

UE La vigne et son milieu

Vigne et microbiotes

2022 - 2023

Marie-T Château

marie-therese.chateau@umontpellier.fr

marie-therese.chateau@crbm.cnrs.fr

L'holobionte *Vitis vinifera* = Vigne (organisme hôte)

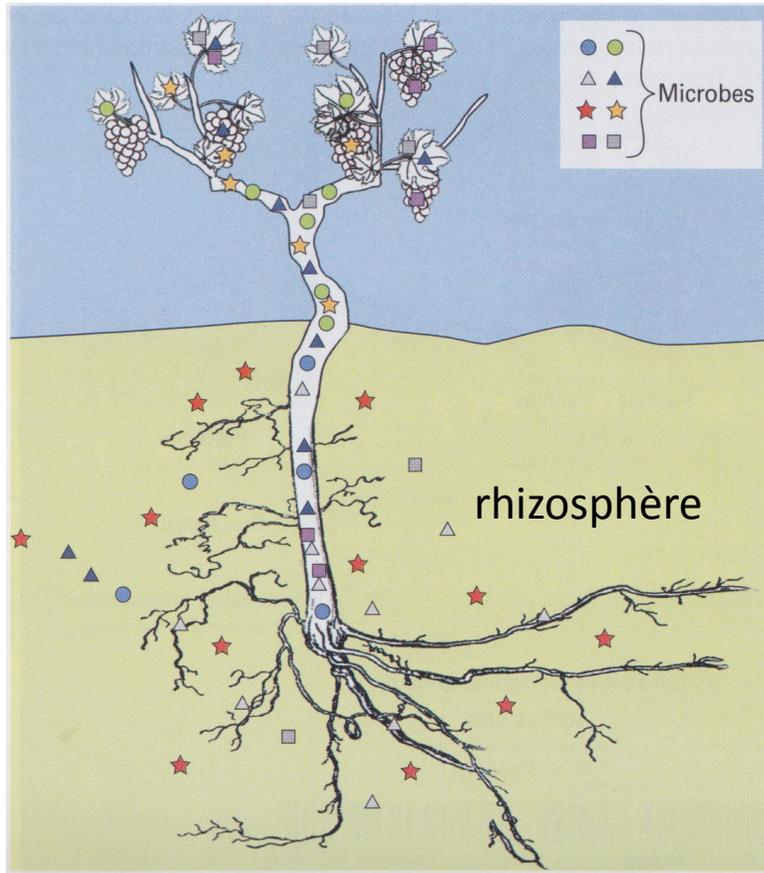
+

Différentes communautés microbiennes = **microbiotes**
qui influencent le développement et le fonctionnement de l'hôte

Une plante axénique (cultivée dans un environnement stérile)
présentera des traits aberrants et des dysfonctionnements

Ces différentes communautés microbiennes sont localisées:

- dans **la rhizosphère** (zone du sol à proximité des racines)
- à la surface (épiphytes) ou à l'intérieur (endophytes)
des **différentes parties de l'hôte** (racines, cep, feuilles, baies)



Courty et al. 2018

Ainsi, 1 g de feuille contient 10^8 bactéries
dont des endophytes (*Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*)
qui proviennent des racines et sont capables de migrer jusqu'aux baies,
durant le développement de la vigne

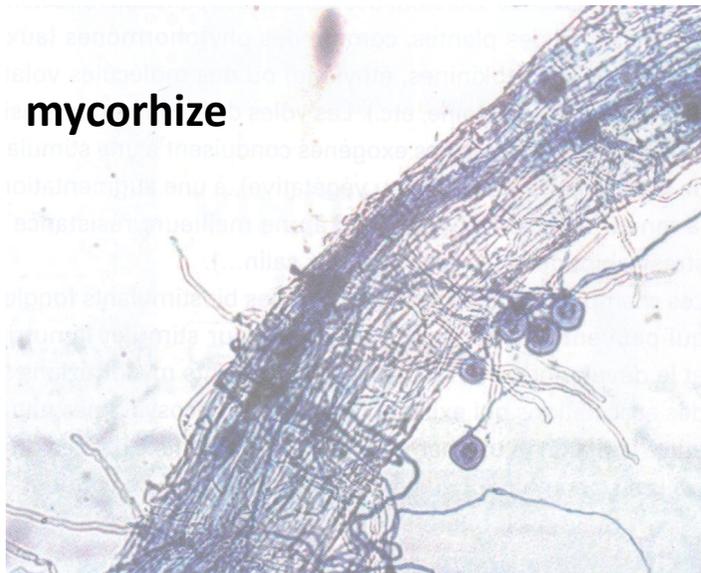
Particulièrement important, le **microbiote de la rhizosphère** est constitué:

- de la **mycorhize**:

association symbiotique entre les **champignons mycorhiziens** et les racines de la plante permettant d'**augmenter le volume de sol accessible**: le mycélium fongique prolonge le système racinaire, ce qui favorise **l'accès à l'eau et aux éléments nutritifs**, tout en maintenant une **bonne cohésion du sol** (lutte contre l'érosion)

- des **rhizobactéries**:

- augmentation de la **biodisponibilité des minéraux** en solubilisant le phosphore et le potassium et en chélatant le fer (par production de sidérophores)
- sécrétion de **phytohormones** (auxine) stimulant la croissance et la résistance aux stress abiotiques (thermique, hydrique...)
- production d'enzymes impliquées dans la **destruction de micro-organismes pathogènes**:
lutte contre le stress biotique



Moins de 1% des espèces présentes sont cultivables

Le développement d'outils moléculaires, tels que les techniques de **séquençage à haut débit** (NGS) a permis de révéler la biodiversité des microbiotes

Plus globalement, ces outils ont permis de redessiner l'arbre phylogénétique du vivant

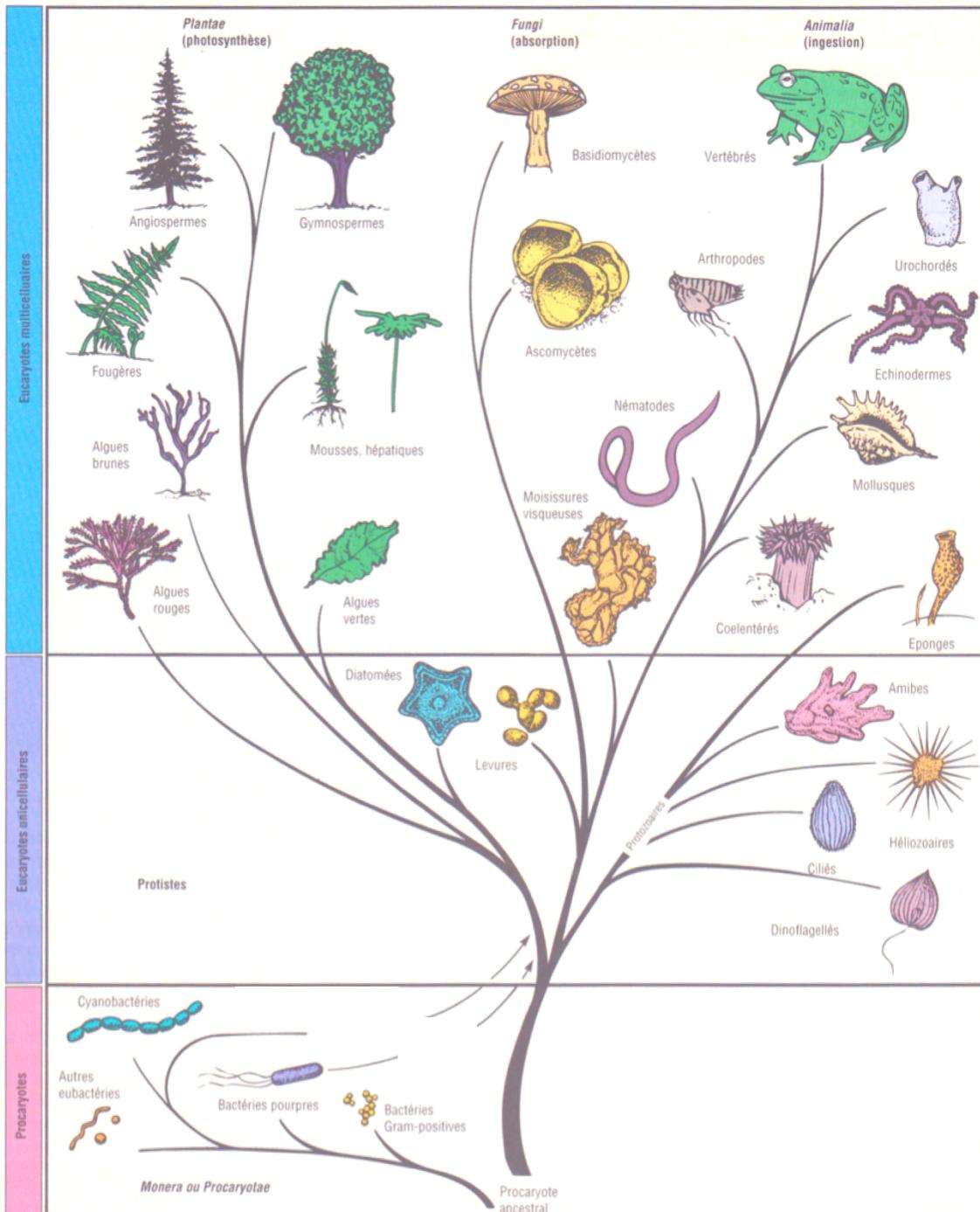
avant...

