



Priestia megaterium : un agent de biocontrôle contre les phytopathogènes Clavibacter michiganensis et Streptomyces spp.

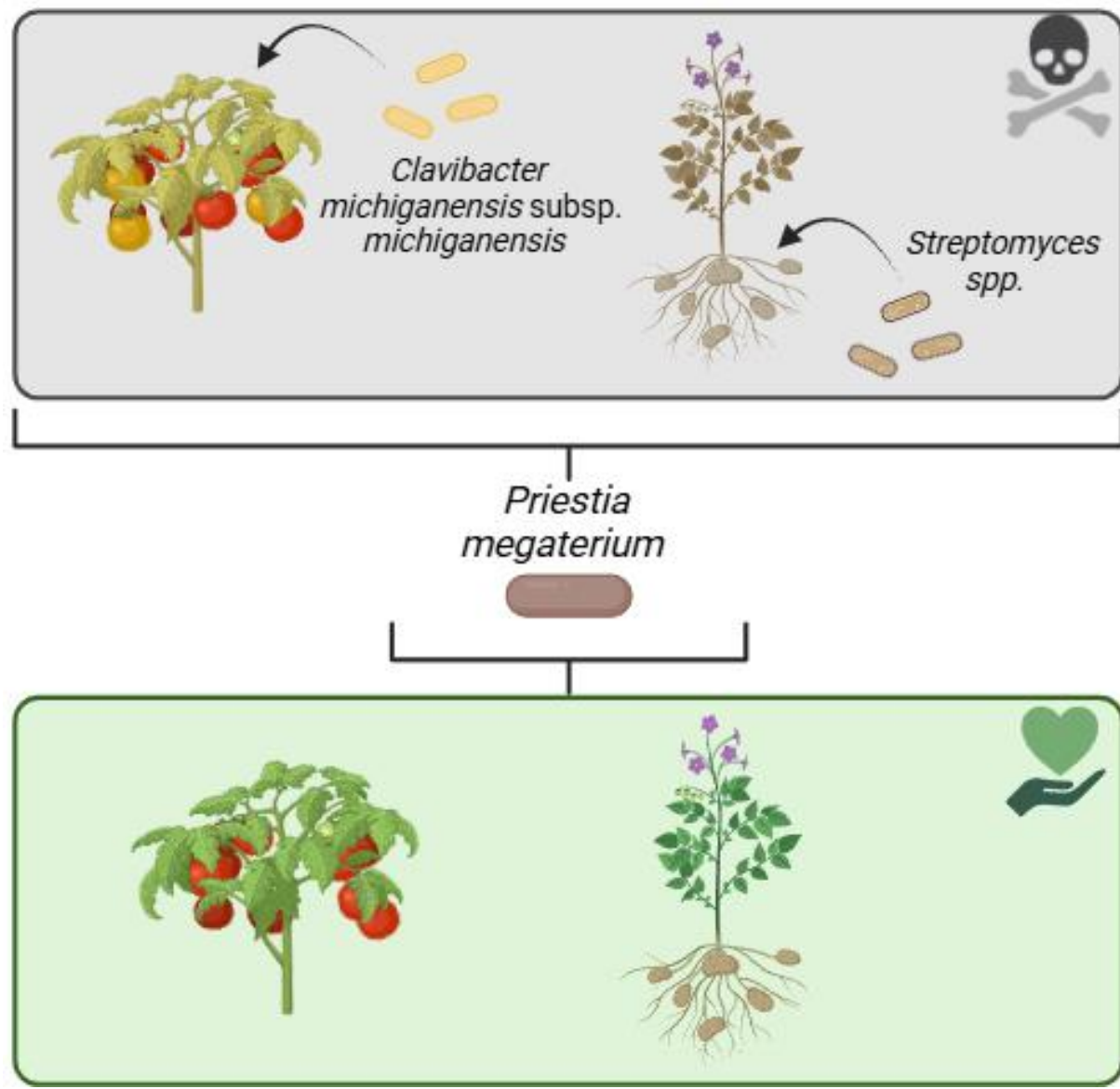


Audrey Bergeron¹, Karen Cristine Gonçalves dos Santos¹, Lauriane Giroux², Isabel Desgagné-Penix¹ et Hugo Germain¹
¹ Département de biochimie, chimie, physique et science forensique, Université du Québec à Trois-Rivières, Québec (Canada)
² Ulysse Biotech

