



HAL
open science

Diversité et diversification des Pectobacteriaceae, une famille de bactéries phytopathogènes d'importance mondiale

Céline Brochier, Nicole Hugouvieux-Cotte-Pattat, Jean-Pierre Flandrois, Sylvie Reverchon, Jérôme Briolay

► To cite this version:

Céline Brochier, Nicole Hugouvieux-Cotte-Pattat, Jean-Pierre Flandrois, Sylvie Reverchon, Jérôme Briolay. Diversité et diversification des Pectobacteriaceae, une famille de bactéries phytopathogènes d'importance mondiale. Cahiers Scientifiques de la Fondation Pierre Vérots, 2024, 10, pp.19-29. hal-04695948

HAL Id: hal-04695948

<https://hal.science/hal-04695948>

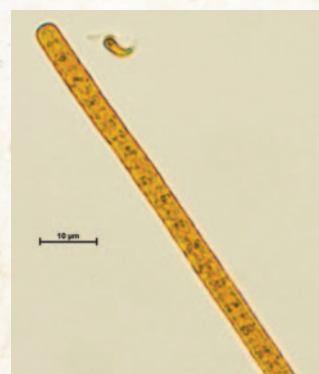
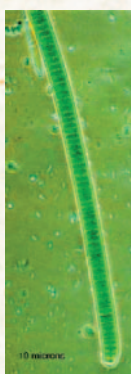
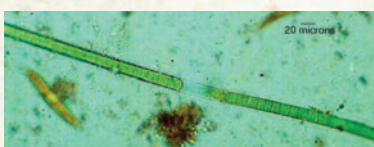
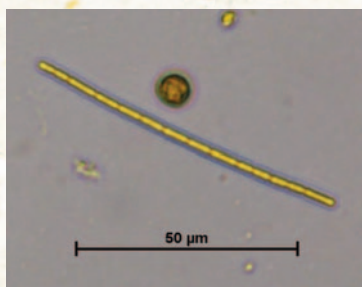
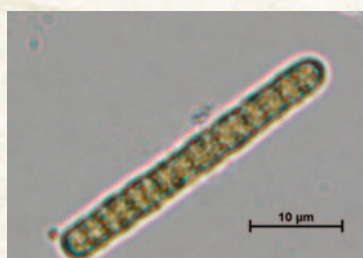
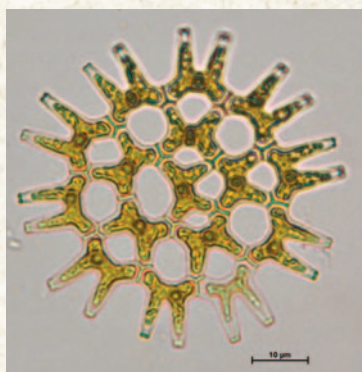
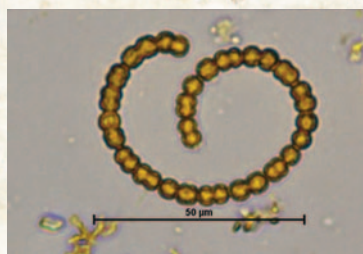
Submitted on 13 Sep 2024

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.

Public Domain

LES CAHIERS SCIENTIFIQUES de la Fondation Pierre Vérots

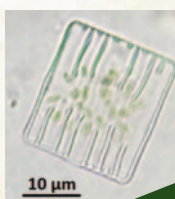


Page 3 : Les cyanobactéries benthiques

Sylvain Dolédec & Joël Robin

Page 19 : Diversité et diversification des *Pectobacteriaceae*

Céline Brochier
& Nicole Cotte-Pattat



FONDATION
PIERRE
VÉROTS



Pour l'étude et la préservation de
la faune et de la flore de la Dombes

FONDATION
PIERRE
VÉROTS



*Pour l'étude et la préservation de
la faune et de la flore de la Dombes*

La Fondation Pierre Vérots

La **Fondation Pierre Vérots** a été créée en 1982 et a été reconnue d'utilité publique par décret ministériel en 1984. Elle est née de la volonté d'un industriel lyonnais, Monsieur Pierre Vérots (1898-1985), de protéger la faune et la flore de la Dombes. Située à Saint-Jean-de-Thurigneux, dans le département de l'Ain, elle possède un domaine de plus de 300 ha composé de forêts, d'étangs et de prairies, dont un parc clôturé de 147 ha.

La Fondation Pierre Vérots s'est donné 3 missions inscrites dans ses statuts :

- Faire de son domaine un conservatoire de la faune, de la flore et des milieux dombistes
- Contribuer à la recherche scientifique sur ces espèces et ces milieux
- Participer à l'information du public.

La Fondation examine les demandes de financement qui portent en partie ou en totalité sur l'écologie, la biologie, l'éthologie, la génétique, la climatologie, elle missionne des chercheurs pour établir des relevés et se propose de publier les résultats obtenus sous une forme diffusable.

La Fondation offre un véritable laboratoire à ciel ouvert, permettant d'observer et d'expérimenter librement, sur des temps longs et avec peu de perturbations. Elle apporte aux chercheurs, stagiaires et visiteurs un soutien logistique (terrain, équipements, locaux d'expérimentation), éventuellement un soutien financier, et des possibilités d'hébergement.

Son statut de « Fondation d'utilité publique » l'autorise à recevoir toutes formes de dons ouvrant droit à une réduction d'impôt, et de legs en exonération totale de droits de succession.

Les Cahiers Scientifiques de la Fondation Pierre Vérots n°10 - Juillet 2024

N° ISSN 2739-7750

Responsable de la publication : Philippe NORMAND
Comité de Rédaction : Michel BOULÉTREAU, Joël BROYER, Philippe LEBRETON,
Philippe NORMAND et Philippe RICHOUX
Traductions : Philippe NORMAND

Photos de couverture : Différentes espèces de cyanobactéries observées sous microscope (Photos : J. Robin/ISARA)
et bloom de cyanobactéries en rivière (Photo : C. Robichon)

Réalisation et impression : Multitude Imprimerie - 01600 Trévoux



Fondation Pierre Vérots
261, chemin de Praillebard
01390 Saint Jean de Thurigneux

Tél. : 04 74 00 89 33
Mail : contact@fondation-pierre-verots.fr
www.fondation-pierre-verots.fr

Diversité et diversification des *Pectobacteriaceae*, une famille de bactéries phytopathogènes d'importance mondiale

Responsables scientifiques :
Céline Brochier¹ & Nicole Cotte-Pattat²

Autres participants :
Jean-Pierre Flandrois¹, Sylvie Reverchon², Jérôme Briolay³

¹ Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, VetAgro Sup, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, UMR5558, F-69622, Villeurbanne, France

² INSA Lyon, Laboratoire Microbiologie, Adaptation, Pathogénie (MAP) - UMR 5240

³ Université Claude Bernard Lyon 1, Plateforme Développement de Techniques et Analyse Moléculaire de la Biodiversité

Auteur correspondant : celine.brochier-armanet@univ-lyon1.fr

Résumé

Les bactéries de la famille des *Pectobacteriaceae* comprennent des pathogènes de plantes majeurs provoquant la pourriture des végétaux infectés. Ce symptôme est dû à la production massive de pectinases capables de dégrader la pectine des parois végétales, un composé majeur pour la structuration des végétaux. Au sein des *Pectobacteriaceae*, le genre *Dickeya* est particulièrement étudié car il cause d'importantes pertes agricoles au niveau mondial sur des cultures essentielles à l'alimentation humaine, comme la pomme de terre, le maïs ou le riz.