Le système en cinq règnes
de Robert Whittaker (1969) ...

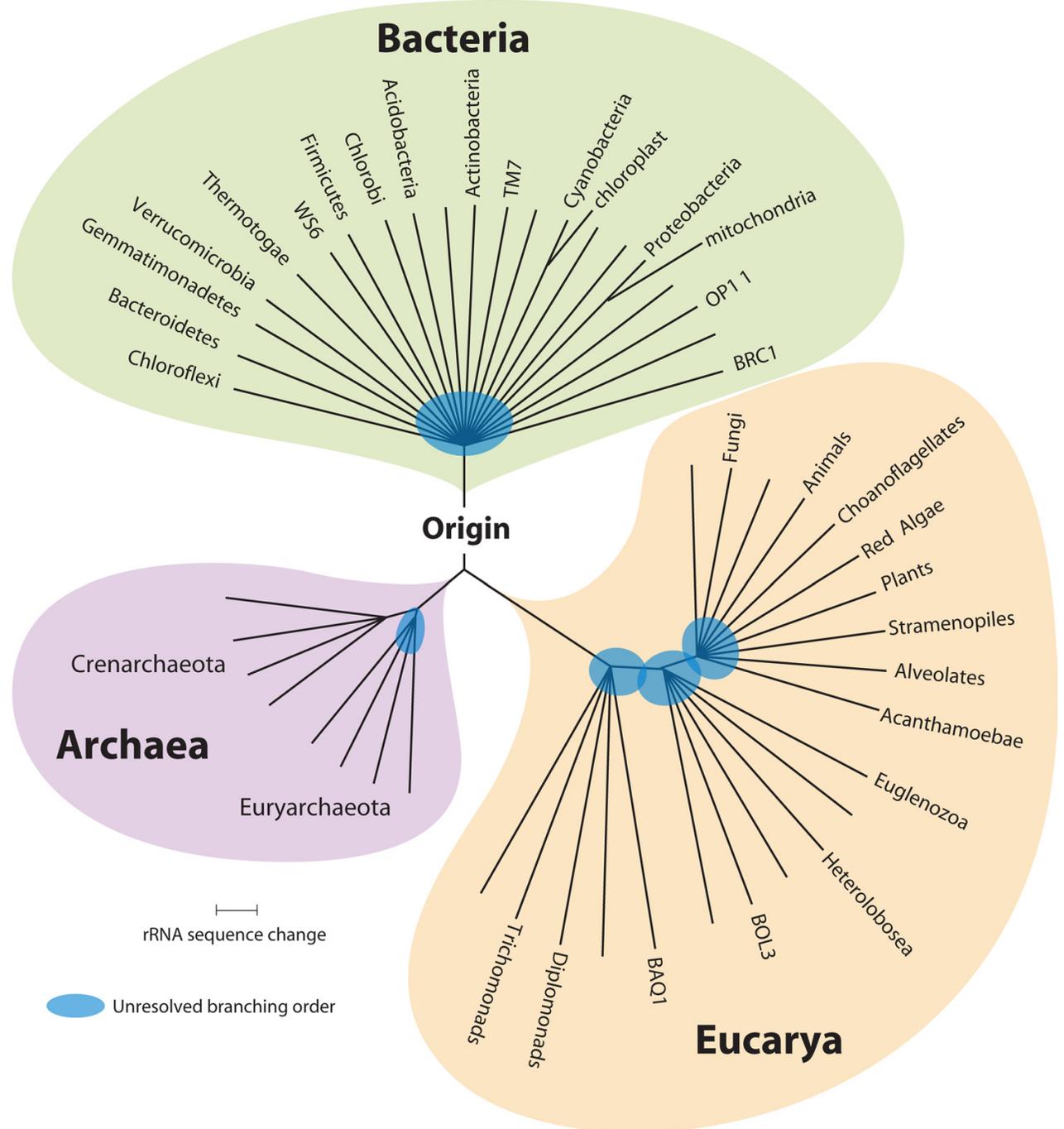
Classification en fonction des :

- type cellulaire
- niveau d'organisation
- type de nutrition

... revisité par Carl Woese
en 1978 !



... après



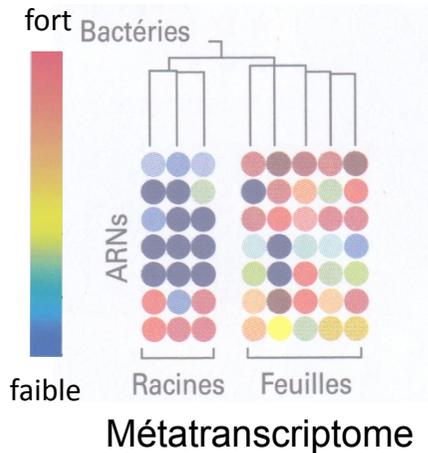
Les technologies « omiques » d'analyse du microbiome (à partir d'un échantillon de sol ou de vigne)

Métagénomique:

Séquençage à haut débit de tous les micro-organismes présents

Méatranscriptomique:

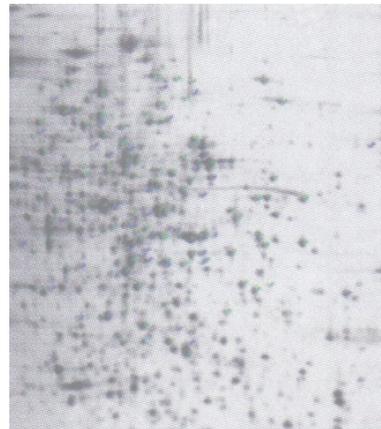
analyse du niveau d'expression des gènes présents
(abondance des ARN transcrits)



Courty *et al.* 2018

Méaprotéomique:

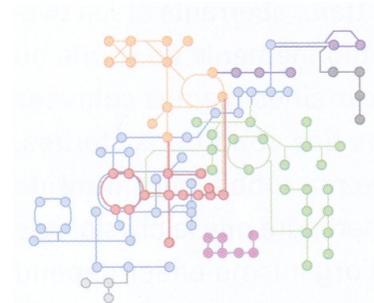
analyse de l'ensemble des protéines traduites
par électrophorèse bidimensionnelle (ou UPLC) - SM



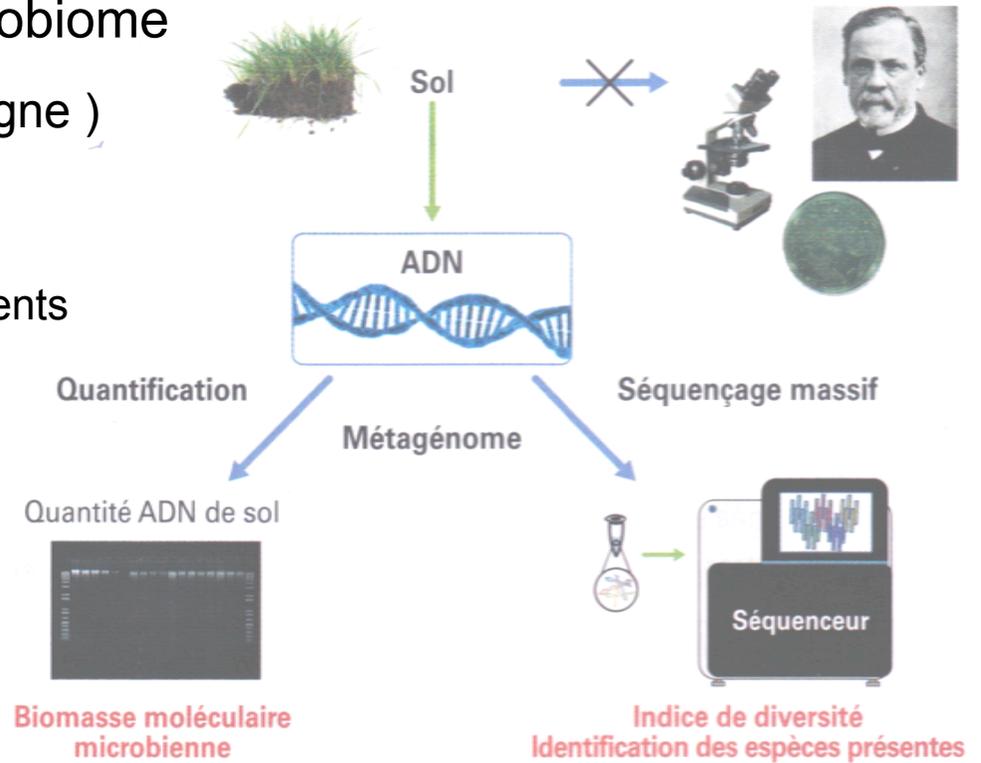
Méaprotéome

Métabolomique:

analyse de l'ensemble des métabolites produits



Métabolome



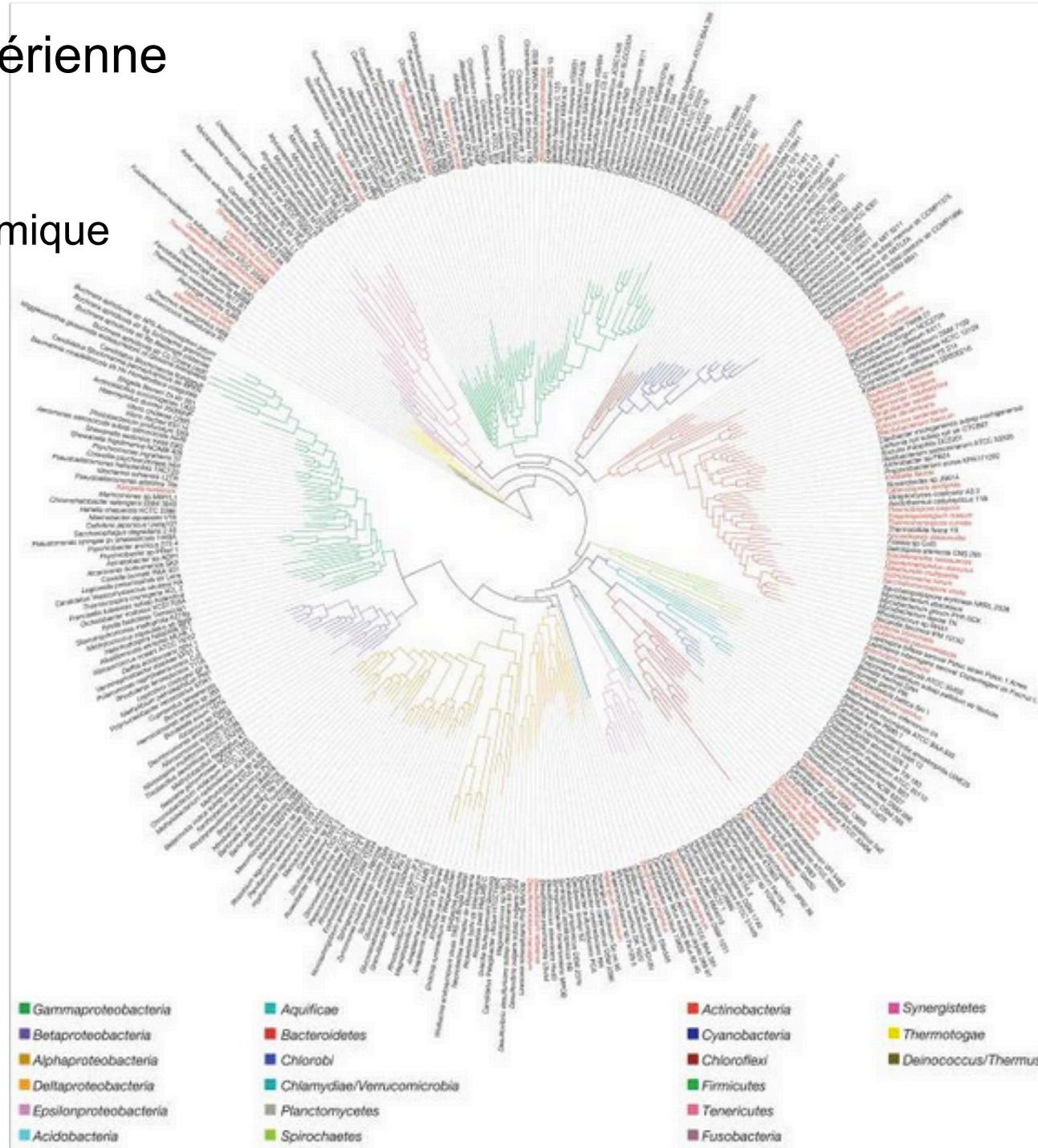
Maron & Ranjard 2018

La phylogénie bactérienne

Wu D *et al.* 2009 *Nature*

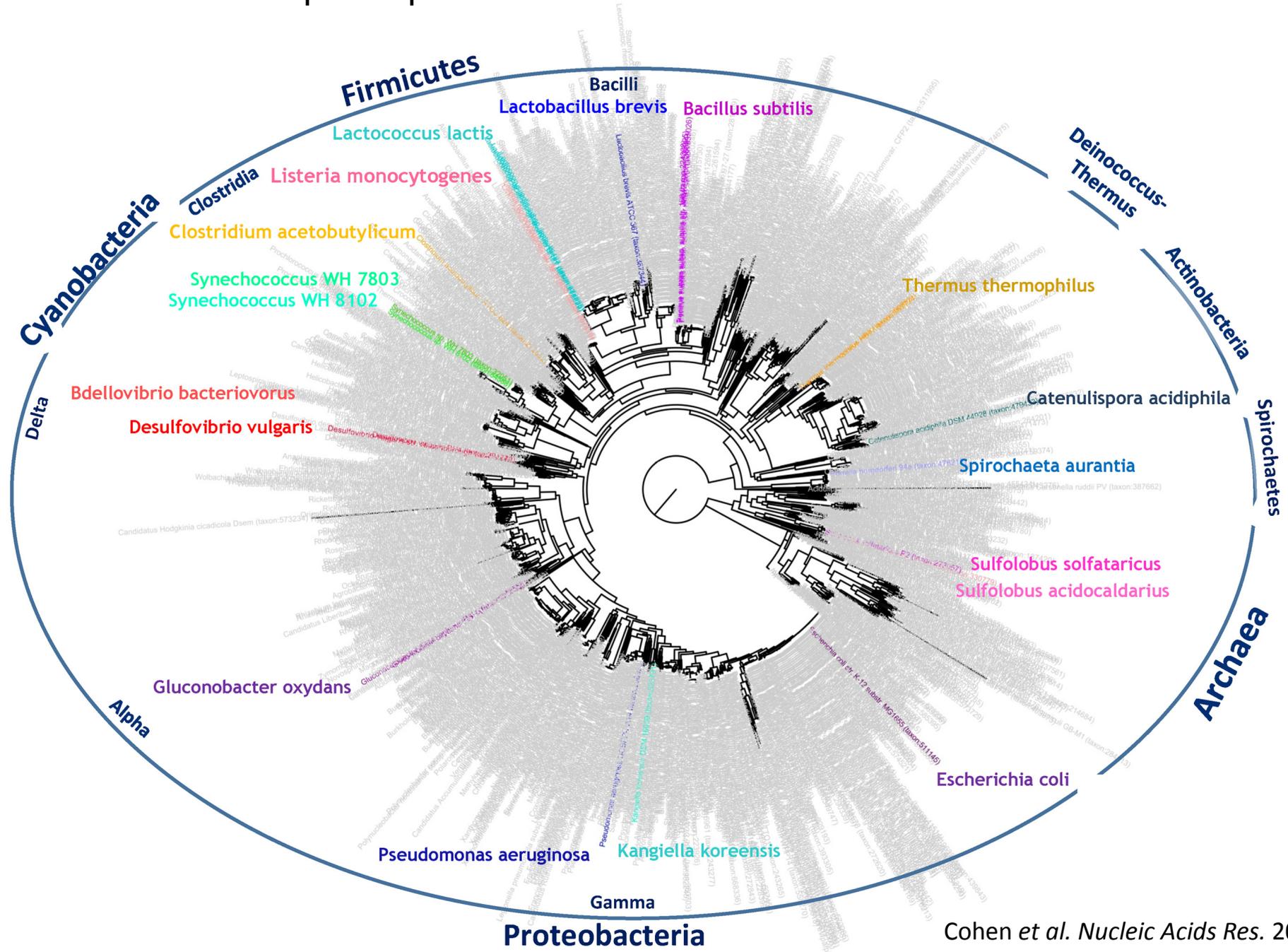
○ Approche métagénomique

Séquençage du génome
des genres bactériens
représentatifs de
chaque phylum



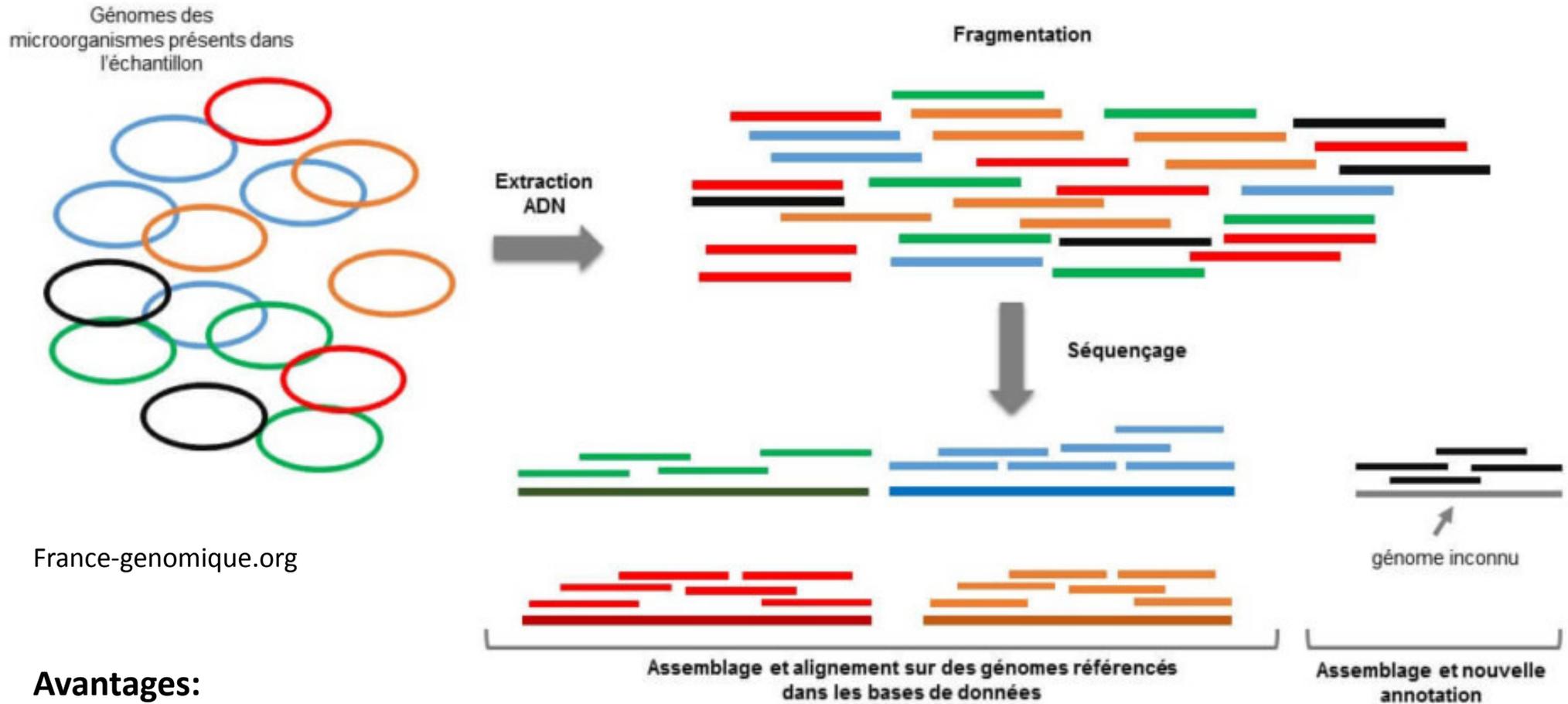
≠ phyla

○ Approche métatranscriptomique



La métagénomique *shotgun*

Identification des micro-organismes présents par séquençage de la totalité de leur génome



