



9^e
édition

2017
16 & 17 janvier
AGROCAMPUS OUEST
ANGERS, FRANCE

RECHERCHE
EXPÉRIMENTATION
INNOVATION

Fruits
Légumes
Ornement
Plantes aromatiques
et médicinales
Semences
Cidriculture
Viticulture
Paysage

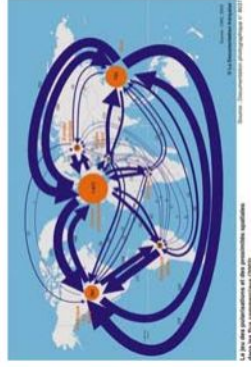
Lycovitis : un outil web intégrant diagnostic par l'image et code-barres moléculaires

démasquer les bio-agresseurs de
la tomate et la vigne

Session « Diversité et protection des plantes »

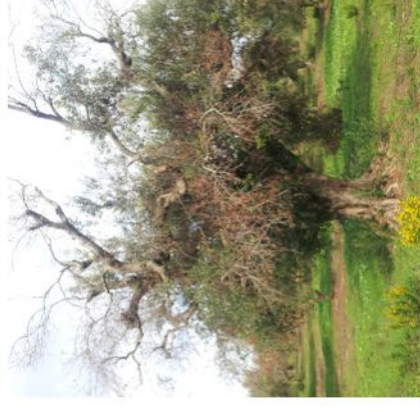
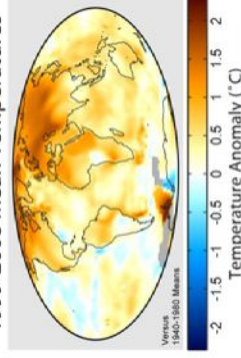
Marion FISCHER-LE SAUX
chercheur, INRA

Santé des plantes : contexte



- Intensification des échanges commerciaux
- Réchauffement climatique
- Pratiques culturales plus exigeantes
(ex. réduction de la couverture chimique)
- Augmentation du nombre d'émergences
d'agents pathogènes et d'invasions
biologiques
- Déclin de l'expertise en taxonomie et
diagnostic

1999-2008 Mean Temperatures



➡ **Un besoin accru pour de nouveaux outils de diagnostic**

Outils de diagnostic : ce qui existe déjà

E-phytia : un portail web dédié à la protection des plantes



C'est quoi ces
symptômes ?
Que faire ?

Aide au diagnostic
guides, banques d'images

Base de connaissances
sur la protection des
plantes



Aide au diagnostic



Outils web: **Ephytia**

> *Identifier les maladies et les ravageurs*

RECHERCHER



Identifier les maladies et les ravageurs

DIAGNOSTIC : GÉNÉRALITÉS, OUTILS ET RESSOURCES

Di@gno-View



Vég-Di@g



Di@gno-Lég



Biotel-Lég



Infos bioagresseurs



Insectes



CULTURES LÉGUMIÈRES

Tomate



Salades



Melon



Courgette & courges



Vigne



Di@gno-Pom



GRANDES CULTURES CULTURES HORTICOLES

Tabac



VigiJardin



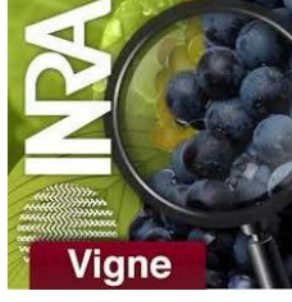
VigiHorti



Aide au diagnostic par comparaison d'images



Outils web: **Ephytia**



> Identifier les maladies et les ravageurs > Vigne > Connaître et maîtriser maladies et ravageurs > Champignons et autres microorganismes > Champignons aériens > Oïdium (*Erysiphe necator*)