Introduction

Les plantations agricoles sont susceptibles aux infections par différents pathogènes. Les agriculteurs ont recours à divers pesticides chimiques afin de contrer ces infections. Toutefois, l’utilisation intense de molécules chimiques, telles que les pesticides, cause un déséquilibre dans les écosystèmes. Une alternative à ces molécules est l’usage d’agents de biocontrôle bactériens. Comparativement aux pesticides, ces traitements ont un impact écologique moindre en préservant la flore microbienne du sol et son équilibre biochimique. *Priestia megaterium* a révélé une activité inhibitrice contre divers pathogènes, mais aucune activité n’a été rapportée contre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* et *Streptomyces spp*, lesquels infectent respectivement les plants de tomate et de la pomme de terre. Cette observation soulève la question suivante :

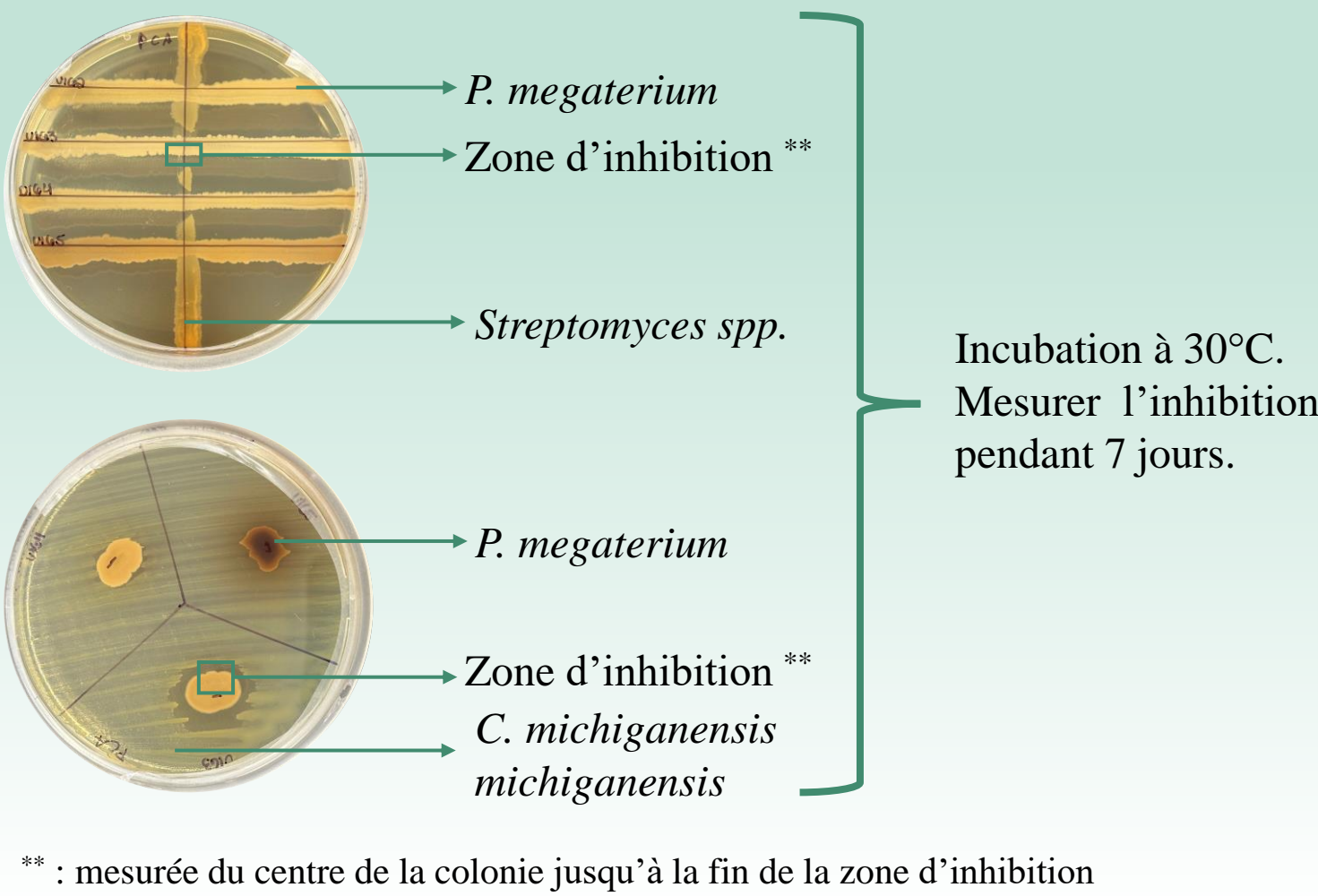
Quels éléments génétiques de *Priestia megaterium* confèrent sa bioactivité contre les phytopathogènes *C. michiganensis* *michiganensis* et *Streptomyces spp*?



