

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**

**Université de Blida 1**

**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES**

**Mémoire de fin d'étude**

**En vue de l'obtention du diplôme de master 2**

**Spécialité : Biologie des Interactions Plantes-Microorganismes**

**Thème**

**Pouvoir pathogène de souches bactériennes isolées de  
tubercules de pomme de terre**

**Présenté par**

**M<sup>me</sup> OULD KHAOUA Samia**

**Soutenu devant le jury composé de :**

<b>M<sup>me</sup> NEBIH. D.</b>	<b>M.C.A</b>	<b>USD-Blida</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>me</sup> KRIMI. Z.</b>	<b>professeur</b>	<b>USD-Blida</b>	<b>Promotrice</b>
<b>M<sup>me</sup> MAROK-ALIM. N.</b>	<b>Attachée de recherche</b>	<b>INRAA</b>	<b>Co-promotrice</b>
<b>M<sup>me</sup> BENOUSSAID.N.</b>	<b>Maitre assistante</b>	<b>USD-Blida</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup> DJELOUT.H.</b>	<b>Doctorante</b>	<b>USD-Blida</b>	<b>Invitée</b>

**Année universitaire 2015/2016**

## *Remerciements*

Je remercie **Dieu** le tous puissant de m'avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

J'exprime d'abord ma gratitude, mes profonds remerciements et mes respects à ma promotrice **M<sup>me</sup> KRIMI Z.** de m'avoir accueillie au sein du laboratoire de phytobactériologie. Je la remercie également pour sa disponibilité, ses précieux conseils, ses orientations judicieuses et la confiance qu'elle m'accordée pour la réalisation de ce travail.

Mes vifs remerciements et respects s'adressent à ma co-promotrice **M<sup>me</sup> MAROK-ALIM N.** pour m'avoir encadré et orienter pour la finalisation du présent travail.

Je tiens à remercier **M<sup>me</sup> NEBIH D.** de m'avoir honoré en acceptant d'être présidente du jury. Aussi, j'exprime mes vifs remerciements à **M<sup>me</sup> BENOUSSAID N.** et **M<sup>me</sup> DJELOUT H.** pour le temps consacré à l'examen ce modeste travail.

Mes remerciements sont également adressés à **M<sup>me</sup> AMMAM S.** ingénieur du laboratoire de phytobactériologie pour ces conseils et ses encouragements.

En fin, un remerciement spécial à ma chère collègue de laboratoire **HARKABI Halima** pour son soutien moral, sa solidarité et son aide, sans oublier de remercier aussi mes camarades et mes amies de la promotion **BIPM** (2015/2016).

*OULD\_KHLOUA Samia*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail avec une énorme joie et un infini plaisir aux deux merveilleuses personnes qui m'ont aidé et guidé vers la voie de la réussite :*

*A mes chers parents pour leur attention et leur sacrifice*

*Que DIEU m'aide à les honorer et exprimer ma profonde reconnaissance pour tout ce qu'ils m'ont offert d'amour, de soutien et d'encouragements*

*Je le dédie aussi à :*

*A mon merveilleux marié pour ses encouragements et son soutien*

*A ma chère sœur et mes chers frères*

*A ma belle-mère et mon beau-père*

*Et à tous ce qui m'ont aidé pour l'aboutissement de ce modeste travail.*

*OULD\_KHAOUA Samia*

# **Pouvoir pathogène des souches bactériennes isolées de tubercules de pomme de terre**

## **Résumé**

Cette étude a été effectuée afin de tester le pouvoir pathogène d'une collection de souches bactériennes isolées à partir des tubercules de la pomme de terre et par la suite évaluer leur pathogénicités vis-à-vis trois plantes hôtes à savoir : le tabac, la tomate et l'aubergine.

Nous avons entrepris notre travail par la réalisation du test d'hypersensibilité sur le tabac, ce dernier a révélé des réponses variables. Parmi les 58 isolats testés, 38 isolats provoquent la réaction d'hypersensibilité sur tabac qui se traduit sous forme de nécrose localisé au niveau de la partie infiltrée.