RECHERCHER



Principaux symptômes

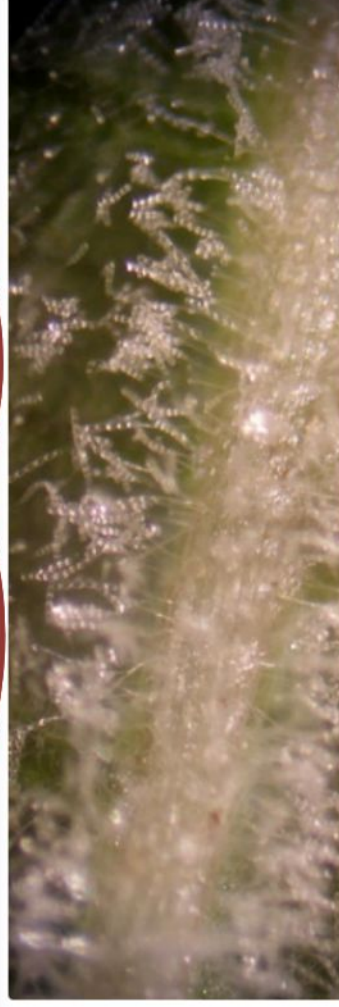
Biologie, épidémiologie

Description du champignon

Méthodes de protection

Focus : les biotypes A et B

Focus : Génotypes A et B/
Résistances aux
fongicides



Erysiphe necator Schwein. 1834 Oïdium ou "blanc de la vigne"

- classification : Fungi, Ascomycota, Leotiomycetes, Leotiomycetidae, Erysiphales, Erysiphaceae,
- synonymie : *Uncinula necator* (Schwein.) Burrill, (1892)
- dénomination anglaise : powdery mildew

Introduit il y a moins de deux siècles en Europe (en Angleterre en 1845), cet agent pathogène conduit à des attaques fulgurantes et à des pertes de récoltes



Ephytia - tous droits réservés - 2017

Mentions légales

Contact



Aide au diagnostic par comparaison d'images

Outils nomades : Di@gnoplant

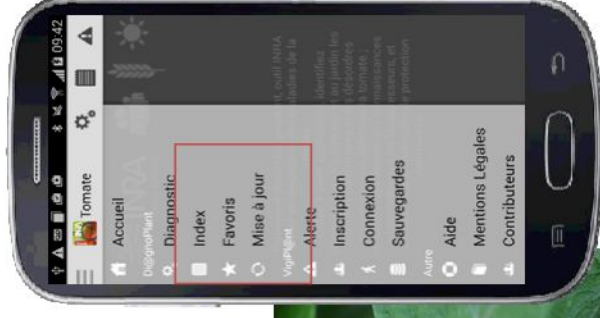


Descriptifs des bioagresseurs

Acarose (<i>Tetranychus</i> spp.)
Acarose bronzée (<i>Aceria lycopersica</i>)
Acarose déformante (transmission)
Agrobacterium radiobacter
Altérides
Alternaria alternata (et autres pourritures noires)
Alternaria tomatophila (alternariose)
Althia collii (pourritures à Althia)
Botrytis cinerea (moissure grise)
Candidatus Phytoplasma spp. (stolbur)
Cercosporiose (<i>Pseudocercospora fuliginosa</i>)
Clavibacter michiganensis (chance bactérien)
Cochénilles
Colletotrichum coccodes (anthracnose)

Diagnostic guidé : comparaison avec une banque d'images

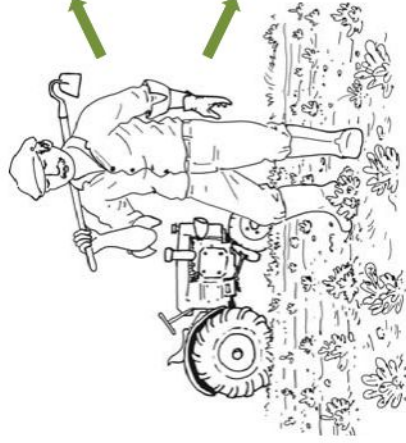
Informations



Symptômes - Biologie- Protection

Lorsque le diagnostic visuel atteint ses limites...