Bien que la plupart des espèces de *Dickeya* aient été isolées à partir de végétaux infectés, certaines l'ont été à partir d'échantillons environnementaux liés aux milieux aquatiques. Malgré cela, les connaissances actuelles sur les *Dickeya* proviennent majoritairement de l'étude des espèces pathogènes, négligeant ainsi la biodiversité réelle de ces bactéries. Il y a quelques années, nous avons initié une analyse des souches issues des environnements aquatiques afin de caractériser ces bactéries et de mieux comprendre leur physiologie, leur écologie, leur évolution et leurs liens avec les espèces pathogènes. L'analyse d'échantillons d'eau provenant d'étangs de la Fondation Pierre Vérots (convention n°04-CE-05/2017) a ainsi permis d'isoler de nombreuses souches dont une nouvelle espèce aquatique, nommée *Dickeya lacustris*. Par ailleurs, nos travaux suggèrent que les espèces aquatiques sont les premières à avoir divergé au sein du genre *Dickeya* et que les souches pathogènes pourraient dériver d'espèces aquatiques.

Notre objectif est maintenant de réaliser une étude approfondie des premières étapes de la diversification des *Dickeya*, avec une attention particulière pour les espèces aquatiques, *D. aquatica* et *D. lacustris*. Les données génomiques sur ces espèces étant très limitées, nous avons entrepris de séquencer le génome de six souches (trois de chaque espèce) isolées sur le site de la Fondation Pierre Vérots. Ces nouvelles données, combinées à l'analyse de génomes de genres proches, contribueront à retracer l'histoire évolutive de la famille des *Pectobacteriaceae* et fourniront des informations sur leurs capacités d'adaptation, notamment en ce qui concerne leur pouvoir pathogène et leur écologie.

INTRODUCTION

Chez les bactéries, l'ordre des *Enterobacterales* est subdivisé en neuf familles : les *Budviciaceae*, les *Enterobacteriaceae*, les *Erwiniaceae*, les *Hafniaceae*, les *Morganellaceae*, les *Pectobacteriaceae*, les *Thorselliaceae*, les *Yersiniaceae*, et les *Bruguierivoracaceae* (cette dernière n'étant pas encore officiellement reconnue). Parmi elles, les *Pectobacteriaceae* font l'objet de beaucoup d'attention car elles regroupent des pathogènes de plantes majeurs caractérisés par une production massive de pectinases capables de dégrader la pectine des parois végétales et provoquant un symptôme de pourriture (Fig. 1). Au sein des *Pectobacteriaceae*, le genre *Dickeya* est particulièrement étudié car il s'attaque à une grande variété de cultures vivrières (dont la pomme de terre, le maïs et le riz) et de plantes ornementales et cause d'importantes pertes économiques au niveau mondial (Hugouvieux-Cotte-Pattat et al., 2020). Cependant, des

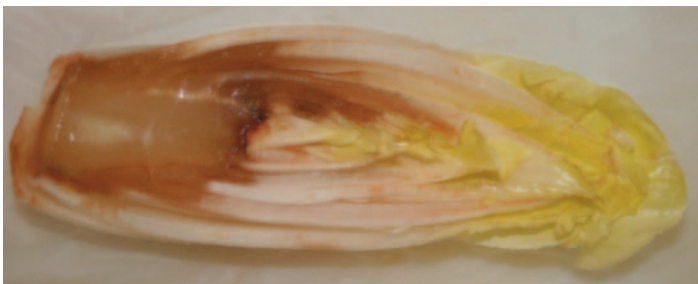


Figure 1 : Macération provoquée par *Dickeya dadantii* sur endive.

souches de *Dickeya* ont aussi été identifiées dans des environnements aquatiques comme les rivières et, grâce aux travaux précédemment réalisés sur le site de la Fondation Pierre Vérots, nous avons pu également mettre en évidence leur présence dans des étangs (convention n°04-CE-05/2017).

En particulier, en 2019, nous avons décrit une nouvelle espèce, *Dickeya lacustris*, provenant d'étangs du domaine de Praillebard (Hugouvieux-Cotte-Pattat et al., 2019) (Fig. 2), portant à douze le nombre d'espèces de *Dickeya* formellement reconnues (*D. aquatica*, *D. chrysanthemi*, *D. dadantii*, *D. dianthicola*, *D. fangzhongdai*, *D. lacustris*, *D. oryzae*, *D. parazeae*, *D. poaceiphila*, *D. solani*, *D. undicola* et *D. zea*), dont trois sont des espèces aquatiques (*D. lacustris*, *D. aquatica* et *D. undicola*). *D. lacustris* s'est révélée proche de *D. aquatica* isolée à partir d'eaux de rivière. Cette dernière, décrite en 2014, n'avait jusqu'alors été trouvée qu'en Angleterre et Finlande (Parkinson et al., 2014). Nos travaux suggèrent que les espèces aquatiques seraient les premières à avoir divergé au sein des *Dickeya* et que, contrairement à ce qui était supposé, ces bactéries possèdent un potentiel pathogène (Duprey et al., 2019). Ils ont également permis de mieux cerner l'origine évolutive des *Dickeya* en identifiant ses plus proches « cousins ». Ainsi, nous avons révélé l'existence d'une nouvelle lignée de *Pectobacteriaceae* isolées à partir d'environnements



Figure 2 : Un des étangs du site de Praillebard dans lequel les souches de *Dickeya* de cette étude ont été isolées.

aquatiques, appelée provisoirement *Prodigiosinella* et qui représente probablement un nouveau genre très proche des *Dickeya* (Duprey et al., 2019). Plus récemment, de nouvelles investigations nous ont permis de différencier le genre *Musicola* qui regroupe actuellement deux espèces : *Musicola paradisiaca* et *Musicola keenii*, autrefois considérées comme des *Dickeya* (Hugouvieux-Cotte-Pattat et al., 2021). Les deux genres *Musicola* et *Prodigiosinella* représentent des lignées « cousines » des *Dickeya* au sein des *Pectobacteriaceae* et des clés pour retracer les étapes qui ont conduit à l'émergence des *Dickeya*.

Notre objectif est maintenant de comprendre les premières étapes de leur diversification, avec un intérêt particulier pour les espèces aquatiques *D. aquatica* et *D. lacustris*. Pour pouvoir aborder ces questions il est essentiel de disposer de données biologiques et génomiques fiables. Or, au moment où le projet a débuté, très peu de souches aquatiques de *Dickeya* avaient été décrites et séquencées. Nous nous sommes donc fixés comme premier objectif de compléter les données génomiques présentes dans les banques de données publiques en

séquençant le génome de six souches isolées du site de Praillebard, trois de *D. aquatica* (souches JDA74, IS80 et IS92) et trois de *D. lacustris* (S29, J114b et A14). En parallèle, nous avons entrepris une caractérisation phénotypique de ces souches. Ce travail a été complété par le séquençage de souches du genre *Prodigiosinella*, pour lequel un seul génome avait été séquencé. L'analyse des génomes obtenus fournira des informations précieuses sur leurs phénotypes, notamment en ce qui concerne la capacité infectieuse et l'écologie des *Dickeya* aquatiques. Leur comparaison avec les souches pathogènes déjà décrites et séquencées permettra de reconstituer le contenu en gènes des génomes des ancêtres des *Dickeya* et d'identifier les événements évolutifs ayant accompagné les premières étapes de la diversification de ce genre. Ces résultats devraient éclairer l'histoire évolutive des *Dickeya*, et ainsi permettre de mieux comprendre leur rôle dans l'environnement et le passage d'un mode de vie libre dans l'environnement à celui de pathogène spécialisé.

Souches et conditions de culture

Les souches sélectionnées (*D. aquatica* JDA74, IS80 et IS92 et *D. lacustris* S29, S24 et J114) sont décrites dans la [Table 1](#). La souche 3937 de *Dickeya dadantii* a été utilisée comme témoin dans la plupart des analyses. Les cultures de ces souches ont été réalisées à 30°C en milieu riche LB ou minimum M63, contenant 15 g/L de gélose pour les milieux solides.