Matériels et méthodes

Essais d’antagonisme : souches de *Priestia megaterium* à tester contre 2 souches * de *Clavibacter michiganensis* et 5 sous-espèces † de *Streptomyces*. Essais d’antagonisme basés sur le principe d’un antibiogramme.

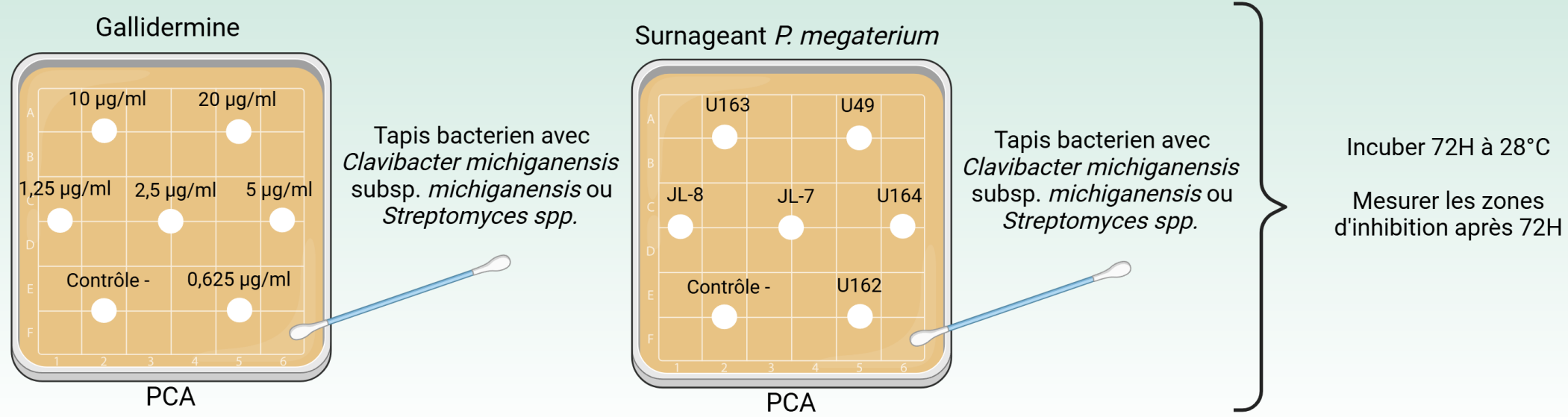
* *C. michiganensis* *michiganensis* C5 et MAPAQ1
† *S. scabies* 87-22, *S. scabies* EF-35, *S. turgidiscabies* #42, *S. turgidiscabies* Car8 et *S. acidiscabies* ATCC49003



Analyse génomique : (1) extraction d’ADN génomique de *P. megaterium* avec un kit commercial, (2) séquençage Illumina pair-end 250 pb à 100X, (3) assemblage des génomes des 14 souches de *P. megaterium* avec la fusion des résultats de 4 logiciels : ABySS, SPAdes, MaSuRCA et PATO. (4) Scaffolding réalisé avec progressiveMauve, permettant d’optimiser l’alignement. (5) Assemblage final des génomes dépendant de plusieurs logiciels. (6) Annotation des génomes réalisée avec Bakta et antiSMASH.

Antibiogramme :

Tester la gallidermine (famille des peptides « epidermin-like ») et le surnageant bactérien contre les phytopathogènes.



Résultats

Essais d’antagonisme :