Ephytia



✓ Diagnostic visuel abouti
ou
✓ Plusieurs hypothèses
ou
✓ Problème non identifié

Suspicion
≠
Identification



Diagnostic de laboratoire

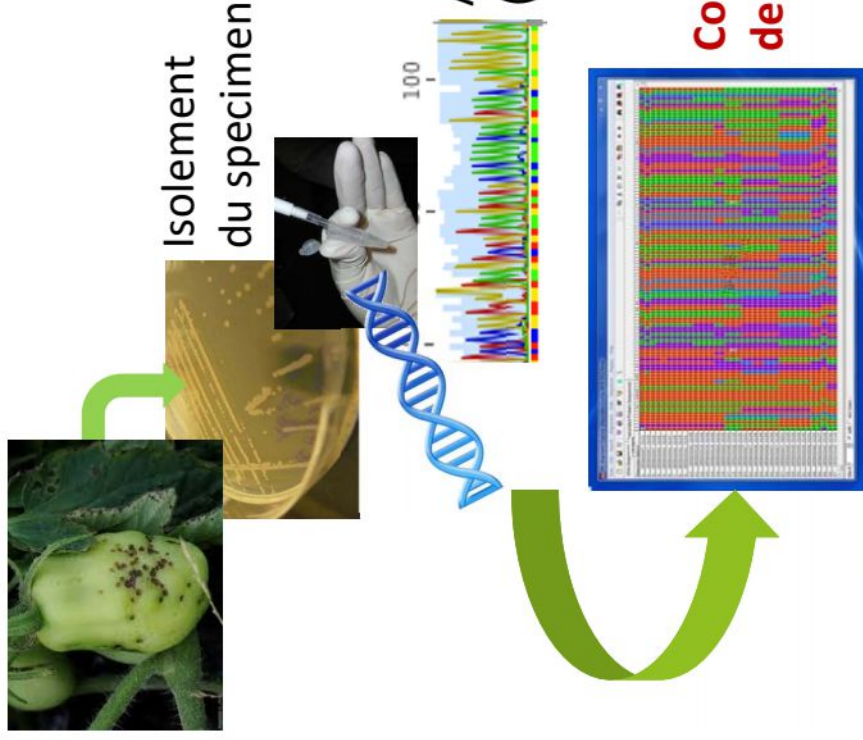
✓ Prélèvement
✓ Isolement du bio-agresseur
✓ Identification

R Vég-Di@g Di@gno-Lég
M Vég
T



Identification moléculaire ou barcoding

Besoin de bases de données de référence



Avantage du barcoding

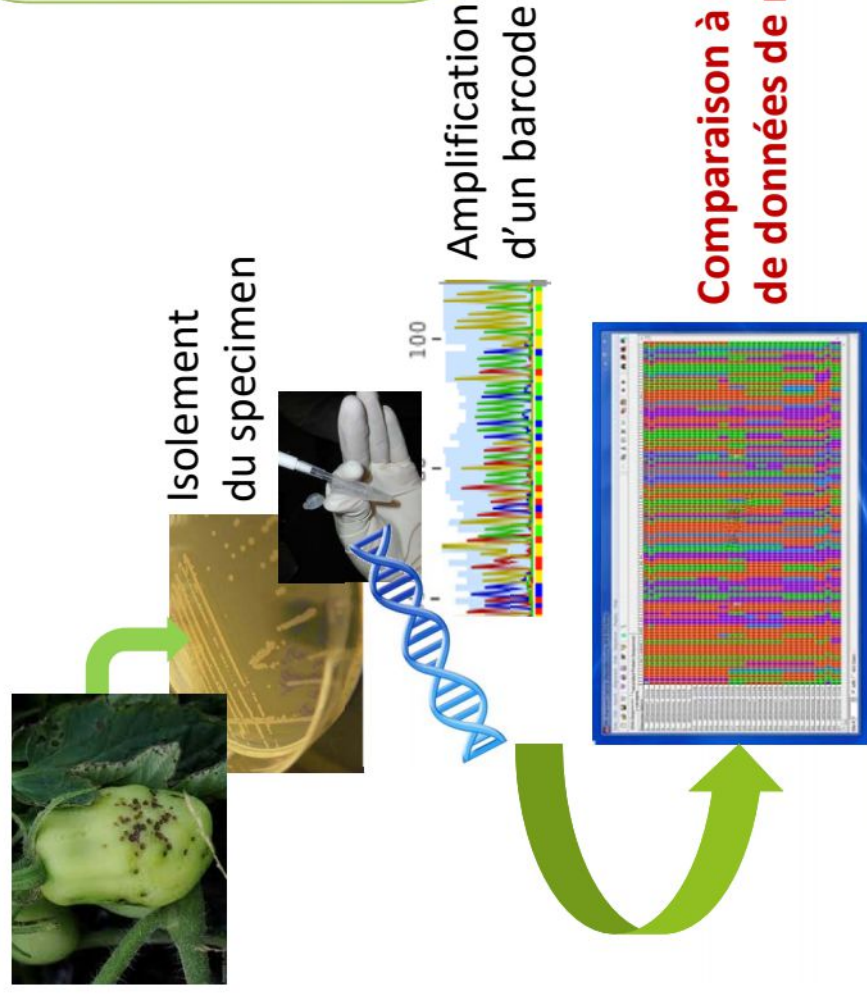
- fiable
- Unicité de la méthode valable pour tous les organismes
- Accès à l'expertise taxonomique par des non-spécialistes (bases de données)

Comparaison à une base de données de référence

Identification
= assigner le spécimen à un taxon
= **processus de comparaison**

Identification moléculaire ou barcoding

Besoin de bases de données de référence



Problèmes posés:

- Quel barcode choisir ?
- Quel est le niveau de résolution du barcode ?
- Bases de données publiques non curées
- Représentativité des bases ?