France-genomique.org

Avantages:

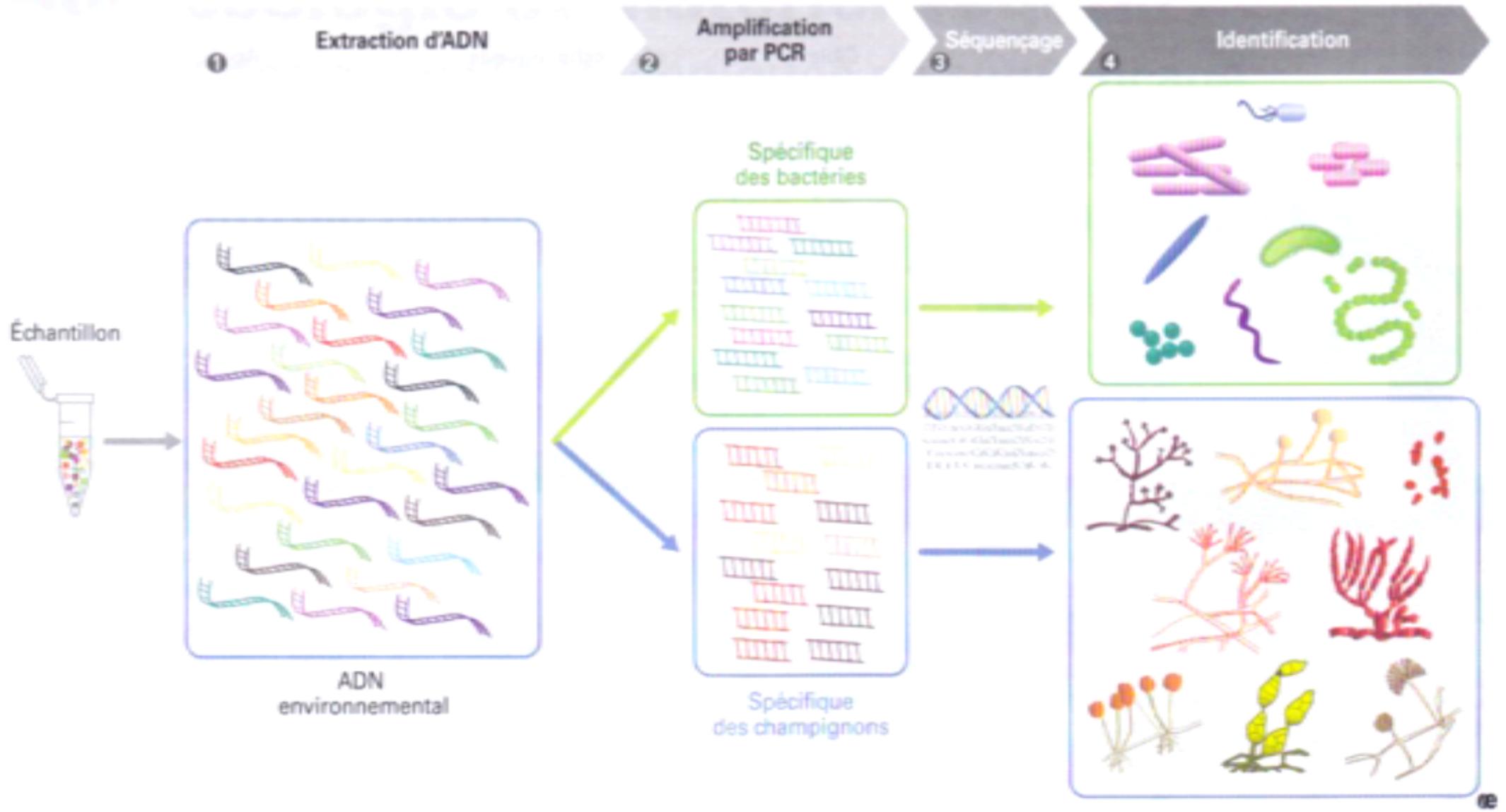
- résolution taxonomique poussée: niveau espèce, voire souche. Inclusion possible des virus
- accès aux fonctions biologiques et au potentiel métabolique du microbiome

Inconvénients:

coût, complexité de l'analyse bio-informatique

La métagénomique ciblée ou *metabarcoding*

Identification des micro-organismes présents par amplification PCR et séquençage d'une région cible