Analyse phénotypique des souches de *Dickeya*)

La production d'enzymes extracellulaires est analysée par mesure des activités pectinase, cellulase et protéase sur des milieux spécifiques ([Fig. 3](#)). La sécrétion de pectinases est mise en évidence après 24 h de croissance sur des boîtes de Petri contenant du milieu M63 additionné de glycérol (2 g/L) et de polygalacturonate (4 g/L). Après inondation des boîtes quelques secondes avec une solution saturée d'acétate de cuivre, une zone claire apparaît

autour des colonies capables de dégrader le polygalacturonate. La sécrétion de cellulases est détectée après 24h de croissance sur des boîtes de Petri contenant du milieu M63 additionné de glycérol (2 g/L) et de carboxy-méthylcellulose (10 g/L). Après inondation 10 min avec une solution de rouge congo (5 g/L) et lavage 5 min avec une solution de NaCl 1 M, des zones claires apparaissent autour des colonies capables de dégrader la cellulose. La sécrétion de protéase est visualisée sur des boîtes de milieu LB contenant du lait écrémé en poudre (6,25 g/L). Dans chaque cas, le diamètre des zones claires entourant les colonies est mesuré après incubation de 24 h.

Pour mesurer la motilité bactérienne de type « swimming », c'est-à-dire une nage à l'intérieur du milieu, les souches bactériennes sont inoculées à partir de colonies par piqûre dans un milieu LB à 3 g/L de gélose. Pour mesurer la motilité de type « swarming », c'est-à-dire un déplacement à la surface d'un milieu, 2 µl de culture bactérienne cultivée en LB sont déposés à la surface de boîtes LB à 6 g/L de gélose additionnées de 5 g/L de glucose. Les boîtes sont incubées 24 h à 30°C puis le diamètre de la zone de croissance est mesuré.

Pour réaliser les tests de virulence, les souches sont cultivées pendant une nuit dans du milieu LB liquide

MATÉRIEL ET MÉTHODES

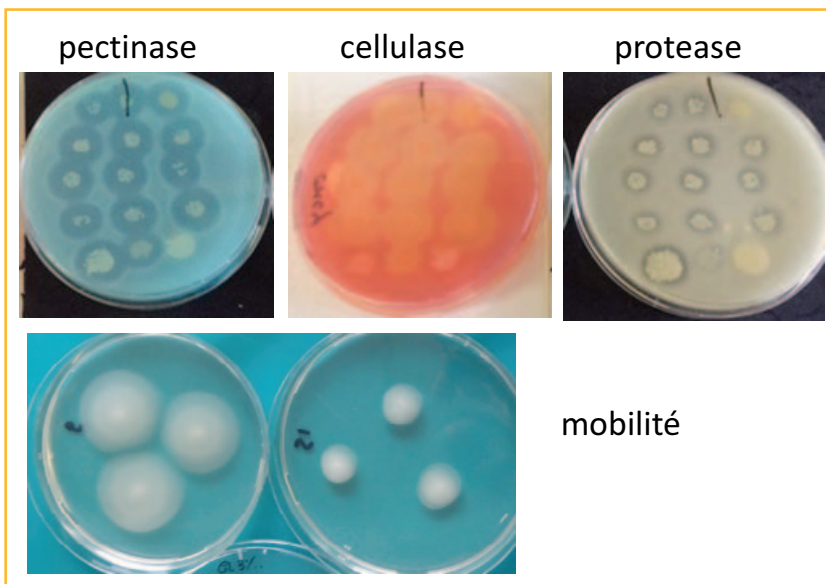


Figure 3 : Tests utilisés pour détecter les activités pectinase, cellulase et protéase ainsi que la mobilité des bactéries.

sous agitation. Ensuite, 100 μL des cultures LB ont été étalés sur une plaque de TSA à 10% qui a été incubée pendant 24 heures. Les bactéries sont centrifugées et remises en suspension dans du milieu M63 et ajustées à une DO600 nm de 0,1 (feuille d'endive) ou 1,0 (pomme de terre). Pour les feuilles d'endive, 10 μL de suspension bactérienne sont déposés sur une courte incision pratiquée au centre de la feuille. Pour la pomme de terre, 10 μL de la suspension bactérienne ont été injectés dans le tubercule. Les plantes inoculées sont placées sur un papier humide dans une boîte en plastique hermétique pour éviter la perte d'humidité. Les zones de macération sont mesurées après incubation à 30°C pendant 24 h (endive) ou prélevées et pesées après incubation à 30°C pendant 48 h (pomme de terre).

Extraction de l'ADN génomique et séquençage des génomes des six nouvelles souches

L'extraction de l'ADN total des 6 souches sélectionnées a été réalisée à l'aide d'un kit New England Biolabs (<https://international.neb.com/monarch/high-molecular-weight-dna-extraction>) qui permet d'obtenir de longs fragments d'ADN. La quantification et le contrôle qualité de l'ADN ont été effectués au DTAMB, par électrophorèse en gel d'agarose, d'un spectrophotomètre Nanodrop, d'un fluorimètre Qubit4 et d'un système d'électrophorèse capillaire Fragment Analyzer 5200 (<https://www.dtamb.univ-lyon1.fr/>). L'ADN génomique a ensuite été séquençé par couplage des méthodes Illumina et Nanopore. Le séquençage Illumina a été réalisé par un prestataire externe (Microbes NG, UK). Le séquençage Nanopore a été réalisé sur l'équipement MinION de la plateforme

DTAMB (FR BioEnViS, FR3728, UCBL-CNRS), en utilisant trois cellules (flow cells) pour six souches. Les séquences génomiques obtenues ont été annotées à l'aide du logiciel PGAP (prokaryotic annotation pipeline) développé au NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Analyses phylogénétiques

Une banque de données rassemblant les six génomes de *Dickeya* séquencés dans le cadre de cette étude, un génome représentatif de chaque espèce de *Pectobacteriaceae*, ainsi que trois à quatre génomes représentatifs des autres familles d'*Enterobacterales* sont utilisés comme références extérieures. Deux analyses phylogénétiques ont été réalisées : l'analyse du gène *gapA* et celle des gènes codant pour les protéines ribosomiques, afin d'identifier formellement les six souches étudiées et de les positionner dans la phylogénie des *Dickeya*. Pour chaque analyse, les séquences des gènes ont été recherchées dans les génomes de la banque. Les séquences ont été alignées avec les logiciels MUSCLE (pour *gapA*) et KALIGN (pour les gènes des protéines ribosomiques). Les alignements obtenus ont été utilisés pour reconstruire les phylogénies par la méthode du maximum de vraisemblance à l'aide du logiciel IQ-TREE. L'alignement du gène *gapA* compte 996 positions. Pour les protéines ribosomiques, les alignements des gènes correspondants ont été concaténés (c'est-à-dire mis bout à bout) pour construire un super-alignement de très grande taille (19 308 positions). Il s'agit d'une approche couramment utilisée en phylogénie moléculaire pour améliorer la reconstruction des arbres. Elle consiste à analyser plusieurs gènes de manière simultanée ce qui permet de combiner le signal phylogénétique qu'ils portent.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Sélection des isolats à séquencer

Plusieurs souches isolées à partir de milieux aquatiques forment des espèces distinctes au sein du genre *Dickeya* (i.e. *D. aquatica*, *D. lacustris* ou *D. undicola*) (Duprey et al., 2019, Hugouvieux-Cotte-Pattat et al., 2019). Ces souches aquatiques, considérées initialement non pathogènes, ont suscité moins d'intérêt que les isolats pathogènes et ont été peu étudiées. À titre d'exemple, moins de 10 souches, souvent mal caractérisées, avaient été décrites pour chaque espèce au début de ce projet (Table 1). De plus, seuls cinq génomes ont été séquencés, trois pour *D. aquatica* (147/2T, DW 0440 et CSL RW240) et deux pour *D. lacustris* (S29T et lsb1) (Table 1). Cependant, quatre de ces cinq génomes (y compris celui de S29T qui est la souche type de *D. lacustris*) sont de faible qualité et n'ont pas pu être complètement assemblés. Ces génomes se présentent donc sous la forme de nombreux fragments et sont probablement incomplets.

