, Maéva Julien, Marie Lisa Brachet



# Contexte

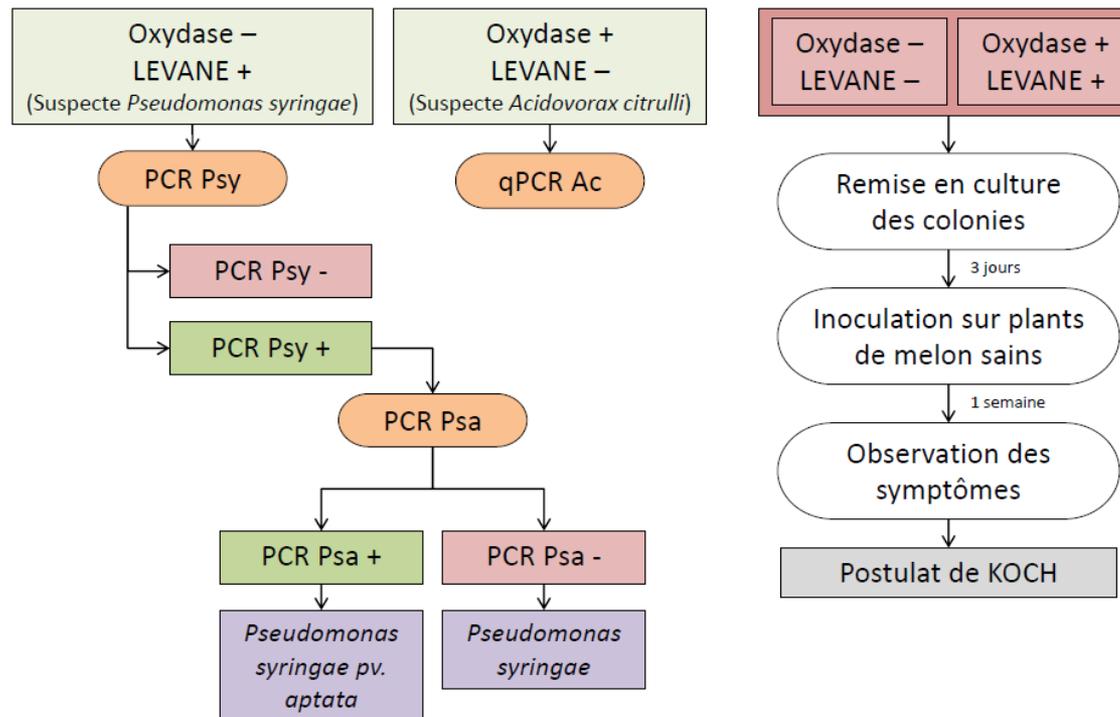
- Présence de symptômes bactériens atypiques depuis plusieurs années
- Atypiques :
  - Nature de la tâche
  - Conditions d'expression (climat/zone géographique)
- Hypothèses :
  - Présence de *P. syringae* pv. *aptata* avec symptômes « peu communs »
  - Présence d'une bactérie encore jamais décrite sur le territoire : *Acidovorax citrulli*

# Méthode de travail



# Méthode de travail

- 2017 : congélation des macéras
- 2018 : analyses des échantillons 2017





19/11/2018



# Résultats

- National :
  - 9 échantillons positifs à *P. syringae* pv. *aptata*
  - 0 échantillons positifs à *Acidovorax citrulli*
  - 8 souches « non identifiées » pathogènes, dont 2 appartenant à *P. syringae* sp.
- Centre-ouest : 14 échantillons :
  - 4 positifs à *P. syringae* pv. *aptata*
  - 10 sans diagnostic



# Discussion / Conclusion

- Hypothèses de départ non vérifiées
- Mise en évidence de souches bactériennes pathogènes non identifiées
- 50 % des échantillons sans diagnostic bactérien
- Proposition :
  - Reconduction d'une campagne de diagnostic en élargissant les hypothèses de départ ? Prise en compte des champignons et bactéries ?