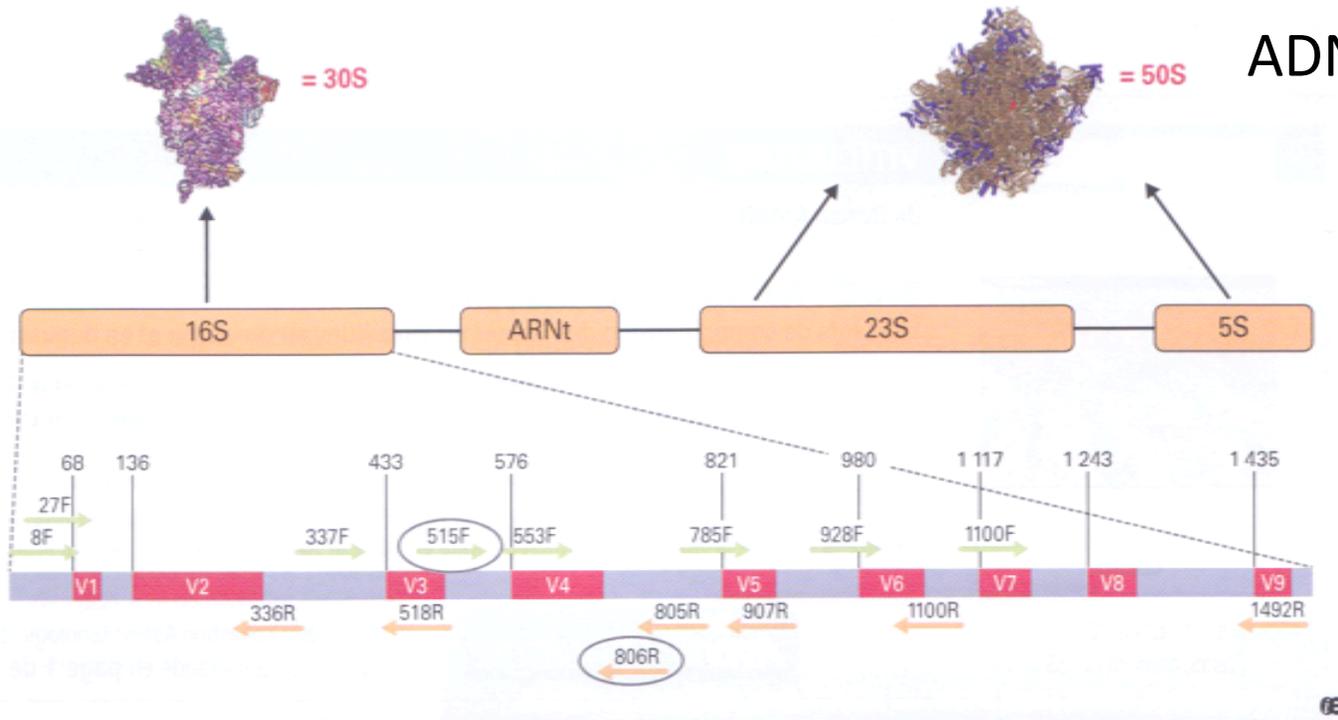


ADN ribosomal (ADNr) bactérien

PCR 16S

Amplification de la région variable V4 de l'ADNr 16S

Identification des bactéries

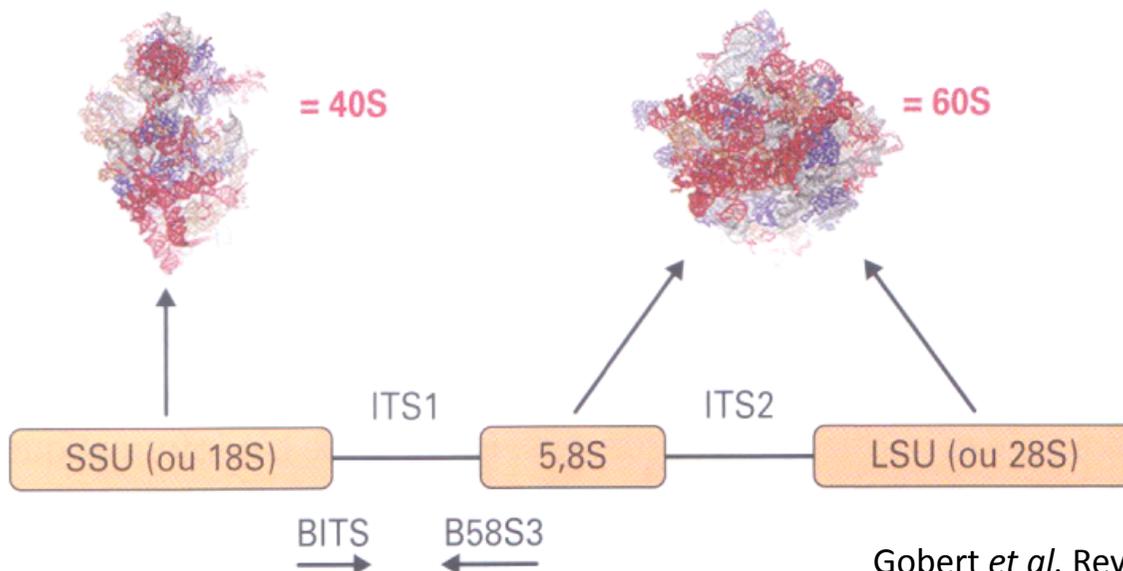


ADN ribosomal fongique

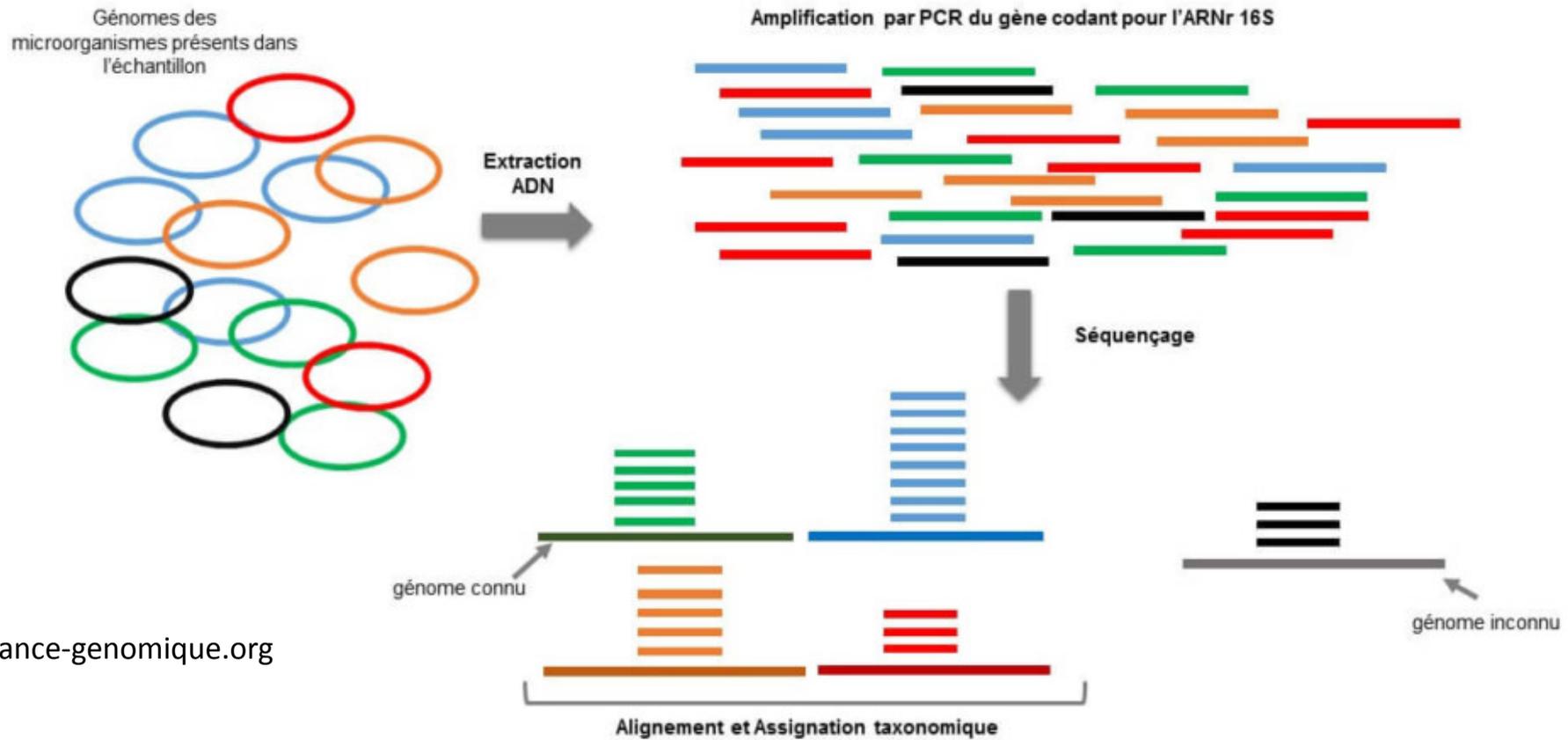
PCR ITS

amplification du locus ITS1
(internal transcribed spacer)