L'analyse de nouvelles souches était donc un préalable nécessaire pour obtenir plus d'information sur la diversité génétique et la physiologie de ces souches d'eau.

De 2017 à 2019, nous avons isolé plusieurs souches de *Dickeya* dans le cadre d'une collaboration avec la Fondation Pierre Vérots, parmi lesquelles nous en avons choisi cinq pour des analyses plus approfondies. Afin de maximiser la diversité des isolats retenus, nous avons privilégié la sélection de souches isolées à des années différentes, provenant d'étangs différents mais aussi de la rhizosphère de plantes de berge. Ces isolats ont été déposés dans la collection CFBP (collection française de bactéries phytopathogènes). Nous avons également entrepris la réanalyse de la souche type de *D. lacustris* (S29T) dont le génome disponible était de faible qualité.

L'identification préliminaire des isolats a été réalisée sur la base du séquençage et de l'analyse phylogénétique du gène *gapA* (Fig. 4). L'arbre obtenu positionne sans ambiguïté les souches étudiées avec les souches du genre *Dickeya*. Plus précisément, trois d'entre elles (S29,

Désignation	Origine	Année	Environnement	Critères d'identification
<i>D. aquatica</i>				
174/2 ^T , NCPPB 4580 ^T	UK	2012	Eau de rivière	Génome
DW0440	Finlande	2005	Eau de rivière	Génome
CSL RW240	UK		Eau de rivière	Génome
181/2	UK	2012	Eau de rivière	Gènes <i>gyrB</i> , <i>infB</i> and <i>rpoB</i>
Dw054	Finlande	2005	Eau de rivière	Gène 16S rRNA
Dw0431	Finlande		Eau de rivière	Gène 16S rRNA
Dw0512	Finlande	2005	Eau de rivière	Gène 16S rRNA
<u>JDA74</u> , CFBP 8722	France	2018	Rhizosphère de <i>S. dulcamara</i>	Gène <i>gapA</i> , génome, phénotype
<u>IS80</u> , CFBP9042	France	2019	Eau d'étang	Gène <i>gapA</i> , génome, phénotype
<u>IS92</u> , CFBP9043	France	2019	Eau d'étang	Gène <i>gapA</i> , génome, phénotype
<i>D. lacustris</i>				
S29 ^T , CFBP 8647 ^T	France	2017	Eau d'étang	Génome
lsb1	Pakistan	2021	Selles humains	Génome
S39, CFBP8649	France	2017	Rhizosphère de <i>S. dulcamara</i>	Gène <i>gapA</i>
S12, CFBP8648	France	2017	Eau d'étang	Gène <i>gapA</i>
S15	France	2017	Eau d'étang	Gène <i>gapA</i>
S17	France	2017	Eau d'étang	Gène <i>gapA</i>
<u>S29</u> , CFBP 8647	France	2017	Eau d'étang	Génome, phénotype
<u>J114b</u> , CFBP8721	France	2018	Eau d'étang	Gène <i>gapA</i> , génome, phénotype
<u>A14</u> , CFBP9041	France	2019	Eau d'étang	Gène <i>gapA</i> , génome, phénotype

Table 1 : Caractéristiques des souches de *D. aquatica* et *D. lacustris* connues en janvier 2023. Les six souches dont le nom est souligné correspondent à celles dont le génome a été séquencé dans le cadre de cette étude. Cinq d'entre-elles sont des nouveaux isolats. La sixième correspond à la souche type de *D. lacustris* (S29T). Notre objectif était de réétudier et de reséquencer le génome de cette souche car celui disponible dans les banques de données était d'une qualité insuffisante. À noter que la séquence du génome de la souche lsb1 a été déposée dans les bases de données en janvier 2023.

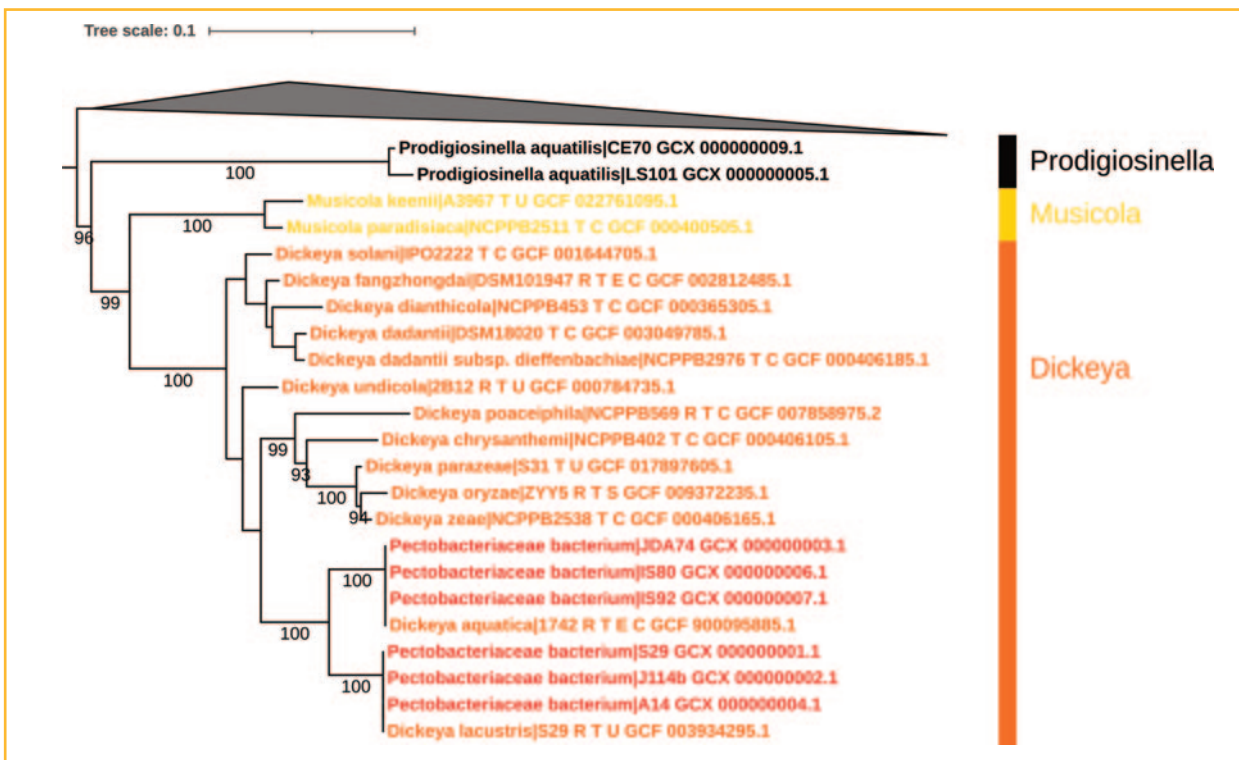


Figure 4 : Phylogénie du gène *gapA* des cinq souches isolées à partir d'échantillons d'eau dans le cadre de cette étude et de la souche S29 en vue d'une réanalyse. Les séquences du gène *gapA* des six souches d'intérêt sont indiquées en rouge. Les séquences disponibles des souches types des 12 espèces de *Dickeya* reconnues ont été ajoutées comme témoin. La phylogénie inclut également les gènes des autres espèces de *Pectobacteriaceae* et des représentants des autres familles d'*Enterobacteriales*. Pour ne pas surcharger la figure, seule la partie de l'arbre contenant les *Dickeya* (en orange) et les genres voisins (*Musicola* en jaune et *Prodigiosinella* en noir) est détaillée. La position des autres séquences est indiquée par le triangle gris. Les nombres associés aux branches représentent les valeurs de « ultra fast » bootstrap estimées par IQ-TREE (ces valeurs varient de 0 à 100%). Seules les valeurs significatives (>90%) sont indiquées. La barre d'échelle représente le nombre moyen de substitutions par site de l'alignement.