Ctifl



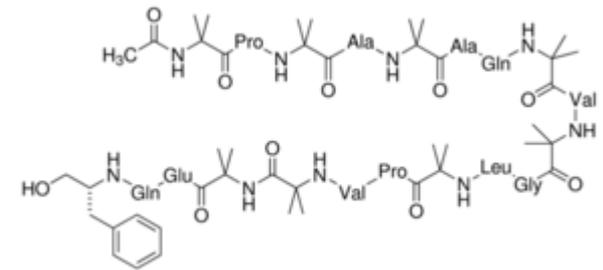
# LES PEPTIDES ANTIMICROBIENS VIS- À-VIS DES BACTÉRIOSES

Aude Moronvalle, Célia Morvan, Laure Beven (INRA),  
Marie Lisa Brachet



# PAMs : quelques caractéristiques

- Molécules courtes : 10 à 50 acides aminés
- Intérêt en recherche depuis de nombreuses années principalement dans le domaine médical (résistance aux antibiotiques)
- Origine synthétique ou naturelle



Alaméthicine (source: Sigma)

- Activités recherchées :
  - Antibactérien
  - SDP

# Evaluation des PAMs vis-à-vis des bactérioses

- CASDAR recherche technologique 2017
- 18 mois, 2 partenaires
- Projet exploratoire, preuve de concept
- 3 actions :

**Action 1 : Evaluation in-vitro de l'efficacité des PAMs vis-à-vis des bactérioses phytopathogène – Activité BIOCIDÉ**

N bactéries (kiwi, noix, abricot, melon, laitue, concombre, ...)

**Action 2 : Applications possibles sur les cultures cibles**

- Toxicité vis-à-vis de la plante
- Résistance à la protéolyse

2 bactéries

**Action 3 : Efficacité in-vivo et perspectives de développement**

Partenariats possibles  
Futurs projets



# Les PAMs et bactéries du projet

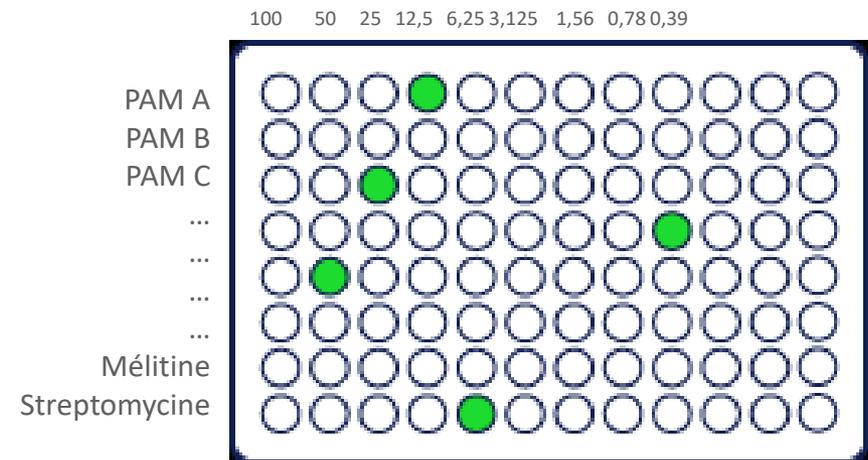
- PAMs issus de la bibliographie



PAM	Séquence	Pathogènes cibles décrits dans le littérature	Référence
BP100	H-KKLFKKILKYL-NH <sub>2</sub>	<i>E. amylovora</i> , <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i> , <i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Badosa <i>et al.</i> , 2007
SP1-1	H-RKKRLKLLKRLN-NH <sub>2</sub>	<i>P. syringae</i> , <i>Pectobacterium carotovorum</i> , <i>Xanthomonas vesicatoria</i>	Zeitler <i>et al.</i> , 2013
SP10-2	H-LRFLKKALKKLF-NH <sub>2</sub>		
SP10-5	H-LRIKKILKKLI-NH <sub>2</sub>		

# Résultats

- Efficacité : détermination des CMI (méthode standardisée)



- *P. syringae* pv. *aptata* (CFBP 5471) :
  - A 24h : inhibition effective de 3 PAMs + streptomycine, donc 1 PAM à concentration équivalente avec la streptomycine
  - A 48h : inhibition de 3 PAMs, pas d'activité de la streptomycine

# Résultats

- Résistance à la protéolyse :
  - Dégradation de la mélitine et du SP10-2
  - Pas de dégradation pour les autres PAMs
  - Mise en contact de lysats végétaux avec les PAMs
- Phytotoxicité : essai en cours au CTIFL
- Preuve de concept validé sur l'ensemble des bactéries évaluées



# Conclusion

- Les maladies bactériennes touchent de nombreuses cultures fruitières et légumières
- Les moyens de protection peuvent et doivent être travaillés en transversal