Par la suite, la réalisation du test du pouvoir pathogène sur tomate a montré que sur un totale de 58 souches testées et inoculées aux plants de tomate, 24 souches ont répondu positivement ce qui signifie que 41% des souches provoquent des symptômes de jaunissement, flétrissement et de nécroses marginales.

La réalisation du test du pouvoir pathogène sur l'aubergine a montré que sur un totale de 58 souches testées et inoculées aux plants d'aubergine, 47 souches ont répondu positivement ce qui signifie que 81% des souches provoquent des symptômes de jaunissement, de chute des feuille, un aspect tacheté des feuilles ainsi que des flétrissements.

Les différentes réponses aux tests réalisés, nous permettent de constater que nos souches bactériennes appartiennent à différents groupes, ce qui signifie la présence de trois principaux genres bactériens.

**Mots clés :** souches bactériennes, hypersensibilité, pouvoir pathogène, pomme de terre, Solanacée.

# **The pathogenicity of a bacterial strains isolated from potato tubers**

## **Abstract**

This study was performed to test the pathogenicity of a bacterial strains collection isolated from the potato tubers and assess their pathogenicity against: tobacco, tomato and eggplant.

The realization of hypersensitivity test on tobacco showed variable responses. Among the 58 isolates tested, 38 isolates causes the tobacco hypersensitivity reaction in the form of localized necrosis at the infiltrated part.

Thereafter, performing the test of pathogenicity on tomato showed that a total of 58 strains tested and inoculated to tomato seedlings, 24 strains responded positively which means that 41% of the strains cause yellowing symptoms, wilting of leaves and marginal necrosis.

Performing the test of pathogenicity on eggplant showed that a total of 58 strains tested and inoculated to eggplant, 47 strains responded positively which means that 81% of the strains cause symptoms of yellowing, wilting, falling leaves and the mottled leaves.

The different responses to the tests carried out, allow us to note that our bacterial strains belong to different groups, wich mean the presence of three main bacterial genera.

**Keywords:** bacterial strains, hypersensitivity reaction, pathogenicity, potato, Solanaceae

## القدرة التمريضية لسلاسل بكتيرية معزولة

وتقييم	البكتيرية	أجريت هذه الدراسة لاختبار القدرة التمريضية شراستها تجاه
	بين 58	أظهر اختبار فرط الحساسية على التبع استجابات متباينة. 38 الحساسية ظهور
	حيث 4 من أصل 58 عزلة تم اختبارها و تلقحها على	التمريضية
	يعني 41	' 24 عزلة أظهرت استجابة إيجابية و نخر هامشي
	أنه من أصل 58 عزلة تم اختبارها و تلقحها على شتلات	التمريضية
	يعني 81	' 47 عزلة أظهرت استجابة إيجابية مظهر مبقع

سمحت لنا الإستجابات المختلفة للاختبارات التي أجريت أن نلاحظ أن هذه السلالات البكتيرية ت  
مجموعات مختلفة مما يعني وجود ثلاث أجناس بكتيرية.

مفتاحية : البكتيرية رد فعل فرط الحساسية، المرضية، اذنجاني .

## *Liste des figures et tableaux*

<b>Figure 1</b> : Description générale du plant de pomme de terre .....	3
<b>Figure 2</b> : Symptôme de jambe noire.....	11
<b>Figure 3</b> : Tubercules de pommes de terre infectées par Pba 709 après trois jours d'incubation à 24 °C et à 100% d'humidité relative.....	12
<b>Figure 4</b> : symptômes causés par <i>Ralstonia solanacearum</i> : flétrissement et rabougrissement des plants de pommes de terre.....	15
<b>Figure 5</b> : symptômes causés par <i>Ralstonia solanacearum</i> sur tubercule de pomme de terre : exsudat bactérien à partir de tissus vasculaires (anneau vasculaire).....	16
<b>Figure 6</b> : symptômes du flétrissement bactérien causés par <i>Clavibacter michiganensis subsp Sepedonicus</i> sur la pomme de terre: enroulement et nécrose des feuilles.....	18
<b>Figure 7</b> : symptômes du flétrissement bactérien causés par <i>Clavibacter michiganensis subsp Sepedonicus</i> sur le tubercule de pomme de terre.....	19
<b>Figure 8</b> : quelques étapes de purification.....	24
<b>Figure 9</b> : la réalisation du test de la réaction d'hypersensibilité .....	25
<b>Figure 10</b> : la réalisation du test du pouvoir pathogène .....	26
<b>Figure 11</b> : les différents résultats de la réaction d'hypersensibilité causée par les isolats bactériens testés.....	28
<b>Figure 12</b> : la réponse des plants de tomates après l'inoculation.....	29
<b>Figure 13</b> : la réponse des plants d'aubergine au test du pouvoir pathogène après un mois.....	30