R-Syst : réseau de systématique de l'INRA




[Accueil](#)
<http://www.rsyst.inra.fr/>




[Contact](#)
[maintenance](#)

R-Syst
Réseau de Systématique, outil de caractérisation moléculaire et phénotypique d'organismes d'intérêts

[Virus](#)
[Bactéries](#)
[Micro-Algues](#)
[Plantes](#)
[Champignons](#)
[Nématodes](#)
[Insectes](#)
[Outils](#)

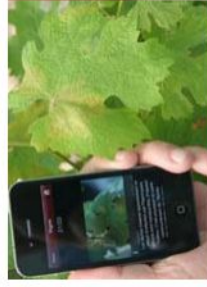
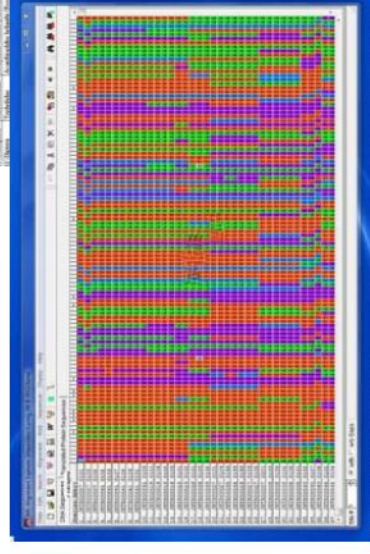
R-SYST est un réseau national regroupant une douzaine d'équipes de recherche (de deux départements INRA : SPE et EFPA) impliquées dans la caractérisation moléculaire et morphologique d'organismes. Ces équipes sont composées de techniciens, chercheurs et ingénieurs dans les domaines de la biologie moléculaire, génétique et bioinformatique.

Bases de données

Virus	Bactéries	Micro-Algues	Plantes	Champignons	Insectes
					

Objectif du projet :

création d'un outil intégratif de diagnostic

A screenshot of a data table with multiple columns and rows. The columns include identifiers like "ID", "Nom", "Famille", "Origine", and "Statut". The rows list various plant species and their associated data.

Interface web ou outils nomades
centrées filière-maladie

Bases de données
centrées spécimen

Par où commencer ?



La tomate et la vigne : modèles d'étude

Une grande diversité de maladies et ravageurs





La tomate et la vigne : modèles d'étude

Un panel de compétences en taxonomie des bioagresseurs

- Entomologie : CBGP (Montpellier)
- Nématologie: IGEPP (Rennes), ISA (Antibes)
- Mycologie: BIOGER (Grignon)
- Bactériologie: IRHS (Angers), BFP (Bordeaux)
- Virologie : BFP (Bordeaux)
- Bases de données, interfaces web, outils: SAVE (Bordeaux), BIOGECO (Bordeaux)

Coordinateurs du projet :

- Valérie Laval (BIOGER, Grignon)
- Jean-Claude Streito (CBGP, Montpellier)



La tomate et la vigne : modèles d'étude

Un panel de compétences en taxonomie des bioagresseurs

- Entomologie : CBGP (Montpellier)
- Nématologie: IGEPP (Rennes), ISA (Antibes)
- Mycologie: BIOGER (Grignon)
- **Bactériologie: IRHS (Angers)**, BFP (Bordeaux)
- Virologie : BFP (Bordeaux)
- Bases de données, interfaces web, outils: SAVE (Bordeaux), BIOGECO (Bordeaux)

Coordinateurs du projet :

- Valérie Laval (BIOGER, Grignon)
- Jean-Claude Streito (CBGP, Montpellier)