Identification des champignons

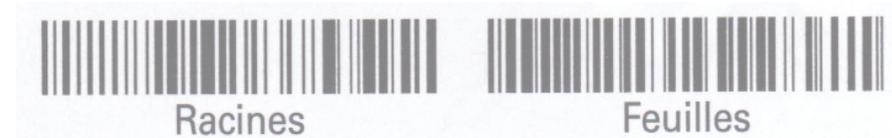


Principe de la métagénomique ciblée ou *metabarcoding*



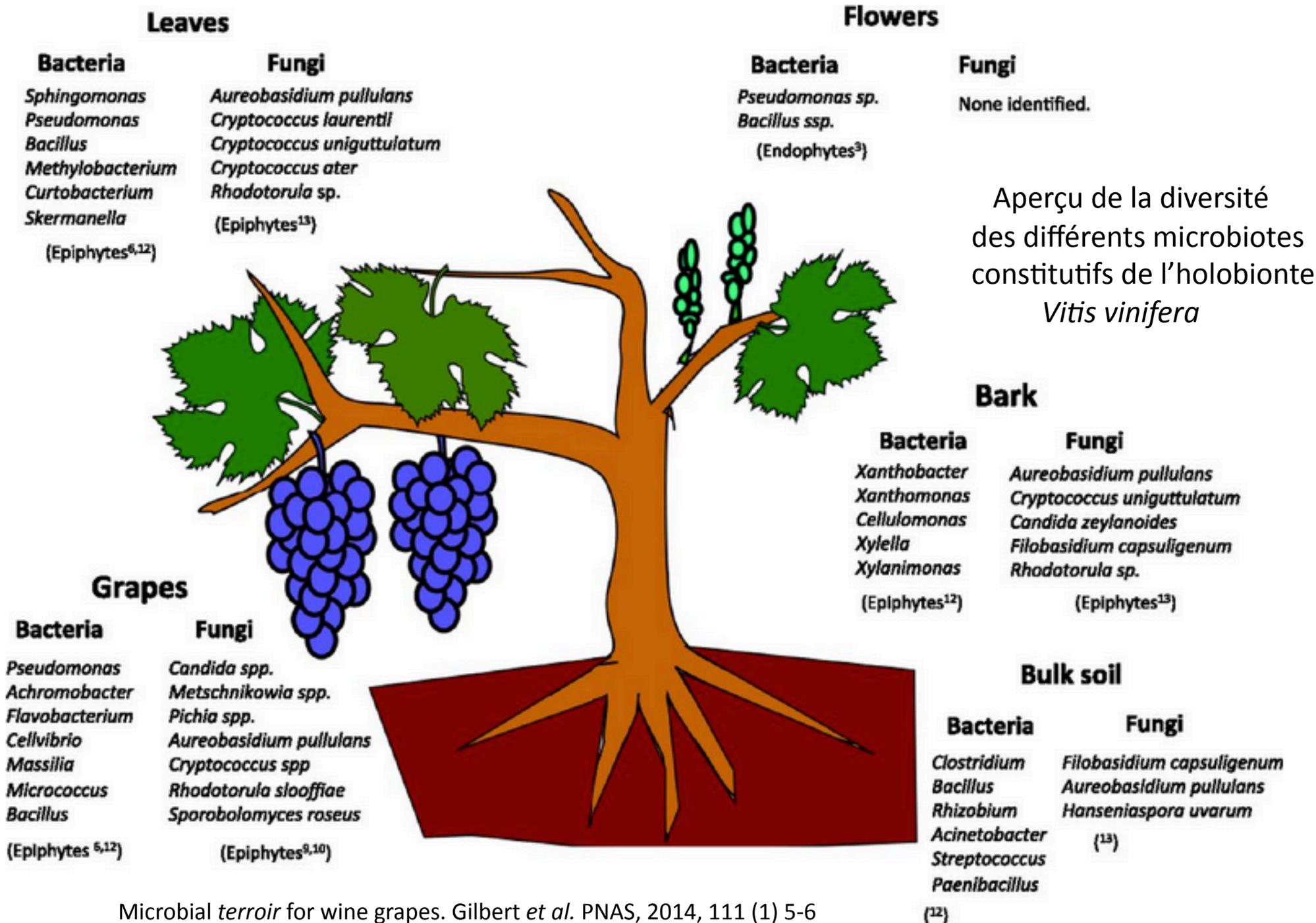
France-genomique.org

Identification des micro-organismes présents et estimation de leur abondance (code-barre) au sein du microbiote analysé

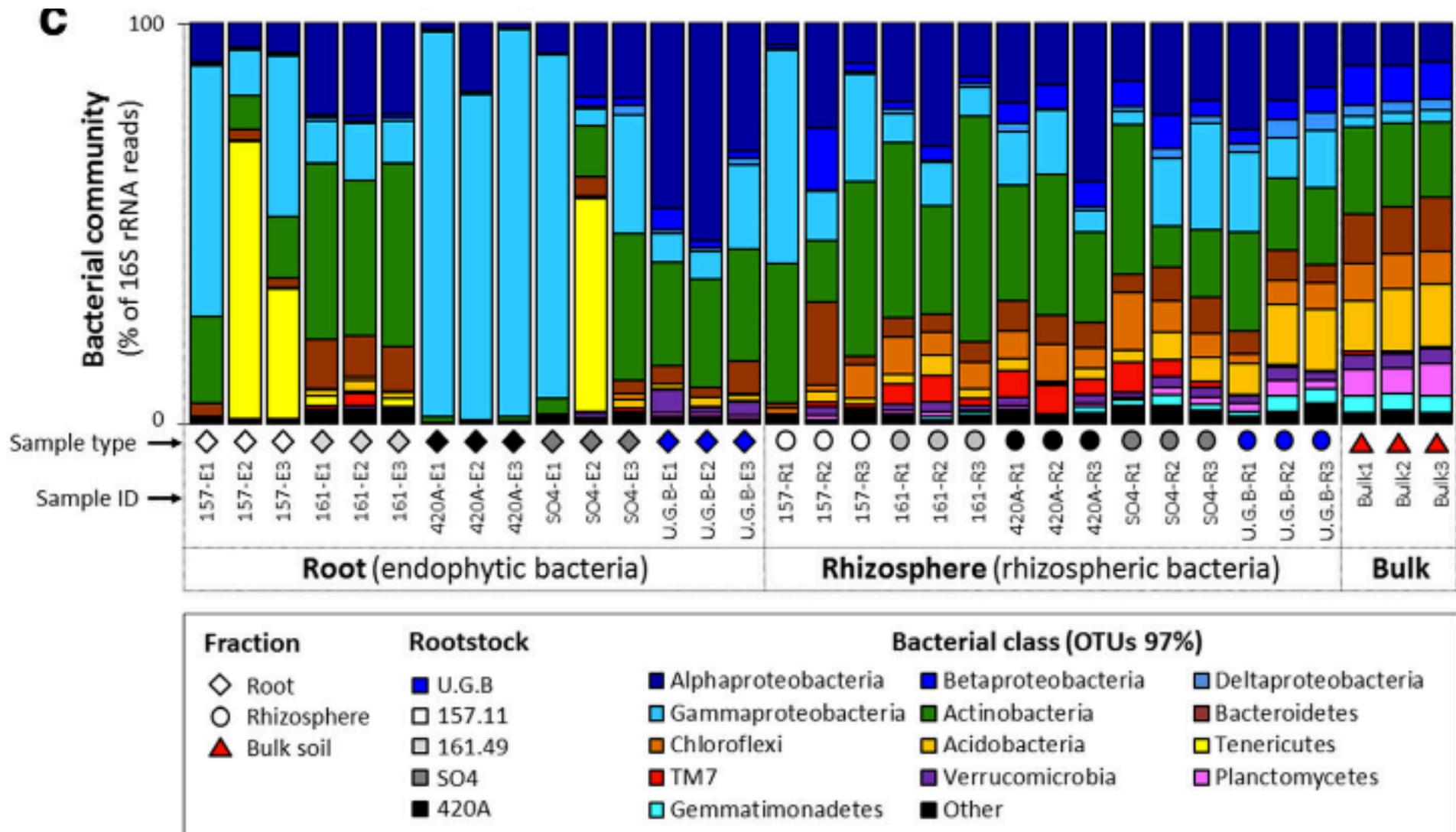


exemple: analyse de deux microbiotes issus de la vigne chaque barre correspond à une espèce microbienne et l'épaisseur de la barre signe l'abondance de l'espèce

Technique plus accessible mais moins résolutive que la métagénomique *shotgun*



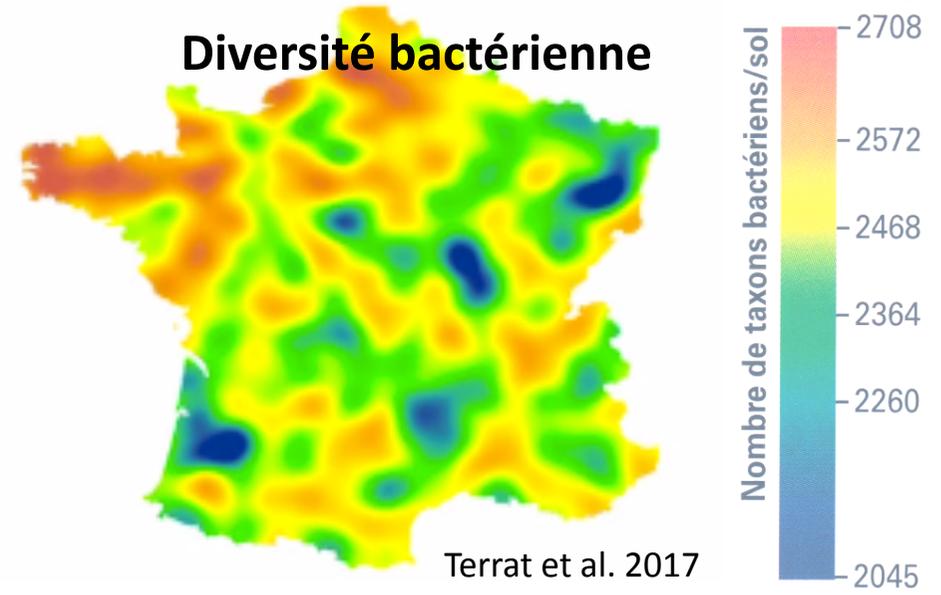
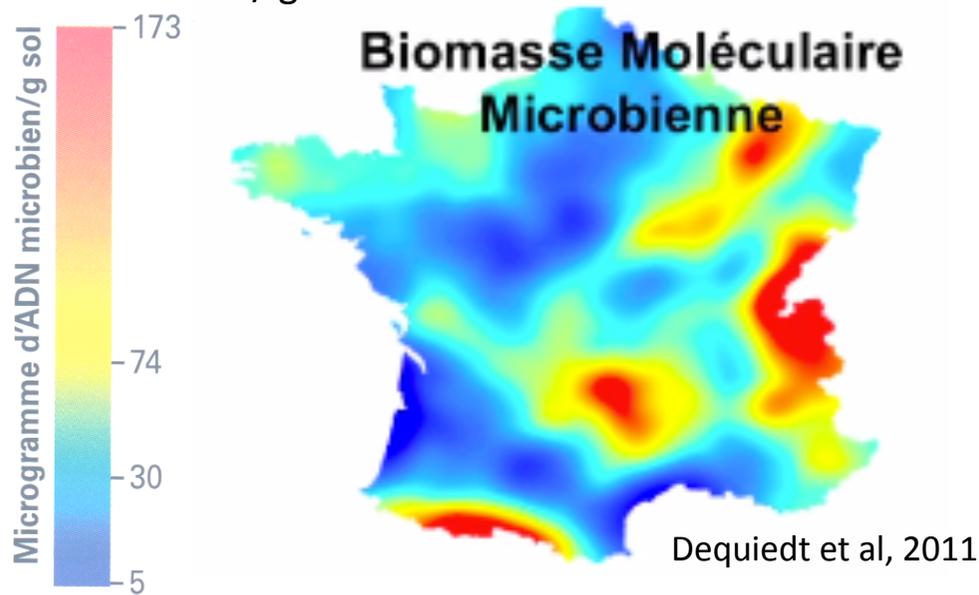
Aperçu de la diversité des différents microbiotes constitutifs de l'holobionte *Vitis vinifera*