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : les races de <i>R. solanacearum</i> .....	14
<b>Tableau 2</b> : résultats de la réaction d'hypersensibilité inoculée par les isolats bactériens testés.....	29
<b>Tableau 3</b> : résultats du test du pouvoir pathogène inoculée par les isolats bactériens testés sur la tomate.....	31
<b>Tableau 4</b> : résultats du test du pouvoir pathogène inoculée par les isolats bactériens testés sur l'aubergine.....	33
<b>Tableau 5</b> : relation entre l'agent phytopathogène et les différents symptômes obtenus.....	33



## *Liste des abréviations*

<b>AHL</b>	N-acylhomoserine lactone
<b>CFU</b>	Colony forming units
<b><i>Cms</i></b>	<i>Clavibacter michiganensis subsp sepedonicus</i>
<b>CVP</b>	cristal violetont pectate
<b>DO</b>	Densité optique
<b><i>Ech</i></b>	<i>Erwinia chrysanthemi</i>
<b>ELISA</b>	Enzyme linked immunosorbent assay
<b>EPS</b>	exopolysaccharides
<b>HR</b>	hypersensitive reaction
<b><i>Hrp</i></b>	hypersensitive reaction and pathogenicity
<b>LPGA</b>	Levure peptone glucose agar
<b>MT</b>	millions de tonne
<b>NAPPO</b>	North American Plant Protection Organization
<b>OEPP</b>	Organisation Européenne de la Protection des Plantes
<b><i>Pba</i></b>	<i>Pectobacterium atrosepticum</i>
<b><i>PCD</i></b>	<i>Programmed cell death</i>
<b><i>Pcc</i></b>	<i>Pectobacterium carotovorum subsp. Carotovorum</i>
<b>PCR</b>	Polymerase chain reaction
<b>PLRV</b>	<i>Potato Leaf Roll Virus</i>
<b><i>PVX</i></b>	<i>Potato virus X</i>
<b><i>PVY</i></b>	<i>Potato Virus Y</i>
<b>RFLP</b>	Restriction Fragment Length Polymorphism
<b><i>Rs</i></b>	<i>Ralstonia solanacearum</i>
<b>SPA</b>	sucrose peptone agar
<b>SST3</b>	système de sécrétion de type III
<b><i>Subsp</i></b>	<i>sous espèces</i>

# **Introduction**

### Introduction

La pomme de terre représente la quatrième production végétale dans le monde, après le maïs, le blé et le riz, cette culture est cultivée dans plus de 150 pays sur une superficie de 20 millions d'hectares et une production moyenne de 323 million de tonnes (**Stevenson et al., 2001**).

En Algérie, La culture de pomme de terre occupe une position dominante dans le système maraîcher par les surfaces qui lui sont consacrées, ses volumes de production, les emplois qu'elle génère et sa grande mobilisation des ressources en termes de moyens d'intrants et de régulation de la production par le froid (**Anonyme, 2008**). La filière de pomme de terre est la seconde par ordre d'importance après le blé, occupant en 2011 une superficie de 100.000 ha, pour une production qui atteint le chiffre record de 3.8 millions de tonnes (**Anonyme, 2011**).

Contrairement aux pays septentrionaux où la pomme de terre est cultivée durant une saison, en Algérie elle est cultivée tout au long de l'année surtout sur la côte méditerranéenne qui jouit d'un climat tempéré (**Anonyme, 2008b**).