CIRM-CFBP: Collection Française de Bactéries associées aux Plantes

Une collection historique du centre INRA d'Angers

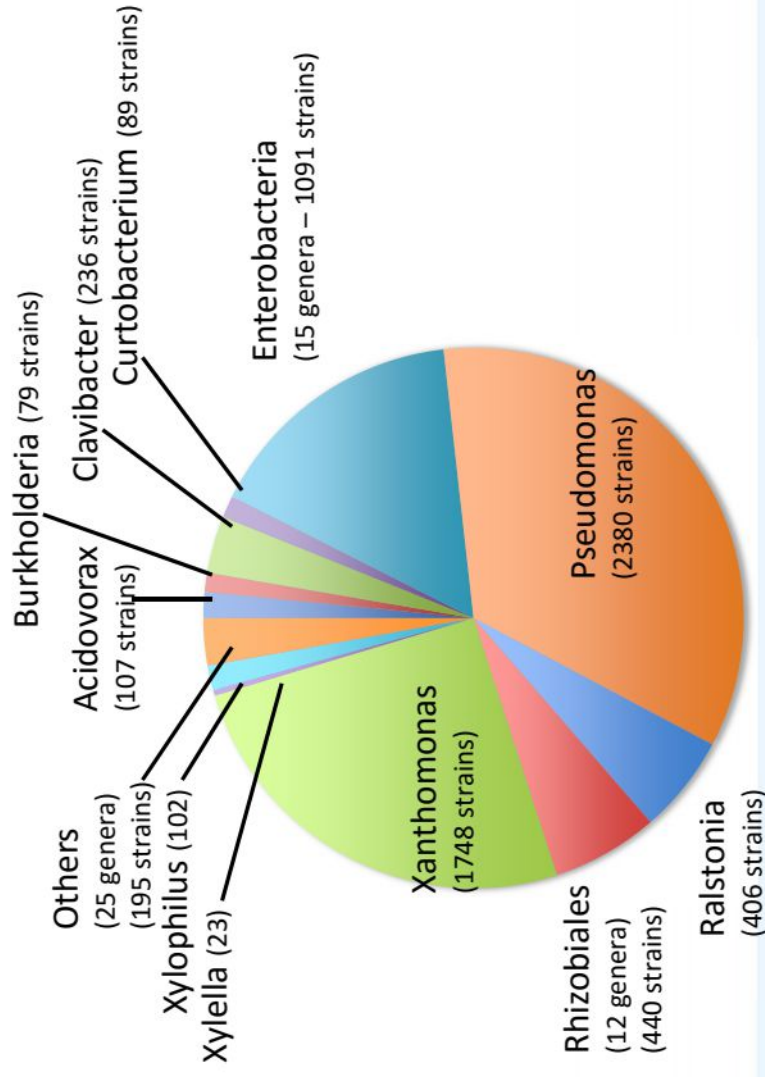


Centre de Ressources Biologiques



Cirm

CFBP - Bactéries associées aux plantes



63 genres
 6896 souches
 453 types or pathotypes
 > 450 taxa



Identification moléculaire des bactéries : constitution de bases de référence

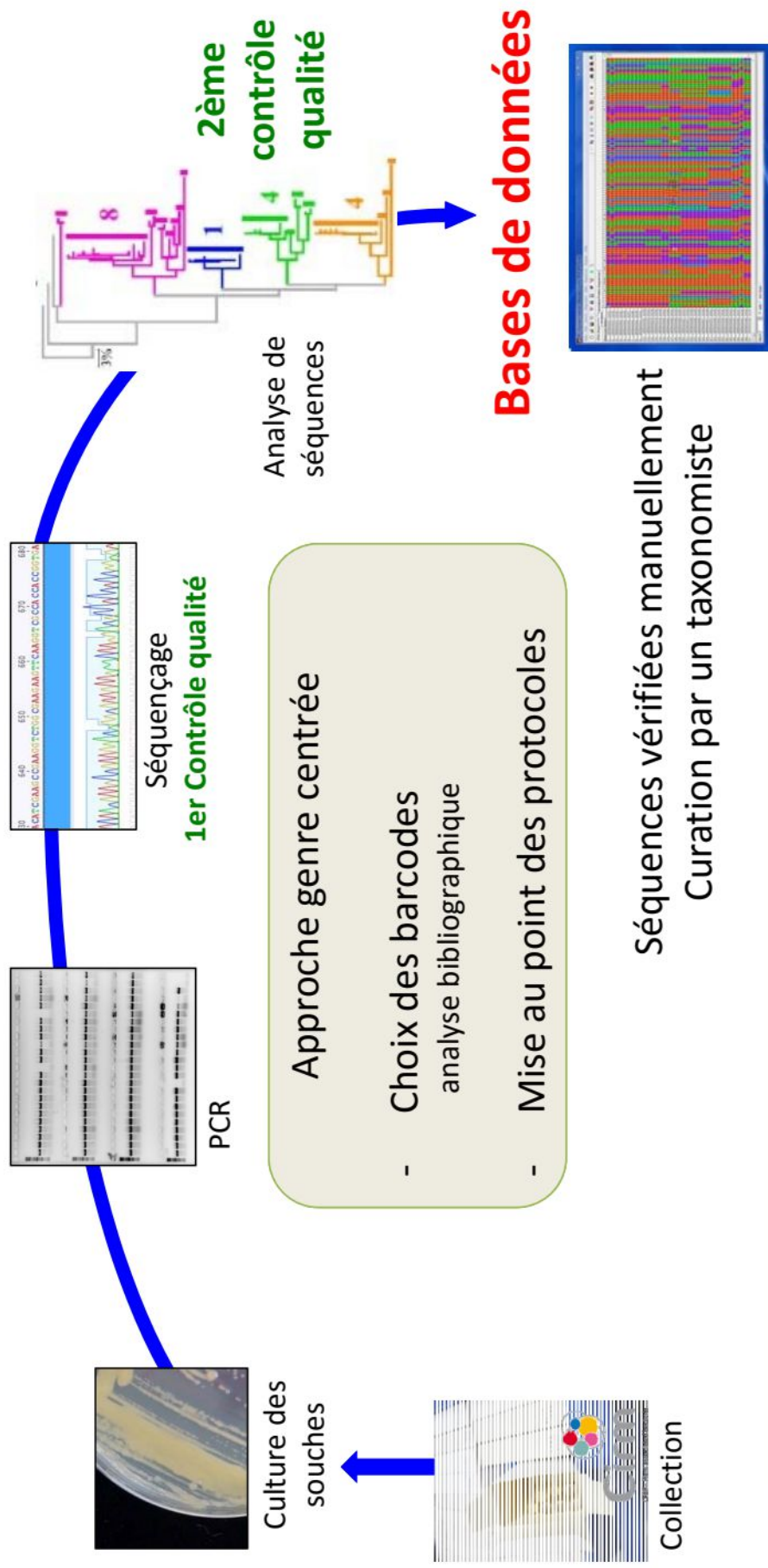


Méthode

Multilocus Sequence Analysis (MLSA) : **2 gènes de ménage**

Discrimination fine des espèces (voire des sous-espèces et pathovars)

2 gènes : tamponne le risque lié au transfert horizontal de gènes





Gènes choisis pour l'identification moléculaire

Genre	Gène	Reference	Nb souches pathogènes Tomatoe ou Vigne	Nb total souches
<i>Xanthomonas</i>	<i>gyrB</i>	Fischer-Le Saux et al., 2015	130	1700
	<i>rpoD</i>			
<i>Pseudomonas</i>	<i>gyrB</i>	Hwang et al., 2005	225	2400
	<i>rpoD</i>			
<i>Clavibacter</i>	<i>recA</i>	Jacques et al., 2012	175	230
	<i>gyrB</i>			
<i>Xylophilus</i>	<i>gyrB</i>	Bertrand & Portier 2015 (unpublished)	100	100
	<i>rpoD</i>			
<i>Ralstonia</i>	<i>leuS</i>	Wicker et al., 2012	90	400
	<i>mutS</i>	Prior & Fegan 2005		
<i>Agrobacterium /Rhizobium</i>	<i>recA</i>	Shams et al., 2013	115	380
	<i>rpoB</i>	Martens et al., 2008		