J114b et A14) se positionnent avec la souche type de *D. lacustris* (BV = 100%), alors que les trois autres (JDA74, IS80 et IS92) sont regroupées avec la souche type de *D. aquatica* (BV = 100%). La très forte identité des séquences du gène *gapA* observée entre S29, J114b et A14 et la souche type de *D. lacustris* d'une part et JDA74, IS80 et IS92 et la souche type de *D. aquatica* d'autre part suggère qu'ils appartiennent à ces espèces. Ces six souches ont été retenues en vue d'une caractérisation phénotypique plus poussée et du séquençage de leur génome.

Caractérisation phénotypique des isolats sélectionnés

Une caractérisation phénotypique des six souches retenues a été réalisée par l'analyse de leur capacité à assimiler diverses sources de carbone et résister à certains stress (Table 2). Les souches de *D. aquatica* et *D. lacustris* se distinguent par le fait qu'elles utilisent globalement moins de sources de carbone que les autres *Dickeya*. Elles sont notamment incapables d'assimiler le xylose et le mannitol. Elles résistent bien à la chaleur, étant

capables de croître à 41°C et, dans le cas de *D. lacustris*, encore faiblement à 43°C (Table 2). Par contre, elles résistent assez mal aux fortes osmolarités, ce qui semble normal pour des bactéries vivant dans l'eau douce.

La sécrétion d'enzymes extracellulaires, les mobilités de type swimming (nage dans le milieu) et de type swarming (déplacement sur une surface), ainsi que la virulence sur endives et pomme de terre ont également été testées (Table 3). Les souches de *D. aquatica* et de *D. lacustris* sécrètent des enzymes capables de dégrader les tissus végétaux, un peu moins de pectinases mais un peu plus de cellulases que la souche pathogène témoin (Table 3). Elles sont dotées d'une bonne mobilité de type swimming qui leur permet de se déplacer dans un milieu liquide mais ne montrent pas de mobilité de type swarming utilisée par de nombreuses *Dickeya* pour se déplacer sur des surfaces (Table 3). Elles sont capables de provoquer une macération importante sur les deux plantes modèles testées, l'endive et la pomme de terre (Table 3). Une comparaison entre les souches d'intérêt et des souches pathogènes montre donc que les souches de l'eau sont assez semblables aux souches isolées à partir de plantes malades et ont un potentiel de virulence non négligeable.

Espèces	Souches	Sources de carbone					Température		Osmolarité	
		Mel	Mtl	Xyl	Dara	Tre	41°C	43°C	NaCl 0.3M	NaCl 0.5M
<i>D. dadantii</i>	3937	+	+	+	W	-	W	-	+	-
<i>D. aquatica</i>	174/2T	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>D. aquatica</i>	JDA74	-	-	-	-	-	+	-	W	-
<i>D. aquatica</i>	IS80	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>D. aquatica</i>	IS92	-	-	-	-	-	+	-	W	-
<i>D. lacustris</i>	S29T	-	-	-	-	-	+	W	+	-
<i>D. lacustris</i>	S24	-	-	-	-	-	+	W	-	-
<i>D. lacustris</i>	S39	-	-	-	-	-	+	W	+	-
<i>D. lacustris</i>	J114	-	-	-	-	-	+	W	-	-

Table 2 : Caractérisation phénotypique, assimilation des sucres et résistance aux stress des isolats d'intérêt. La souche modèle *D. dadantii* 3937, ainsi que la souche type de *D. aquatica*, ainsi que la souche S39 et la souche type de *D. lacustris* sont utilisées comme témoin. La capacité à assimiler diverses sources de carbone a été testée en milieu minimum M63 additionné d'une seule source de carbone, en particulier mélibiose (Mel), mannitol (Mtl), D-arabinose (Dara) ou tréhalose (Tre). La résistance à de fortes températures et osmolarités a été testée en milieu LB et M63 glycérol, respectivement. (w= faible)

Espèces	Souches	Sécrétion d'enzymes			Mobilité		Virulence	
		Pel mm	Cel mm	Prt mm	Swimming mm	Swarming mm	Endive mm	Pomme de g
<i>D. dadantii</i>	3937	18	11	10	31±2	51±7	75±16	2.93±0.42
<i>D. aquatica</i>	174/2T	12	14	11	23±1	3±1	18±5	1.14±0.37
<i>D. aquatica</i>	JDA74	13	14	11	24±2	5±1	27±11	1.33±0.21
<i>D. aquatica</i>	IS80	12	13	11	19±3	4±1	24±9	1.12±0.27
<i>D. aquatica</i>	IS92	12	14	10	20±2	5±1	30±15	1.15±0.28
<i>D. lacustris</i>	S29T	12	13	12	28±1	3±1	32±16	0.92±0.19
<i>D. lacustris</i>	S24	13	14	13	31±1	4±1	55±14	1.94±0.21
<i>D. lacustris</i>	S39	12	14	12	30±3	5±1	61±16	2.49±0.39
<i>D. lacustris</i>	J114	12	15	13	32±4	4±1	52±11	0.93±0.29

Table 3 : Caractérisation des souches, sécrétion d'enzymes, mobilité et virulence des isolats d'intérêt. La souche modèle *D. dadantii* 3937, ainsi que la souche type de *D. aquatica*, ainsi que la souche S39 et la souche type de *D. lacustris* sont utilisées comme témoin. La capacité à produire des enzymes extracellulaires dont les pectinases (Pel), les cellulases (Cel) et les protéases (Prt), a été testée dans des milieux spécifiques contenant un substrat de ces enzymes. La mobilité a été testée par inoculation dans un milieu semi-liquide peu concentré en agar (6 à 8 g/L), soit par piquure dans le milieu (swimming), soit par dépôt en surface (swarming). La taille des halos de croissance est mesurée après 24h. La capacité de virulence est testée par infection de feuilles d'endive ou de tubercules de pomme de terre. La longueur de la zone macérée après 24h et le poids de tissus macérés après 48h ont été mesurés.

Analyses génomiques des souches sélectionnées

Les génomes des six souches d'intérêt ont été séquencés et comparés aux génomes de *D. aquatica* et *D. lacustris* présents dans les bases de données publiques. Le séquençage a été réalisé par un couplage de deux méthodes : la méthode Oxford Nanopore Technologies, qui génère des lectures longues mais présentant un niveau relativement élevé d'erreurs et la méthode Illumina qui produit des lectures courtes mais avec peu d'erreurs. Le couplage de ces deux types

d'approches permet d'améliorer la qualité des séquences des génomes : les lectures longues obtenues avec le nanopore facilitent l'étape d'assemblage tandis que les lectures courtes permettent de corriger les erreurs de séquence.