Les microorganismes et notamment les bactéries sont à l'origine de multiples graves maladies de la pomme de terre. Parmi ces bactéries phytopathogènes, *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. sont responsables de la pourriture molle des tubercules de pomme de terre en post-récolte et de la jambe noire de la pomme de terre au champ ; ainsi que *Ralstonia solanacearum* et *Clavibacter michiganensis subsp sepedonicus* respectivement agents de la pourriture brune et de la pourriture annulaire qui sont classées parmi les bactéries de quarantaines. Ces bactéries causent des pertes extensives au niveau de la culture de la pomme de terre et pèse lourdement sur l'agriculture et l'économie de nombreux pays (**Anonyme, 2008 ; Perseley, 1986 ; Hayward, 1991 ; Davis et al., 1997 ; Franc, 1999**).

## *Introduction*

---

Le contrôle de ces maladies de plantes se doit être efficace en utilisant des méthodes de lutte conventionnelles représentées par les méthodes physiques, chimiques, génétiques, biologiques et les facteurs humains (**Bonnemaine et Chollet; 2003**).

Les méthodes de lutte chimiques sont efficaces contre les champignons par l'utilisation de fongicides alors les maladies virales et bactériennes sont incurables et nécessitent des moyens de lutte préventifs (**Buoziani, 2007**) qui assurent une réduction importante de la dissémination de la maladie (**Lepoivre, 2003**).

Dans le présent travail, nous avons étudié le pouvoir pathogène d'une collection de souches bactériennes isolées de tubercules et de pomme de terre destinés à la consommation et à la multiplication . De ce fait, nous avons entamé notre étude par la réalisation d'un test d'hypersensibilité sur tabac pour l'ensemble des souches de la collection bactérienne.

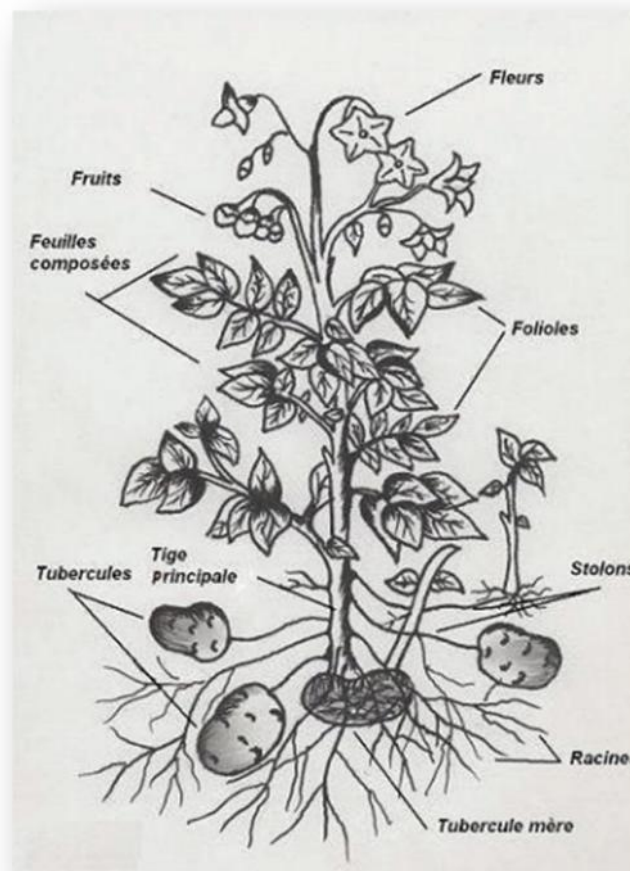
Par la suite, nous avons réalisé le test du pouvoir pathogène sur deux plantes de la famille des Solanacée à savoir la tomate et l'aubergine et qui sont supposés être des plantes hôtes de nos souches bactériennes.

**Chapitre I :**  
**Revu bibliographique**

## 1. Généralité sur la pomme de terre

### 1. 1. La biologie de la pomme de terre

La pomme de terre (*Solanum tuberosum*) est une plante vivace à multiplication végétative. Outre la pomme de terre, la famille des Solanacées comprend aussi la tomate, le tabac, le piment, l'aubergine, le pétunia, etc. (Solstner, 1983).