Ralstonia solanacearum divisées en 3 espèces

A phylogenetic tree showing the relationship between *R. solanacearum* and *R. pseudosolanacearum*. The tree is rooted at 100. The branch leading to *R. solanacearum* is marked with a green triangle and a bootstrap value of 96. The branch leading to *R. pseudosolanacearum* is marked with a red triangle and a bootstrap value of 96. The branch leading to *R. syzygii* is marked with a blue triangle and a bootstrap value of 94. A photograph of a plant with wilting and necrotic leaves is shown next to the tree.

- 

<http://catalogue-cfbp.inra.fr/recherche.php>



Intégration des données dans la base R-Syst::Bacteria



Séquences des barcodes
Métadonnées

nom taxonomique, hôte, lieu année d'isolement.



1^{er} dépôt:
Ralstonia (leuS, mutS)
Xanthomonas (gyrB, rpoD)
Xylophilus (gyrB, rpoD)

À venir
Clavibacter,
Agrobacterium/Rhizobium
Pseudomonas





Intégration des données dans la base R-Syst::Bacteria



Strain

Rsysid <http://www6.inra.fr/cirm/CFBP-Bacteries-associees-aux-Plantes>
Internal Lab Id CFBP 6924
Harvested hv Dinat R



Online catalogue



Search results

New search

Strain CFBP 6924

Ralstonia pseudosolanacearum race 1 StrainInfo Passport Genome on NCBI Genome on GOLD

Safni et al., 2014 sp. nov.

