

**Année de l'AAP : 2008**

**Projet N° 0802-012 Achevé**

<b>Titre :</b> Analyse de l'expression des gènes de <i>Xanthomonas albilineans</i> lors de l'échaudure des feuilles chez la canne à sucre
---

**Unité responsable du projet :** BGPI (Biologie and Génétique des Interactions Plantes/Pathogènes) (CIRAD, INRA, Montpellier SupAgro)

**Porteur de projet :** Monique Royer (monique.royer(a)cirad.fr)

**Pays associé au projet :** USA

**Unités de recherche du réseau scientifique d'Agropolis Fondation associés :** LGDP

**Sous-axes thématiques :** BIP-2: Maladies et ravageurs des plantes, protection intégrée des cultures, écologie des populations

**Objectifs :**

Les mécanismes d'invasion du xylème par les bactéries phytopathogènes sont encore mal connus. *Xanthomonas albilineans* est l'agent responsable de l'échaudure des feuilles de la canne à sucre, l'une des principales maladies de cette plante, et compte parmi les plus anciennes espèces du genre *Xanthomonas*. Ce pathogène se multiplie dans le xylème et devient systémique, colonisant l'ensemble de l'hôte. *X. albilineans* a plusieurs caractéristiques inhabituelles qui distinguent sa pathogénie de celle d'autres espèces de *Xanthomonas*.

Le séquençage récent et l'annotation du génome de *X. albilineans* ont révélé que sa taille (3,7 Mb) est inférieure à celle des génomes des autres espèces de *Xanthomonas* séquencés à ce jour (environ 5 Mb). De plus, *X. albilineans* possède 518 gènes non présents dans d'autres espèces de *Xanthomonas*, mais est dépourvu du système de sécrétion de type III de la famille Hrp (T3SS), qui existe ou semble exister dans la plupart des autres espèces de *Xanthomonas* pathogènes. Le système Hrp est utilisé pour injecter des protéines effectrices de pathogénie dans les cellules végétales.

Il est indispensable d'identifier de nouveaux gènes candidats potentiellement impliqués dans la pathogénèse. L'objectif de ce projet est d'étudier dans son intégralité, en se servant de la technologie des puces à ADN, la réponse de *X. albilineans* à l'environnement hôte de la canne à sucre durant la colonisation du xylème et pendant la vie épiphytique du pathogène.

L'expression des gènes de la bactérie sera quantifiée en utilisant la technologie des puces à ADN, qui a été récemment utilisée avec succès par le professeur Caitilyn Allen pour étudier la réponse de *Ralstonia solanacearum* à l'environnement hôte de la tomate.

**Actions menées et résultats obtenus :**

Action 1: Mise en place d'expérimentations pour étudier l'expression des gènes de *Xanthomonas albilineans* au cours du développement de l'échaudure des feuilles de la canne à sucre

*Xanthomonas albilineans* est une bactérie pathogène de la canne à sucre qui se multiplie dans les vaisseaux du xylème. Elle est responsable de la maladie de l'échaudure des feuilles de la canne à sucre. L'objectif de ce projet est d'identifier les gènes spécifiquement exprimés chez *X. albilineans* lors de la colonisation du xylème. Dans ce but, nous avons choisi de réaliser des analyses Microarray d'ARN préparés à partir de bactéries isolées dans la tige de plants de canne à sucre inoculés avec *X. albilineans*.

Des puces à ADN spécifiques du transcriptome de *X. albilineans* ont été dessinées et construites par la société NimbleGen (Wisconsin-Madison, USA) sur la base de la séquence du génome de la souche GPE PC73 de *X. albilineans*. Ces puces sont spécifiques des séquences suivantes:

- les 3209 séquences codantes annotées dans le génome de la souche GPE PC73 de *X. albilineans*,
- la totalité des régions intergéniques identifiées dans le génome de la souche de GPE PC73 de *X. albilineans*
- 505 ESTs de *Saccharum officinarum* correspondant soit à des orthologues de gènes de riz impliqués dans les mécanismes de défense ou soit à des EST présents en plusieurs copies (30 à 300) dans les banques et donc probablement exprimés de façon constitutive.

Des ARN totaux ont été préparés à partir de bactéries isolées dans la tige de plants de canne à sucre inoculés avec *X. albilineans*. Pour cela nous avons suivi le protocole développé dans le laboratoire du professeur Caitilyn Allen pour la préparation d'ARN totaux à partir de bactéries isolées dans la tige de plants de tomate inoculés avec *Ralstonia solanacearum*, une bactérie pathogène qui se multiplie dans le xylème. Des ARN totaux ont également été préparés à partir de culture de *X. albilineans*. Ces ARN vont être prochainement analysés par la société NimbleGen en utilisant les puces à ADN construites dans le cadre de ce projet. L'équipe du professeur Caitilyn Allen participera au traitement bioinformatique des données de Microarray. L'analyse différentielle des données de Microarray obtenues avec les ARN préparés à partir de bactéries isolées dans la tige de plants de canne à sucre et avec les ARN préparés à partir de cultures de *X. albilineans* nous permettra d'identifier des gènes spécifiquement exprimé lors du développement de l'échaudure des feuilles.

Action 2: Participation aux enseignements de Montpellier SupAgro

- Cours de trois heures à Montpellier SupAgro le 26 janvier 2009 à l'attention des étudiants du Master IPM Tropical (étudiants africains francophone): Diagnostic et gestion des maladies bactériennes des plantes tropicales.
- Cours de deux heures à Montpellier SupAgro le 20 avril 2009 dans le cadre du module "Biologie évolutive et diversité du vivant": Evolution et phylogénie des bactéries phytopathogènes.
- Participation le 23 janvier 2009 au comité de thèse de Mélanie Marguerettaz de l'école doctorale SIBAGHE (travaux de thèse réalisés à l'UMR BGPI sous la direction de Monique Royer)

### **Perspectives :**

Action 1: Les gènes identifiés lors des analyses Microarrays comme spécifiquement exprimés lors du développement de l'échaudure des feuilles feront l'objet d'une étude plus approfondie. L'expression de ces gènes chez les bactéries isolées à partir de tige de plants de canne à sucre sera étudiée en utilisant la technique RT-PCR quantitative et le rôle de ces gènes dans la colonisation du xylème sera exploré à l'aide de mutants chez lesquels ces gènes seront inactivés. Le professeur Caitilyn Allen sera associé à ces travaux.

Action 2: Le professeur Caitilyn Allen continuera à participer aux programmes d'échange d'étudiants entre l'université du Wisconsin-Madison et Montpellier SupAgro. Elle participera également aux futurs comités de thèse des étudiants de l'UMR BGPI dont les travaux porteront sur l'étude de la pathogénie de *X. albilineans*.

**Financement total par Agropolis Fondation :** 21 360 € (frais de déplacement, de logement, frais de fonctionnement)

**Catégorie(s) de soutien :** chercheur invité (scientifique senior, moins de 12 mois)

**Durée du projet :** 15 octobre 2008 – 30 juin 2010

**Mots clés :** *Xanthomonas albilineans* – pathogénicité – expression des gènes – puces ADN