Les trois génomes de *D. aquatica* séquencés sont de relative bonne qualité. L'assemblage des lectures a permis d'obtenir des génomes peu fragmentés : un fragment pour IS80, deux pour IS92 et six pour JDA74 (Table 4). Pour rappel, au niveau des génomes disponibles dans les banques de données, seul le génome de la souche type 174/2T est complètement assemblé (un seul fragment), les génomes des souches DW 0440 et CSL

RW240 étant quant à eux très fragmentés (47 et 26 fragments, respectivement). Les génomes des souches JDA74 et IS92 ont des caractéristiques assez proches de celles de la souche type (Table 4), notamment pour ce qui concerne la taille, le nombre d'ARNr ou le nombre d'ARNt. En comparaison, les génomes des souches DW 0440 et CSL RW240 sont légèrement plus petits, contiennent un nombre beaucoup plus faible de gènes codant pour des ARNt et d'ARNr, suggérant que ces génomes ne sont pas complets et qu'il y a des erreurs d'assemblage et/ou de séquençage, ce qui est cohérent avec le niveau élevé de fragmentation des séquences de ces génomes. Le génome de la souche IS80 présente, quant à lui, des caractéristiques atypiques et surprenantes. Tout d'abord, bien qu'il soit de taille comparable et contienne un nombre proche d'ARNr et d'ARNt, il contient beaucoup moins de gènes que les cinq autres (3 121 contre 3 747-3 882), et un nombre très élevé de pseudogènes (968 contre 95-281). Cette souche va faire l'objet d'analyses complémentaires pour déterminer s'il s'agit d'erreurs liées à une faible qualité de la séquence génomique ou s'il s'agit réellement de pseudogènes, consécutifs par exemple à un phénomène de réduction du génome.

Pour ce qui concerne les trois souches S29, J114b et A14 de *D. lacustris*, les génomes ont pu être assemblés complètement (un seul fragment), alors que les génomes

de S29T et Isb1 disponibles dans les banques de données, depuis 2018 et janvier 2023, étaient très fortement fragmentés (118 et 107 fragments, respectivement) (Table 5). Les génomes des trois souches d'intérêt présentent des caractéristiques très similaires à celles des génomes de Isb1 et de la souche type S29^T concernant la taille et le nombre de gènes. Par contre, ils présentent le même nombre d'ARNr que les souches de *D. aquatica*, alors que les génomes précédents de S29^T et Isb1 codaient pour un nombre d'ARNr étonnamment plus faible. Ce point, comme la grande fragmentation de ces génomes, peut refléter une qualité moindre de ces séquences et justifie notre démarche de reséquençage du génome de la souche type S29^T qui est amenée à être utilisée comme référence dans la communauté scientifique.

Analyses phylogénétiques

Une analyse phylogénétique complémentaire a été réalisée pour préciser la position des six souches séquencées au sein des *Dickeya* en utilisant les séquences des gènes codant pour les protéines ribosomiques (Figure 5). L'arbre obtenu est très bien résolu (quasi-totalité des BV > 90%). Ceci indique que le super-alignement utilisé pour construire les arbres contient un signal phylogénétique

<i>Dickeya aquatica</i>	174/2 ^T	DW 0440	CSL RW240	JDA74	IS80	IS92
Date de séquençage	Août 2018	Juin 2013	Janvier 2016	Nov. 2022	Nov. 2022	Nov. 2022
Numéro d'accès du	GCF_900095885.1	GCF_000406285.1	GCF_000406085.2	-	-	-
BioProject	PRJEB15300	PRJNA173398	PRJNA172955	PRJNA905946	PRJNA905946	PRJNA905946
BioSample	SAMEA4416159	SAMN02470098	SAMN02470084	SAMN31888675	SAMN31888676	SAMN31888677
Origine	Rivière (Royaume-Uni)	Rivière (Finlande)	Rivière (Royaume-Uni)	Rizosphère (Dombes)	Étang (Dombes)	Étang (Dombes)
Niveau d'assemblage	Génome complet	Chromosome	Chromosome	Non déterminé	Non déterminé	Non déterminé
Complétude	92,59%	92,83%	92,33%	Non déterminé	Non déterminé	Non déterminé
Niveau contamination	3,09%	2,84%	3,19%	Non déterminé	Non déterminé	Non déterminé
Taille*	4 501 560 bp	4 306 477 bp	4 264 625 bp	4 492 548 bp	4 387 865 bp	4 425 250 bp
Nombre de fragments	1	47	26	6	1	2
CC% du génome	53,6%	53,4%	53,5%	53,5%	53,5%	53,5%
Gènes	4 086	3 969	3 965	4 132	4 193	3 951
CDS**	3 882	3 769	3 796	3 747	3 121	3 743
rRNAs 5S	8	0	2	8	8	9
rRNAs 16S	7	1	1	7	7	8
rRNAs 23S	7	1	2	7	7	8
tRNAs	76	57	64	77	77	78
ncRNAs	5	5	5	5	5	5
Pseudogènes	101	136	95	281	968	100
CRISPR arrays	4	4	7	4	4	4

* Taille du fragment le plus long, ** Gènes codant pour des protéines

Table 4 : Caractéristiques des génomes séquencés dans cette étude et des génomes des souches types de *Dickeya aquatica* ayant été séquencés dans le cadre d'études précédentes et disponibles dans les bases de données.

fort, ce qui n'est pas surprenant compte-tenu de sa grande taille (19 308 positions analysées, à comparer avec les 996 positions du gène *gapA*). Au sein des *Pectobacteriaceae*, les différents genres sont bien délimités (BV = 100%) y compris pour le genre *Brenneria* qui est proche du genre *Affinibrenneria* et le genre *Pectobacterium* qui est proche du genre *Samsonia*. Bien qu'ils soient relativement plus éloignés, les genres *Pectobacterium* et *Dickeya* provoquent des maladies très similaires sur les plantes cultivées (Hugouvieux-Cotte-Pattat et al., 2020).

Cet arbre retrouve une grande proximité entre les genres *Dickeya* et *Musicola* (BV = 100%), ainsi qu'avec les genres *Lonsdalea* (phytopathogène d'arbres) et *Prodigiosinella*. Enfin, ils confirment la très grande proximité des souches JDA74, IS80 et IS92 avec la souche type de *D. aquatica* (BV = 100%) et celle des souches S29, J114b et A14 avec la souche type de *D. lacustris* (BV = 100%). De plus, cette phylogénie confirme la proximité entre les espèces *D. aquatica* et *D. lacustris* décrite précédemment, ainsi que leur branchement profond au sein des *Dickeya* (Hugouvieux-Cotte-Pattat et al. 2019). Enfin, il est intéressant de remarquer que les distances qui séparent *D. lacustris* et *D. aquatica* des autres espèces de *Dickeya* sont importantes, suggérant que ces souches sont éloignées du point de vue évolutif.

Calcul des distances entre les génomes des souches de *D. lacustris* et *D. aquatica*

Bien qu'il n'y ait pas de définition formelle de la délimitation entre les genres, l'attribution à un même genre est peu recommandée lorsqu'une faible proportion des séquences génomiques peut être alignée. Ainsi il a été observé que la limite entre les genres correspond généralement à une fraction alignée d'environ 60% (Barco et al., 2020). Dans le genre *Dickeya*, les génomes des dix espèces principales (*D. chrysanthemi*, *D. dadantii*, *D. dianthicola*, *D. fangzhongdai*, *D. oryzae*, *D. parazeae*, *D. poaceaphila*, *D. solani*, *D. undicola* et *D. zea*) peuvent être alignés entre eux sur au moins 58 % de leur longueur totale. Ces dix espèces constituent donc un groupe cohérent correspondant au noyau du genre *Dickeya*. En revanche, la fraction alignée des génomes de *D. lacustris* et *D. aquatica* avec les autres espèces de *Dickeya* est inférieure à 41 % et devient même inférieure à 18% avec les espèces du genre *Musicola* (Hugouvieux-Cotte-Pattat et al., 2021). Ceci suggère que les espèces *D. aquatica* et *D. lacustris* pourraient représenter un genre distinct au sein des *Pectobacteriaceae*.