Les profils antagonistes des 14 souches de *P. megaterium*

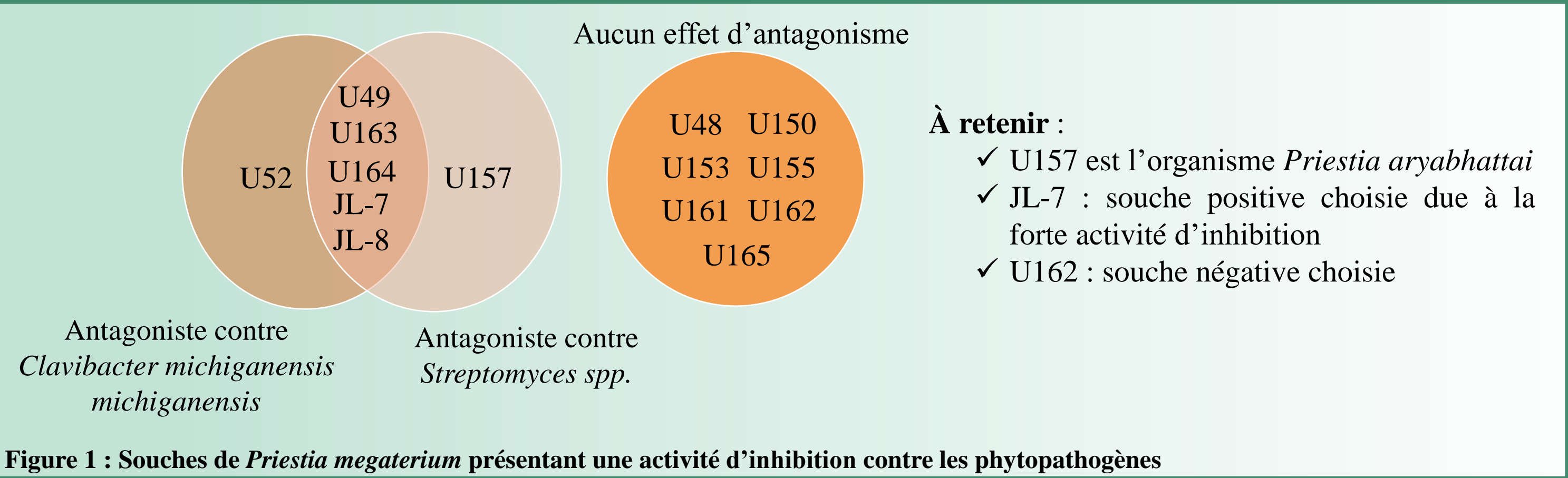


Figure 1 : Souches de *Priestia megaterium* présentant une activité d’inhibition contre les phytopathogènes

Analyse génomique :

Identification des lanthipeptides (peptide contenant la lanthionine) de classe I dans les souches antagonistes de *P. megaterium*, plus précisément la famille des peptides « epidermin-like ».