**Figure 1 :** Description générale du plant de pomme de terre (Vanderhofstadt et Jouan, 2009).

La pomme de terre « *Solanum tuberosum* » appartient au :

**Règne :** *Plantae*.

**Embranchement :** *Phanérogames*.

**Division :** *Angiospermes*.

**Classe :** *Dicotylédones*.

**Ordre :** *Solanales*.

**Famille :** *Solanaceae*.

**Genre :** *Solanum*.

**Espèce :** *Solanum tuberosum* (Linné., 1753).

L'espèce *Solanum andigenum* est originaire de la région centrale de la Cordillère des Andes à une altitude supérieure à 2.000 mètres. La pomme de terre actuellement cultivée est la sous-espèce *Solanum tuberosum*, sa domestication remonte à plus de 8000 ans (Clement, 1981). La pomme de terre a été introduite en Europe au XVI<sup>ème</sup> siècle grâce aux navigateurs Espagnols. Elle s'est ensuite répandue au point d'être l'une des rares plantes cultivées sous toutes les latitudes (Anonyme, 2008a).

La plante est vivace grâce à ses tubercules, à condition que le climat lui permette de survivre à la saison froide, mais généralement cultivée comme une plante annuelle (CLEMENT, 1981).

En Algérie, la pomme de terre est surtout cultivée sur la côte méditerranéenne, qui jouit d'un climat tempéré propice à sa culture tout au long de l'année. On en trouve aussi à 500 mètres, sur les montagnes et les vallées entre la côte et les monts Atlas ainsi que sur les hauts plateaux (Anonyme, 2008a).

## 1. 2. La production de la pomme de terre

La pomme de terre est l'une des denrées alimentaires de base dans le monde, produisant une importante quantité de matière sèche et de protéines à l'hectare (Storey et Davies, 1992). Elle est la quatrième culture mondiale après le blé, le riz et le maïs. Les principaux producteurs sont dans l'ordre la Chine (64,8 millions de tonne) (Mt), la Russie (36,8 Mt), l'Inde (28,6 Mt), les États-Unis (20,4 Mt) et l'Ukraine (19,1 Mt) (Anonyme, 2007).

En Algérie, la filière de pomme de terre continue d'enregistrer des performances encourageantes grâce à la mise en synergie des différents acteurs de cette filière telle que l'introduction des techniques de production et de conservation et ainsi que le professionnalisme des agriculteurs. Les statistiques indiquent que la production a atteint 3,2 MT en 2010 contre 2,67 MT en 2009 et 2,2 millions de tonnes en 2008 (**Anonyme, 2012**). La filière prévoit d'augmenter progressivement le rendement à l'hectare qui est actuellement de 25 tonnes pour atteindre, en définitive, un niveau de production de 4 millions de tonnes/an dès 2014.

## 2. Les maladies de la pomme de terre

La pomme de terre représente l'une des productions végétales les plus affectées par les maladies, en raison de son mode de multiplication végétative qui favorise le maintien et la propagation des germes d'agents pathogènes (**Agrios, 1997**). Cela fait de la pomme de terre l'une des cultures les plus traitées par les pesticides (**De Boer, 1994**).

### 2. 1. Les ravageurs

Les ravageurs de la pomme de terre regroupent l'ensemble des espèces animales qui causent des dégâts aux cultures au champ, au cours du transport ou du stockage (**Blok et al., 2006**).

La teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella* cause des dégâts sur les feuilles et les pétioles par perforation et les chenilles creusent des galeries superficielles dans les tubercules (**Gregory, 1977**).

Les pucerons (*Muzys persicea*) causent de petites taches pales avec un léger enroulement des feuilles ; la nuisibilité des pucerons tient surtout à leur rôle de vecteurs des maladies à virus (**Soltener, 1998**).

Les termites causent également d'importants dégâts aux plantes en général et à la pomme de terre en particulier, c'est ainsi qu'ils peuvent miner les tiges, les racines et tubercules, provoquant ainsi l'affaiblissement ou bien le jaunissement de celles-ci (**Clement, 1981 ; Jean, 2000**).