Biomasse et biodiversité microbienne des sols viticoles

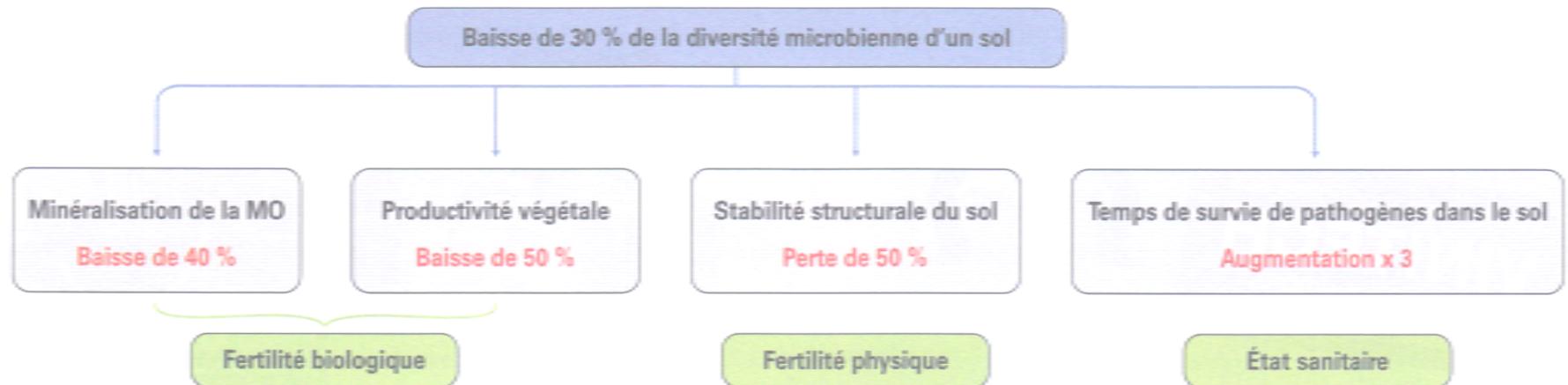
~ 10⁶ espèces de bactéries
~ 10⁵ espèces de champignons

~10⁹ bactéries/ g de sol



Absence de corrélation entre biomasse microbienne et biodiversité bactérienne

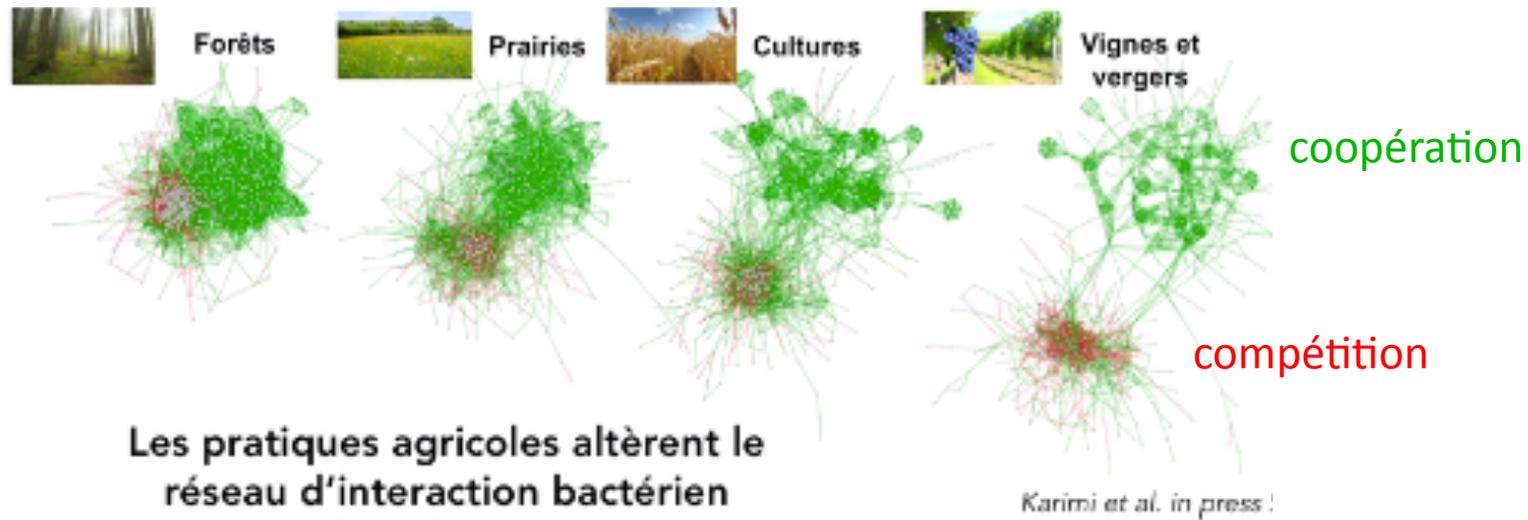
Incidence globale d'une **perte de 30 %** en biodiversité d'un sol :



Maron & Ranjard, 2018

Incidence de l'exploitation des sols sur les réseaux d'interactions entre les différents taxons bactériens présents

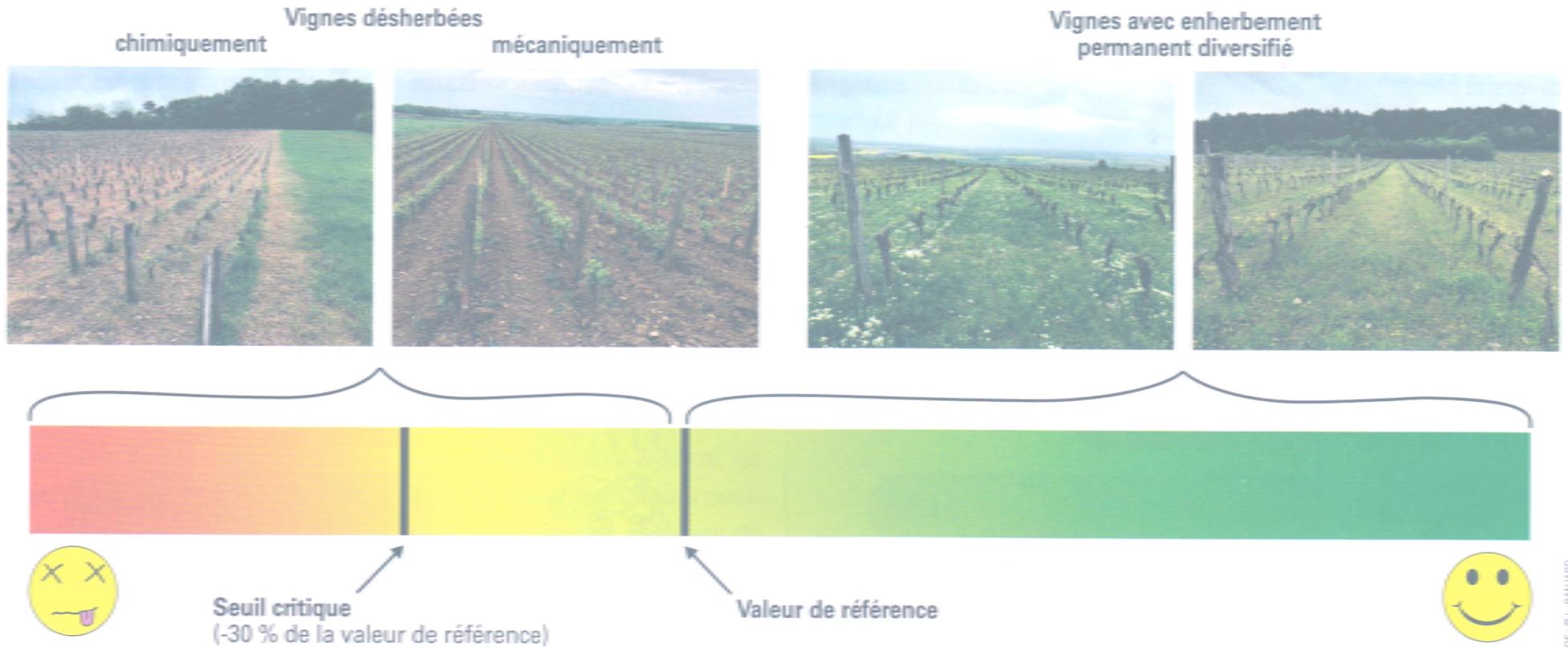
- les interactions positives (coopération) sont représentées en vert
- les interactions négatives (compétition) sont représentées en rouge



