



Caractérisation moléculaire du microbiome bactérien associé aux nématodes entomopathogènes

Jean-Claude Ogier, Sylvie Pages, Olivier Thaler, Marie Frayssinet, Estelle Jumas-Bilak, Kevin Esteves, Alain Givaudan, Patrick Tailliez, Sophie Gaudriault

► To cite this version:

Jean-Claude Ogier, Sylvie Pages, Olivier Thaler, Marie Frayssinet, Estelle Jumas-Bilak, et al.. Caractérisation moléculaire du microbiome bactérien associé aux nématodes entomopathogènes. 2. Colloque de Génomique Environnementale (GE), Nov 2013, Rennes, France. 2013. hal-01219031

HAL Id: hal-01219031

<https://hal.science/hal-01219031>

Submitted on 19 Nov 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

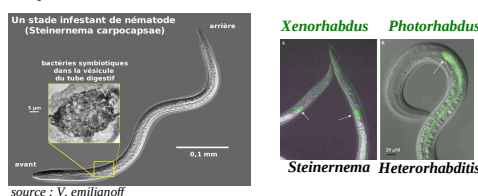
Jean-Claude Ogier¹, Sylvie Pages¹, Olivier Thaler¹, Marie Frayssinet¹, Estelle Jumas-Bilak², Kevin Esteves², Alain Givaudan¹, Patrick Tailliez¹ et Sophie Gaudriault¹

¹ UMR 1333 INRA-UM2 DGIMI, Université Montpellier 2, cc054, 34095 Montpellier cedex 05, France ; ² UMR 5119 Ecosym, Université Montpellier 1, Faculté de Pharmacie, 34093 Montpellier Cedex 5, France

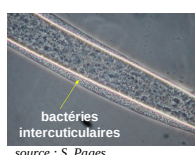
Les nématodes entomopathogènes (NEPs) des genres *Heterorhabditis* et *Steinernema* sont des pathogènes d'insectes des sols et sont commercialisés comme bio-insecticides pour lutter contre certains ravageurs de culture. Les nématodes sont associés à des bactéries des genres *Xenorhabdus* et *Photorhabdus*, formant une symbiose très spécifique. Le cycle biologique des NEPs se décompose en 2 phases :

- **une phase libre, dans les sols** : les stades larvaires libres du nématode (L3 ou IJs) transportent leurs bactéries symbiotiques dans le tube digestif. Deux études (1, 2) ont également révélé la présence dans les IJs de bactéries appartenant à des genres très variés.
- **une phase parasitaire, dans l'insecte** : après pénétration dans l'insecte, les nématodes libèrent leurs bactéries dans l'hémolymphe de l'insecte. Les bactéries se multiplient et sécrètent des toxines qui inhibent le système immunitaire de l'insecte, et provoquent la mort de l'insecte en 48h. Les nématodes se nourrissent du cadavre de l'insecte et des bactéries, ils se reproduisent pendant 2-3 générations. Lorsque les ressources du cadavre d'insecte sont épuisées, les nématodes ressortent de la larve avec quelques bactéries dans leur tube digestif, et regagnent le sol à la recherche de nouveaux hôtes insectes.

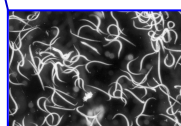
Les symbiontes associés aux IJs sont des entérobactéries



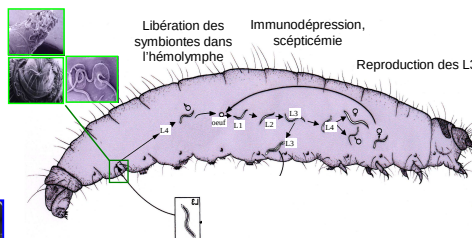
D'autres bactéries non symbiotiques sont localisées entre les 2 cuticules des IJs



pénétration des IJs dans l'insecte



IJs à la recherche d'insectes



Cycle biologiques des NEPs



Transmission maternelle des symbiontes
Sortie des L3 après épuisement des ressources nutritives

flore bactérienne dans le cadavre (origine = intestin, sol, NEP?)