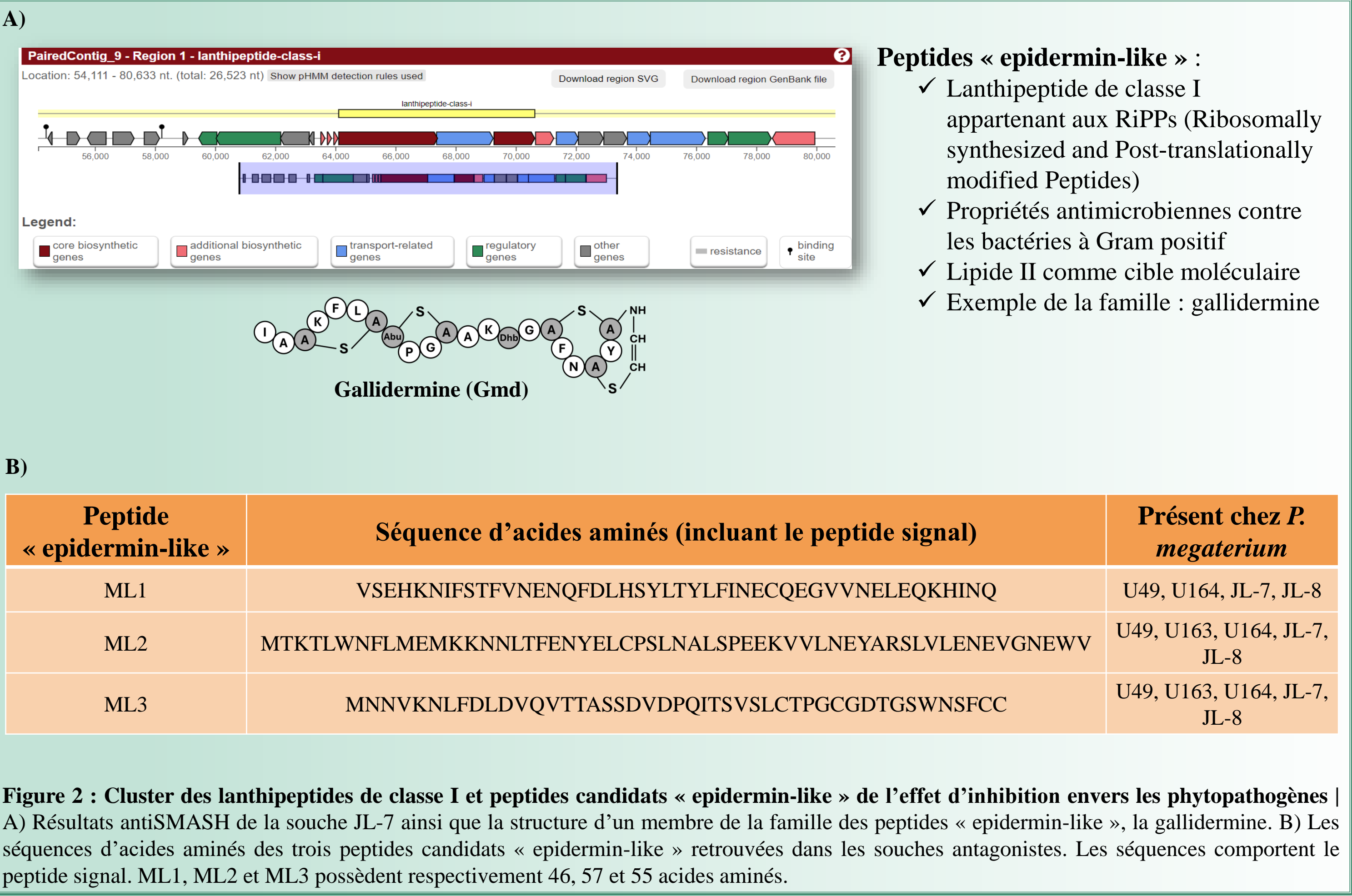
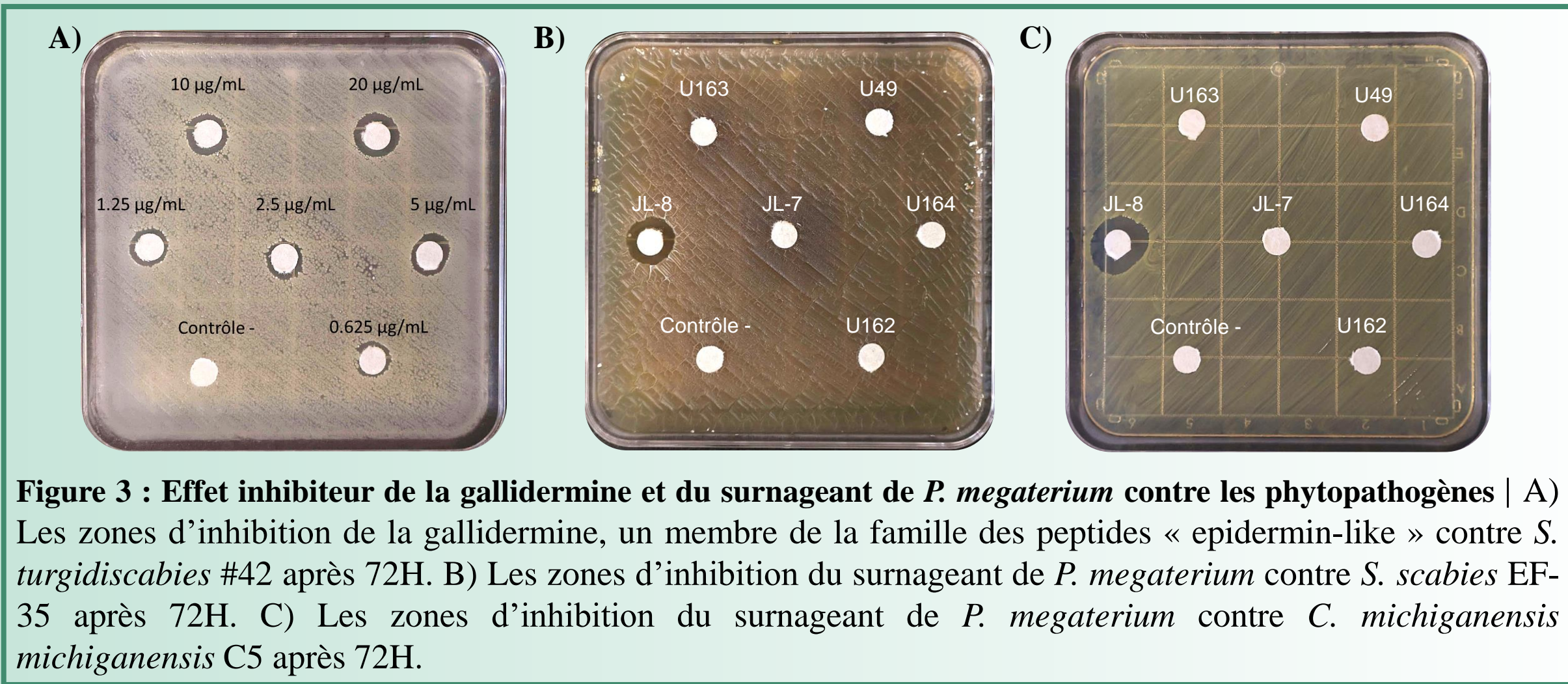