<i>Dickeya lacustris</i>					
Souches	S29T	Isb1	S29T	J114b	A14
Date de séquençage	Déc. 2018	Jan. 2023	Nov. 2022	Nov. 2022	Nov. 2022
N° accès du génome	GCF_003934295.1	GCF_027571425.1	-	-	-
BioProject	PRJNA479749	PRJNA915953	PRJNA905946	PRJNA905946	PRJNA905946
BioSample	SAMN09603982	SAMN32409324	SAMN31888538	SAMN31888639	SAMN31888640
Origine	Étang (Dombes)	Selles humains	Étang (Dombes)	Étang (Dombes)	Étang (Dombes)
Niveau d'assemblage	Génome complet	Chromosome	Non déterminé	Non déterminé	Non déterminé
Complétude	93,07%	89,02%	Non déterminé	Non déterminé	Non déterminé
Niveau contamination	3,36%	3,7%	Non déterminé	Non déterminé	Non déterminé
Taille*	4 306 505 bp	~4 500 00 pb	4 365 770 pb	4 366 875 bp	4 366 585 bp
Nombre de fragments	118 contigs	107 contigs	1	1	1
CC% du génome	53,1%	53,1%	53,1%	53,2%	53,2%
Gènes	3 928	3 958	3 967	3 932	3 971
CDS**	3 751	3 674	3 673	3 759	3 692
rRNAs 5S	6	4	8	8	8
rRNAs 16S	3	3	7	7	7
rRNAs 23S	1	1	7	7	7
tRNAs	69	69	76	74	76
ncRNAs	6	6	6	6	6
Pseudogènes	92	201	190	71	175
CRISPR arrays	4	4	4	4	4

* Taille du fragment le plus long, ** Gènes codant pour des protéines

Table 5 : Caractéristiques des génomes séquencés dans cette étude et des génomes des souches types de *Dickeya lacustris* ayant été séquencés dans le cadre d'études précédentes et disponibles dans les bases de données.

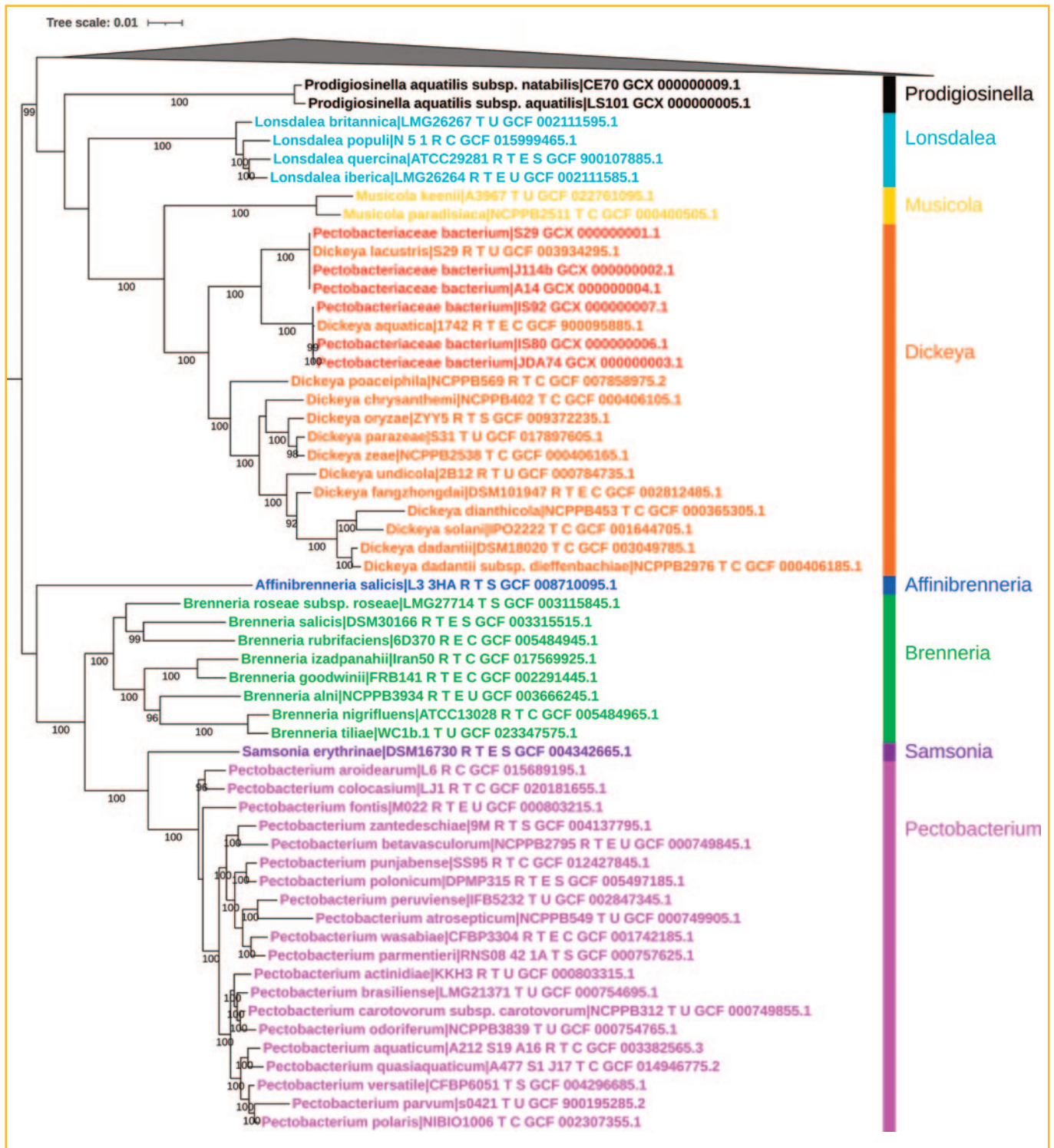


Figure 5 : Phylogénie des *Pectobacteriaceae* basée sur l'analyse des gènes codant pour les protéines ribosomiques. L'arbre a été inféré par la méthode du maximum de vraisemblance avec le logiciel IQ-TREE. Le nom des genres de *Pectobacteriaceae* est indiqué à droite. Les nombres associés aux branches représentent les valeurs de « ultra fast » bootstrap estimées par IQ-TREE (ces valeurs varient de 0 à 100%). Pour ne pas surcharger l'arbre, seules les valeurs significatives (> 90%) sont indiquées. Les séquences correspondant aux six souches d'intérêt sont indiquées en rouge. Comme attendu, elles se positionnent avec *D. lacustris* (S29, J114b et A14) et *D. aquatica* (IS92, IS80 et JDA74). La barre d'échelle représente le nombre moyen de substitutions par site s'étant produit au cours de l'évolution.

Grâce au soutien de la Fondation Pierre Vérots, nous avons pu approfondir la physiologie et séquencer le génome de six souches de *Dickeya* appartenant à deux espèces inféodées aux milieux aquatiques, *D. lacustris* et *D. aquatica*. Bien qu'occupant une position clé dans l'histoire des *Dickeya*, les espèces aquatiques ont été très peu étudiées, probablement parce que, contrairement aux autres espèces, ce ne sont pas des pathogènes connus de plantes cultivées ou ornementales et ont donc un impact économique négligeable.

Les premières analyses des génomes confirment d'une part la proche parenté entre *D. lacustris* et *D. aquatica* et d'autre part leur éloignement des autres espèces de *Dickeya*. Ceci pourrait suggérer que ces deux espèces représentent un genre distinct mais proche du genre *Dickeya*. Des analyses sont en cours pour décrypter en profondeur l'information contenue dans ces génomes, en particulier pour identifier les gènes essentiels au mode de vie aquatique, mais aussi pour comprendre et retracer les premières étapes de l'émergence des souches pathogènes.

Au niveau phénotypique, les deux espèces *D. lacustris* et *D. aquatica* montrent des particularités métaboliques par rapport aux dix autres espèces du genre *Dickeya*, comme la non assimilation du xylose ou du mannitol. Leur équipement en facteurs de virulence est assez similaire à celui des autres *Dickeya* et elles ont une capacité de macération comparable sur différents légumes. Ceci suggère que ces deux espèces pourraient être des pathogènes de plantes non cultivées. L'hypothèse la plus probable serait alors qu'elles ont une gamme d'hôtes limitée, n'interagissant qu'avec des plantes sauvages présentes dans l'eau ou sur la berge des étangs. Les données collectées dans le cadre de ce projet constituent une mine d'informations qui va nous permettre dans les mois à venir de tester l'ensemble de ces hypothèses.