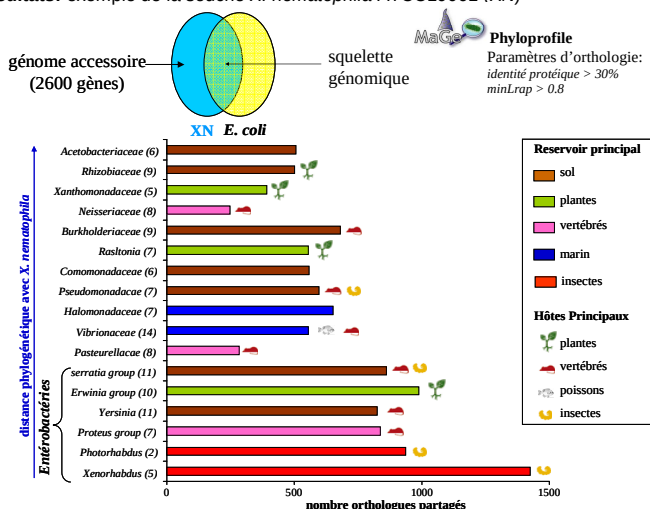


Objectifs : Si le rôle joué par les symbiontes lors du processus infectieux est bien documenté, peu de choses sont connues sur l'écosystème bactérien associé aux nématodes et sur son rôle éventuel dans le cycle biologique des NEPs. Dans un premier temps, l'analyse de la distribution des gènes du génome accessoire des symbiontes (une dizaine de génomes entiers sont séquencés) permettra de déterminer l'importance des flux de gènes (transferts horizontaux) qui peuvent avoir lieu au sein de la niche écologique insecte et nématode. Dans un 2^{ème} temps, nous nous intéresserons à la caractérisation fine du microbiome bactérien associé aux nématodes.

ANALYSE DE LA DISTRIBUTION DU GENOME ACCESSOIRE DE XENORHABDUS PAR GENOMIQUE COMPARATIVE

Matériel & méthodes : nous avons utilisé l'outil **Phyloprofile** (<https://www.genoscope.cns.fr/agc/mage/>) pour rechercher les gènes du génome accessoire chez *Xenorhabdus* (après soustraction des gènes partagés avec *E. coli* K12) et analyser leur distribution parmi les génomes bactériens disponibles.

Résultats: exemple de la souche *X. nematophila* ATCC19061 (XN)



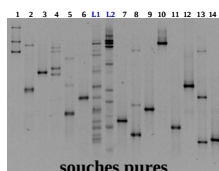
- ✓ Nombreux gènes partagés avec des bactéries de l'environnement (sol et plantes), suggérant des transferts génétiques horizontaux fréquents.
- ✓ **Question :** dans quelle niche écologique et avec quelles bactéries ont lieu ces transferts (insecte, nématode)? Pour répondre à cette question, nous allons caractériser la flore bactérienne associée aux NEPs.

ANALYSE DE LA DIVERSITE DE LA FLORE BACTERIENNE ASSOCIEE AUX NEPs PAR PCR-TTGE (région V3 de l'ADNr 16S)

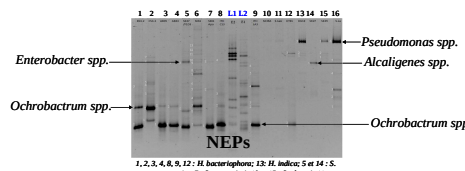
Matériel & méthodes :

1. **Isolement des bactéries**
2. **extraction d'ADNg total**
3. **amplification de la région discriminante (région V3)**
4. **séparation des espèces sur gel TTGE**
5. **identification des espèces par assignation et/ou séquençage des bandes**

Résultats:



souches pures



Quelques souches présentent plusieurs bandes (hétérogénéité de l'ADNr 16S). Par la suite, nous ciblerons le gène *rpoB*.

Présence d'une flore complexe associée aux NEPs (1 à 13 bandes). Quelques flores majoritaires qui ne sont pas les symbiontes sont détectées : *Ochrobactrum spp.* et *Pseudomonas spp.* Nous avons montré que ces bactéries de l'environnement partagent de nombreux gènes avec *Xenorhabdus*.

Conclusions & Perspectives: Ces résultats préliminaires confirment la présence d'une flore microbienne diverse associée aux NEPs, avec quelques groupes bactériens retrouvés plus fréquemment, comme par exemple *Ochrobactrum spp.* ou *Pseudomonas spp.* A moyen terme, il s'agira de développer des approches de séquençage à haut débit pour identifier en profondeur ce microbiome. A plus long terme, ce projet permettra de caractériser le pathobiome des nématodes entomopathogènes et le rôle de l'holobionte (macroorganisme et son cortège de microorganismes) dans le processus infectieux des NEPs.

References :

- (1) Gough DH & Snyder JL (2006). Temporal association of entomopathogenic nematodes (Rhabditidae: Steinernematidae and Heterorhabditidae) and bacteria. J. Invertebrate Pathology 91: 147-157
- (2) Babic I, Fischer-Le Saux M, Giraud E, Boemare N (2000). Occurrence of natural dioxenic associations between the symbiont *Photorhabdus luminescens* and bacteria related to *Ochrobactrum spp.* in tropical entomopathogenic *Heterorhabditis spp.* (Nematoda, Rhabditidae). Microbiology 146:709-718.