Figure 2 : Cluster des lanthipeptides de classe I et peptides candidats « epidermin-like » de l'effet d'inhibition envers les phytopathogènes | A) Résultats antiSMASH de la souche JL-7 ainsi que la structure d'un membre de la famille des peptides « epidermin-like », la gallidermine. B) Les séquences d'acides aminés des trois peptides candidats « epidermin-like » retrouvées dans les souches antagonistes. Les séquences comportent le peptide signal. ML1, ML2 et ML3 possèdent respectivement 46, 57 et 55 acides aminés.

Résultats

Antibiogramme :

Inhibition des phytopathogènes par la famille des peptides « epidermin-like »



Conclusions et perspectives

Conclusions : les essais d’antagonisme ont permis d’établir le profil antagoniste des 14 souches de *P. megaterium*, où 7 souches ont une activité d’inhibition contre *C. michiganensis michiganensis* et/ou *Streptomyces spp*. L’analyse génomique a permis d’identifier trois gènes candidats expliquant l’activité d’inhibition de *P. megaterium* : les gènes des peptides « epidermin-like ». Les lanthipeptides sont des RiPPs qui sont connus pour avoir des propriétés antimicrobiennes envers les bactéries à Gram positif.

Perspectives à court terme :

- ✓ Antibiogramme des surnageants de *P. megaterium* envers les phytopathogènes
- ✓ Vérifier le profil d’expression des gènes candidats (ML1, ML2 et ML3) par RT-PCR
- ✓ Knock-out des gènes candidats (ML1, ML2 et ML3) par transconjugaison

Perspectives à long terme :

- ✓ Détecter les peptides candidats (ML1, ML2 et ML3) dans les surnageants bactériens par spectrométrie de masse
- ✓ Essais *in planta* pour tester l’efficacité et la sensibilité de l’activité antimicrobienne de *P. megaterium*

Références

Akgül, D. et Mirik, M. (2008). Biocontrol of Phytophthora capsici on pepper plants by Bacillus megaterium strains. *Journal of Plant Pathology*, 29-34.
Li, Q., Hou, Z., Zhou, D., Jia, M., Lu, S. et Yu, J. (2022). A plant growth-promoting bacteria Priestia megaterium JR48 induces plant resistance to the crucifer black rot via a salicylic acid-dependent signaling pathway [Original Research]. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1046181>
Asaduzzaman, S. M. et Sonomoto, K. (2009). Lantibiotics: diverse activities and unique modes of action. *J Biosci Bioeng*, 107(5), 475-487. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.01.003>
Barbosa, J., Caetano, T. et Mendo, S. (2015). Class I and Class II Lanthipeptides Produced by Bacillus spp. *J Nat Prod*, 78(11), 2850-2866. <https://doi.org/10.1021/np500424y>
Oitenwälder, B., Kupke, T., Brecht, S., Gnau, V., Metzger, J., Jung, G. et Götz, F. (1995). Isolation and characterization of genetically engineered gallidermin and epidermin analogs. *Appl Environ Microbiol*, 61(11), 3894-3903. <https://doi.org/10.1128/aem.61.11.3894-3903.1995>
Repka, L. M., Chekan, J. R., Nair, S. K. et van der Donk, W. A. (2017). Mechanistic Understanding of Lanthipeptide Biosynthetic Enzymes. *Chemical Reviews*, 117(8), 5457-5520. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00591>
Viel, J., Jaarsma, A. et Kuipers, O. (2021). Heterologous Expression of Mersacidin in Escherichia coli Elucidates the Mode of Leader Processing. *ACS Synthetic Biology*. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.0c00601>

Remerciements

- Ulysse Biotech : Claire Letanneur, François Gagné-Bourque et Yves Hurtubise
- Groupe de recherche en biologie végétale (GRBV) Québec, Canada

- Consortium de recherche et innovations en bioprocédés industriels au Québec (CRIBIQ)
- Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG, Bourse BRPC)