CFBP recommended (mulS, leuS)

Other collection accession numbers : CFBP6424

Other names : GMI1000

Isolated in 1968 by Digat B.

Isolated from *Lycopersicon esculentum* (plant de tomate flétri)

Geographic origin : Guyane Française Kourou

Strain transmitted to the collection in 2005 by Christian Boucher LIPM Toulouse (UR441 INRA)

CFBP strain name history : *Ralstonia solanacearum*

Remarks : Clone used for GMI1000 genome sequence

Quarantine Pest

New search

Betaproteobacteria Garrity et al. 2006 (class)

Burkholderiales Garrity et al. 2006 (order)



Mise en relation des interfaces web e-phytia et R-Syst



Pleosporales (Order)  
Pleosporaceae (Family)  



Aubergine

Alternaria alternata

Alternaria beringelae

Prunier d'Ente

Pourritures diverses sur fruits (moisissures appartenant aux genres Alternaria, Penicillium, Aspergillus, Rhizopus, ...)

Salades

Alternaria cichorii

Alternariose (Alternaria cichorii)

Spagnum

Alternaria subsp.

Tabac

Alternaria alternata

Alternariose (Alternaria alternata)

Tomate

Alternaria alternata et autres agents de pourritures noires des fruits

Alternaria alternata (et autres pourritures noires)

Alternaria tomatophila (alternariose)

Alternariose (Alternaria tomatophila)

Alternariose (Alternaria tomatophila)

Chancres à Alternaria (Alternaria alternata f. sp. lycopersici)

Tropi-Lég

Alternarioses (Alternaria spp.)

Vigne

Pourriture à Alternaria



Mise en relation des interfaces web e-phytia et R-Syst



> > > > Identifier les maladies et les ravageurs > Iomate > Connaître et maîtriser maladies et ravageurs >
Champignons et autres microorganismes > Champignons à pourritures sur fruits > *Alternaria alternata* (et autres
pourritures noires)



RECHERCHER



Alternaria alternata (et
autres pourritures noires)

Rhizopus stolonifer
(pourriture à *Rhizopus*)

Geotrichum candidum
(Pourriture aigre)

Penicillium spp.
(pourritures bleues)

Trichothecium roseum
(pourriture rose)