Bibliographie

- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., Gupta, RS. 2016. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66 : 5575-5599.
- Duprey, A., Taib, N., Leonard, S., Garin, T., Flandrois, JP., Nasser, W., Brochier-Armanet, C., Reverchon, S. 2019. The phytopathogenic nature of *Dickeya aquatica* 174/2 and the dynamic early evolution of *Dickeya* pathogenicity. *Environmental Microbiology* 21(8): 2809-2835.
- Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Condemine, G., Gueguen, E., Shevchik, VE. 2020. *Dickeya* Plant Pathogens. In *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ2020: 1-10.
- Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Jacot-des-Combes, C., Briolay, J. 2019. *Dickeya lacustris* sp. nov., a water-living pectinolytic bacterium isolated from lakes in France. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 69 : 721-726.
- Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Jacot-des-Combes, C., Briolay, J., Pritchard, L. 2021. Proposal for the creation of a new genus *Musicola* gen. nov., reclassification of *Dickeya paradisiaca* (Samson et al., 2005) as *Musicola paradisiaca* comb. nov. and description of a new species *Musicola keenii* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 71, 005037.
- Parkinson, N., DeVos, P., Pirhonen, M., Elphinstone, J. 2014. *Dickeya aquatica* sp. nov., isolated from waterways. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64 : 2264-2266.



LES PUBLICATIONS de la Fondation Pierre Vérots

*Pour l'étude et la préservation de
la faune et de la flore de la Dombes*

Les Cahiers Scientifiques :



En publiant des articles de fond, les Cahiers Scientifiques visent à restituer les connaissances scientifiques acquises au sein de son domaine ou avec son soutien, à un public le plus large possible en s'appuyant sur un comité de lecture qui aura pour but de s'assurer de la qualité et de l'exactitude des faits rapportés. Ils permettent également de faire le point sur les questions d'ordre général et les défis qui concernent la Dombes, son patrimoine, son environnement biologique, environnemental et sociétal ainsi que les zones humides de manière générale.

Les Cahiers Scientifiques se veulent ainsi un organe de diffusion des connaissances, d'information et de sensibilisation auprès d'un lectorat Dombiste très large.

La Lettre :

Par de brèves nouvelles, la Lettre cherche à faire connaître la vie et les activités de la Fondation : actualités et projets scientifiques, vie et gestion du domaine, observations climatiques, ornithologiques, piscicoles, forestières, etc.



Les colloques de la Fondation :

Tous les 4 ou 5 ans la Fondation organise un congrès sur un sujet d'intérêt dombiste. Des personnalités sont invitées à donner des conférences spécialisées devant un large public, suivies de discussions et débats. A l'issue du congrès la Fondation publie et diffuse les Actes du Congrès qui rassemblent l'intégralité des interventions des conférenciers et des débats qui ont suivi.



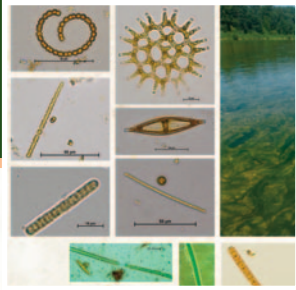
Toutes ces publications sont consultables sur notre site Internet :
www.fondation-pierre-verots.fr



ou sur simple demande à contact@fondation-pierre-verots.fr



Retrouvez-nous également sur notre page Facebook



LES CAHIERS SCIENTIFIQUES de la Fondation Pierre Vérots

Juillet 2024
Numéro 10

FONDATION
PIERRE
VÉROTS



Fondation Pierre Vérots
261, chemin de Praillebard
01390 Saint Jean de Thurigneux
Tél. : 04 74 00 89 33
Mail : contact@fondation-pierre-verots.fr
www.fondation-pierre-verots.fr

ABSTRACT

Benthic cyanobacteria : proliferation factors and ecological risks in continental water bodies

Sylvain Dolédec¹ & Joël Robin²

¹ Université Claude Bernard Lyon 1, LEHNA UMR 5023,
CNRS, ENTPE, F-69622, Villeurbanne, France

² Institut Supérieur d'Agriculture Rhône-Alpes (ISARA),
Lyon

Benthic cyanobacteria are photosynthetic microorganisms that develop at the interface between sediment and water. The capacity of certain strains to produce toxins and the increasingly frequent deaths of mammals linked to their ingestion highlight the health and ecological risks associated with their proliferation in rivers and ponds. In addition, thermal and hydrological changes resulting from climate change could exacerbate these proliferations. If planktonic proliferations are well documented, the ecological impact of the development of benthic cyanobacteria as well as the periods and locations most at risk are little known. In this context, the objectives of Charlotte Robichon's thesis were to (i) identify the main environmental factors

influencing the development of benthic cyanobacteria, (ii) investigate the existence of a link between these ecological factors and the concentrations of toxoids produced, and (iii) study the ecological impact of the development of benthic cyanobacteria on benthic macroinvertebrate communities.

The results of this work show that:

(1) Hydraulic factors (current speed, depth, flow) have a major influence on the development of cyanobacteria. This influence varies during the summer in relation to the life cycle of the biofilms and depending on variations in other environmental factors (nutrient concentrations, development of *Chlorophyceae*). These results

provide a management framework that calls into question current water release practices in rivers.

- (2) Anatoxin-a concentrations measured in biofilms are generally higher in areas of low current, highlighting the potential health risk of these areas generally reserved for swimming.
- (3) The presence of benthic cyanobacteria in biofilms negatively impacts the distribution of few benthic macroinvertebrate taxa but does not harm the overall abundance of benthic macroinvertebrates or their biodiversity.

Diversity and diversification of *Pectobacteriaceae*, a family of phytopathogenic bacteria with a global importance

Céline Brochier¹ & Nicole Cotte-Pattat²

¹ Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, VetAgro Sup,
Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, UMR5558,
F-69622, Villeurbanne, France

² INSA Lyon, Laboratoire Microbiologie, Adaptation, Pathogénie
(MAP) - UMR 5240

Bacteria of the *Pectobacteriaceae* family include major plant pathogens that cause rotting of infected plants. This symptom is due to the massive production of pectinases capable of degrading pectin, a major plant compound supporting the plant cell wall integrity. Within *Pectobacteriaceae*, the genus *Dickeya* is particularly studied because it causes important agricultural losses at the world level on crops essential for human food, such as potato, maize or rice.

Although most *Dickeya* species have been isolated from infected plants, some have been isolated from environmental samples, mostly from aquatic environments. However, the current

knowledge of *Dickeya* is still mainly based on the study of plant pathogenic species, thus neglecting the real biodiversity of these bacteria. In recent years, we have initiated the analysis of strains from aquatic environments in order to characterize these bacteria and to better understand their physiology, ecology, evolution and their links with pathogenic species. The analysis of water samples from lakes of the Pierre Vérots Foundation (convention n°04-CE-05/2017) had allowed us to isolate numerous strains including a new aquatic species named *Dickeya lacustris*. Furthermore, our works indicate that aquatic *Dickeya* lineages may be the oldest and that pathogenic species could derive from aquatic species.

Our goal is now to perform an in-depth study of the early stages of *Dickeya* diversification, with a particular focus on the aquatic species, *Dickeya aquatica* and *Dickeya lacustris*. As genomic data on these species are very limited, we have undertaken to sequence the genome of six new strains (three of each species) isolated at the Pierre Vérots Foundation site. Combined with the analysis of genomes of related genera, these new data will contribute to retrace the evolutionary history of the *Pectobacteriaceae* family and will provide information on their adaptive capacities, particularly with respect to their pathogenicity and ecology.