De la forêt à la vigne, on constate une perte de densité et d'homogénéité du réseau d'interactions avec individualisation de deux sous-réseaux, le compétitif étant plus homogène que le coopératif

Diagnostic microbiologique de la qualité d'un sol

Influence des pratiques culturales et du type de sol



La cohésion ou stabilité structurale d'un sol est conditionnée par la biodiversité de son microbiote

t = 1 mn



t = 5 mn



Ranjard *et al* 2019

Kit Slake test

Vert carbone

Principe et protocole (vidéo 3 mn)

<https://www.youtube.com/watch?v=pRaN6SLUPuk>

Une perte de 30 % en biodiversité
diminue de 50 % la structure du sol

Les champignons mycorhiziens du genre *Glomus*
produisent une glycoprotéine visqueuse, la glomaline
qui favorise la structuration du sol

Impact du microbiote du sol sur les caractéristiques d'un vin

Séquençage de l'ADN du sol d'une centaine de vignobles sur 4 continents

Existence de « terroirs microbiens » différents

- entre les vignobles des 4 continents
 - entre différentes régions viticoles d'un même pays
 - entre différentes parcelles d'une même région

Mise en évidence de biomarqueurs microbiens uniques en régions volcaniques (Açores)

Perspectives

Plan National du dépérissement du vignoble: *projet Hologviti*

Le constat:

Le dépérissement est lié à un déséquilibre des microbiotes qui induit un dysfonctionnement de l'holobionte

Les objectifs :

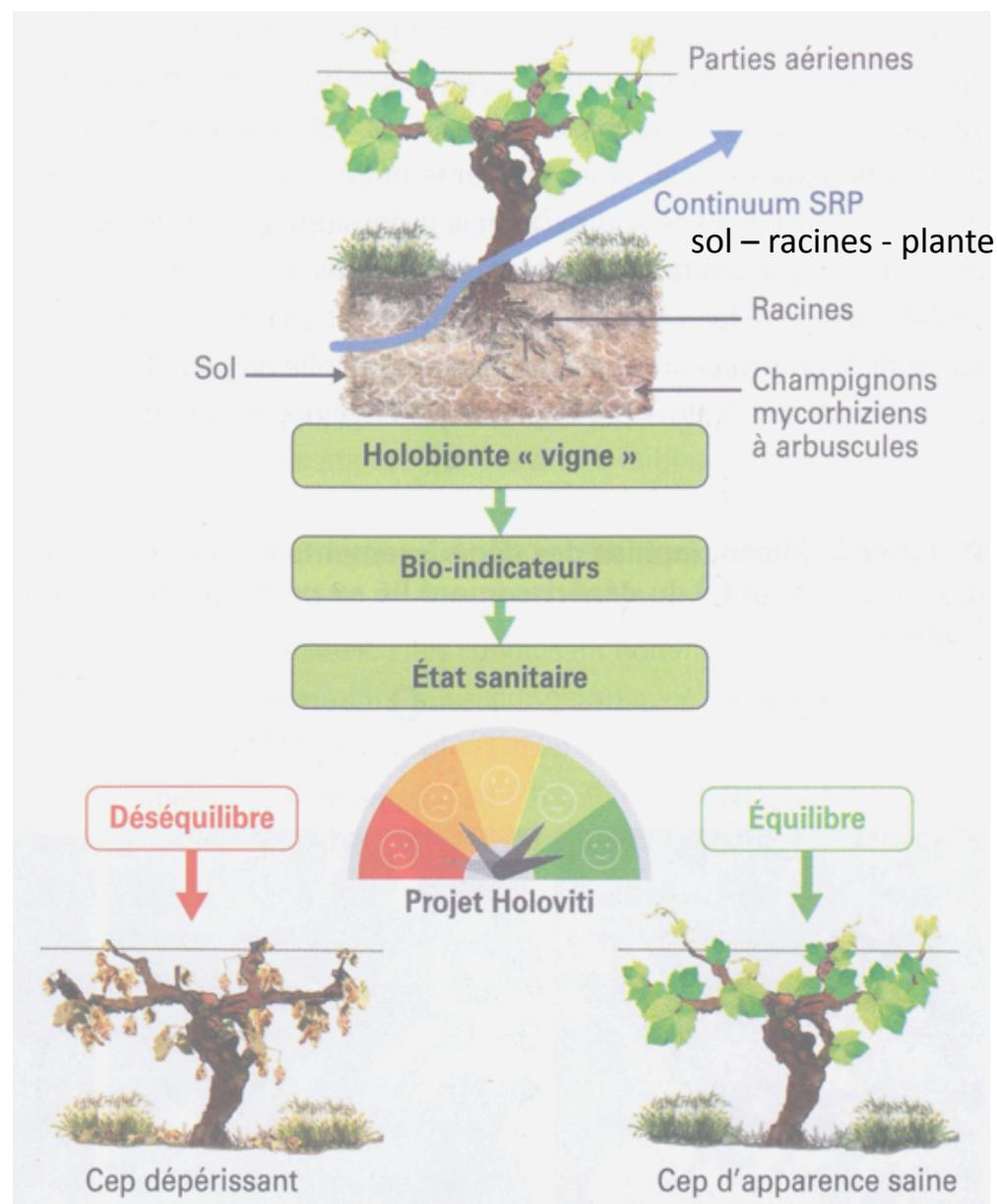
Poursuivre l'analyse des microbiotes de la vigne

Définir des marqueurs microbiens du dépérissement

Comprendre les réponses de l'holobionte aux différents stress biotiques et/ou abiotiques

Gérer les microbiotes de la vigne:

- pratiques agricoles innovantes
- ingénierie écologique

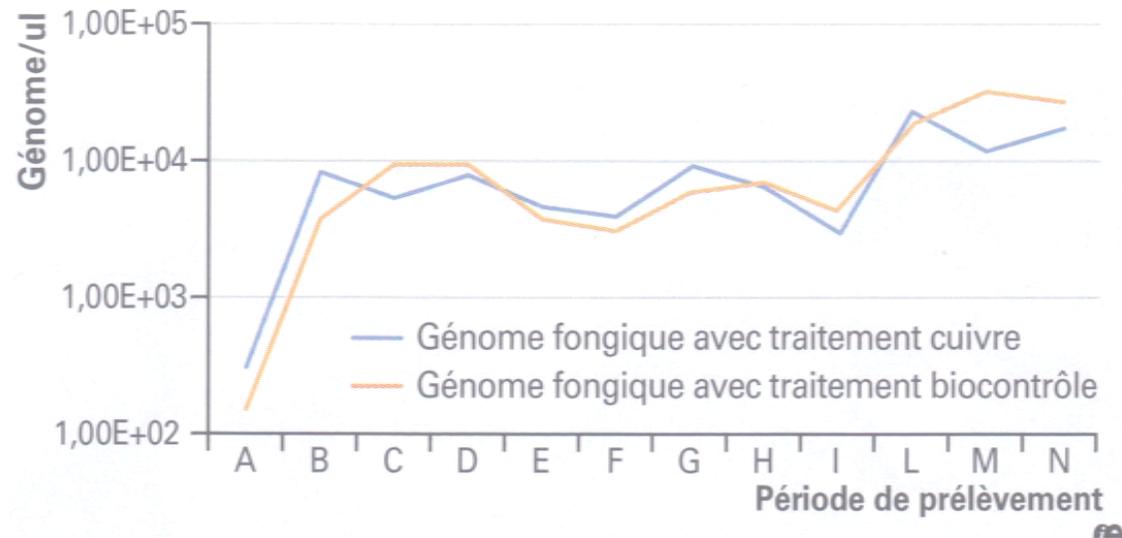


Développement d'agents de biocontrôle du développement de la vigne

Comparaison de 2 traitements :

- pulvérisation de cuivre
- application de *Lactobacillus plantarum*

Mesure dynamique du microbiote fongique tout au long de la croissance des feuilles



Impact comparable des deux traitements vis à vis du microbiote indigène et des contaminants