Protection des fruits



Alternaria alternata (Fr.) Keissl. 1912, et autres agents
de pourritures noires



Ephytia - tous droits réservés - 2017



Mentions légales Contact

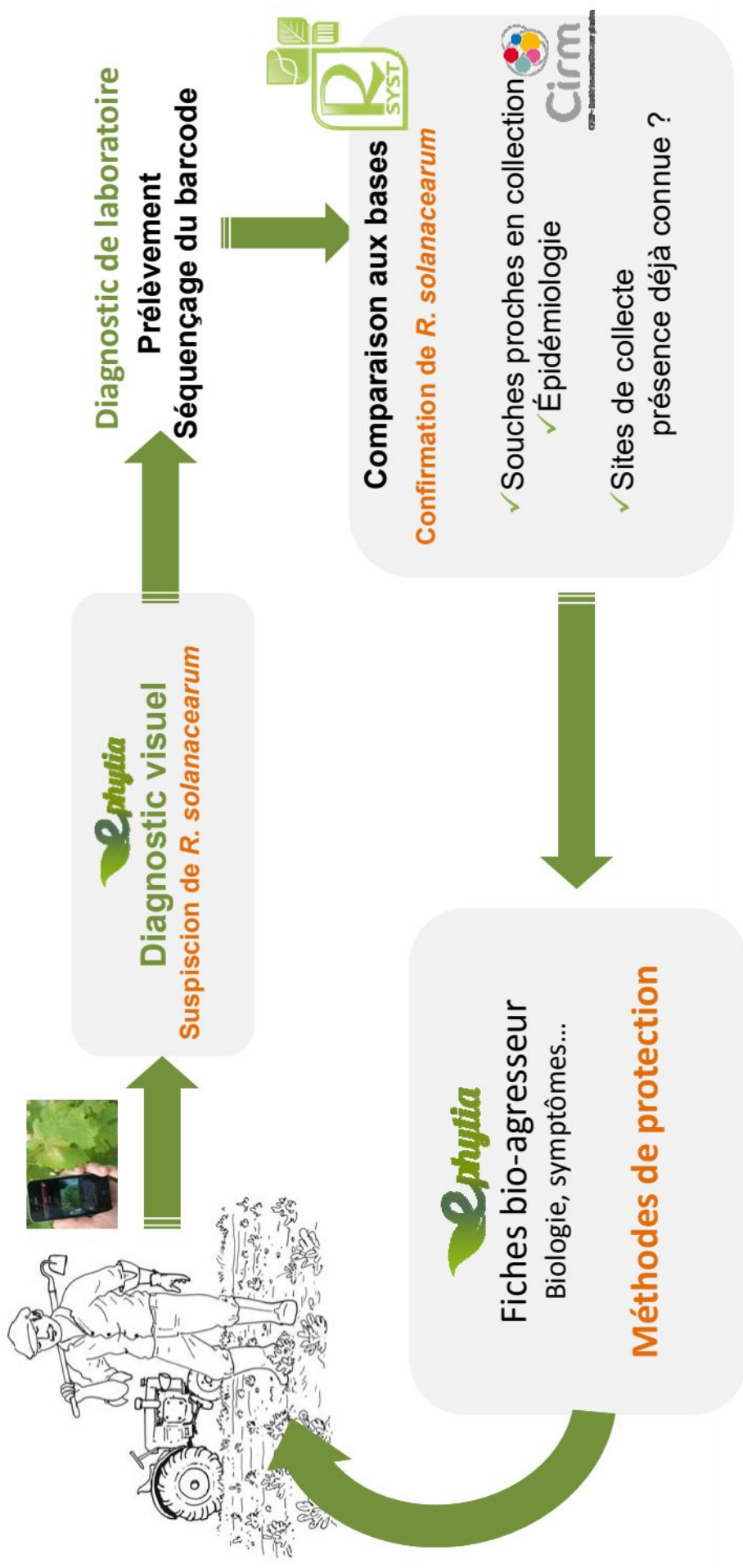


SCIENCE & INNOVATION



Marion Fischer-Le Saux, 16-17 janvier 2017

Un outil intégratif de diagnostic





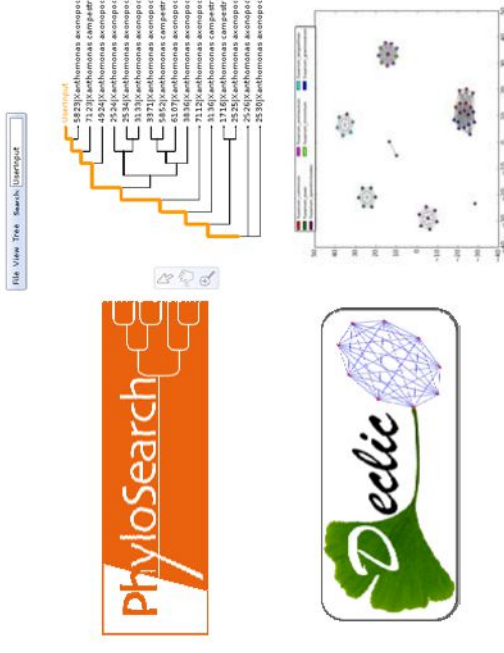
Conclusion et perspectives

Lycovitis = prototype

- Lien e-phytia vers R-Syst en construction
- Élargissement aux autres filières

Développement d'outils d'analyse

- Phylosearch <http://147.99.127.226/pub/cfbp/phylosearch3.0/>
- Declic (galaxy de l'INRA de Pierroton)



Des outils intégratifs dédiés à la santé du végétal en libre accès

- Diagnostic
- Métagénomique
- Ecologie

Evolution des outils

Agréer outil de diagnostic et épidémiosurveillance
Détection, signalement, suivi, anticipation



Remerciements



P. Portier, M. Briand, G. Taghouti, C. Dutrieux, A. Lathus
Stagiaires : Bertrand PE, Jacquel M, Floch K



V. Laval (BIOGER), JC Streito (CBGP)
P. Chaumeil, A. Franc (BIOGECO, Bordeaux)
D. Blancard et al. (SAVE, Bordeaux)
Et les autres équipes participantes

Métaprogramme SMACH, action Sys3D





Lycovitis



Cirm

CFBP - Diagnostic associatif aux plantes



Merci de votre attention !

<http://www.rsyst.inra.fr/>

<http://ephytia.inra.fr/fr/Home/index>

<http://www6.inra.fr/cirm/CFBP-Bacteries-associees-aux-Plantes>



Marion Fischer-Le Saux, 16-17 janvier 2017