En fin les nématodes parasites de la pomme de terre sont essentiellement les nématodes à kystes tel que *Globodera pallida* et *Globodera rostochiensis* (Clement, 1981 ; Jean, 2000). Ces deux espèces causent des dommages correspondent essentiellement à une diminution des rendements (tailles et poids des tubercules), consécutive à une mauvaise croissance du végétal (entre-nœuds courts et nanisme) (Rousselle et al, 1996).

## 2. 2. Les maladies fongiques

Les maladies fongiques sont les plus nombreuses maladies de la pomme de terre dont les plus décrites sont le Mildiou dû au *Phytophthora infestans*, ce champignon attaque les feuilles, les tiges et les tubercules qu'il détruit entièrement, le tubercule infecté constitue la première source d'inoculum (Jean, 2000).

De plus, les plus importants dégâts de l'Alternariose causée par *Alternaria solani* et *Alternaria alternata*, sont occasionnés en climat chaud mais la maladie est plus sévère lorsque les cultures sont irriguées. La Rhizoctoniose est causée par *Rhizoctonia solani*, le tubercule atteint par cette maladie porte à sa surface de petits amas noirs de sclérotés même après lavage (Jean, 2000).

La Sclérotiniose due à *Sclerotium sclerotiorum* et *Sclerotium rolfsii* se caractérisent en végétation par une pourriture de la base des tiges avec présence d'un mycélium blanchâtre, avec présence de sclérotés noirs à l'intérieur de celle-ci. Les tubercules atteints pourrissent au champ, pendant le transport ou lors de leur conservation (Dallaire, 2008).

En fin les agents de pourritures sèches sont des champignons du genre *Fusarium* (*F. solani* var. *coeruleum*, *F. roseum* var. *sambucinum*, *F. oxysporum*) qui infectent surtout les tubercules par des blessures. La pourriture sèche est un des plus graves problèmes de conservation de la pomme de terre (Anonyme, 2008a).

### 2. 3. Les maladies virales

Plus de 35 virus infectent naturellement la pomme de terre à travers le monde, Ils sont tous transmis par pucerons (**Marchoux et al., 2008**).

Parmi ces virus, les plus connus sur la culture de pomme de terre sont le virus Y de la pomme de terre (PVY ou *Potato virus Y*), les symptômes allant d'une mosaïque légère à sévère avec des nécroses foliaires et finalement la mort des plants infectés (**Stevenson et al., 2001**).

Le virus de l'enroulement de la pomme de terre (*Potato Leaf Roll Virus*), les symptômes de la maladie se traduisent par une chlorose ou un enroulement des folioles, ou alors par un nanisme des plants quand c'est le tubercule qui est infecté. Du point de vu économique, le PLRV est considéré comme l'un des virus les plus dommageables en culture de pomme de terre (**Stevenson et al., 2001**).

Le virus X de la pomme de terre (*Potato Virus X*) est très répandu dans le monde, le symptôme principal de la maladie va d'une mosaïque légère à sévère en fonction des souches. Les infections graves conduisent à un nanisme des plantes et une nécrose des tubercules (**Stevenson et al., 2001**).

### 2. 4. Les maladies bactériennes

Parmi les pathogènes qui affectent la pomme de terre, les bactéries sont responsables de dégâts potentiellement importants. *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* et *Ralstonia solanacearum* respectivement agents de la pourriture annulaire et de la pourriture brune sont classées parmi les bactéries de quarantaine. Elles font, à ce titre, l'objet de mesures visant à éviter leur introduction ou limiter leur incidence le cas échéant. Les *Pectobacterium* sp. et *Streptomyces* sp. qui provoquent respectivement les symptômes de pourritures molles et de gale commune (pustules ou liège) sont des parasites de qualité. Les *Erwinia* sont à redouter par les dégâts qu'elles peuvent provoquer en végétation et en conservation (**Anonyme, 2008b**).

## 2. 4. 1. la pourriture molle provoquée par *Pectobacterium sp* et *Dickeya sp*

Au cours des dernières années, une augmentation de maladies dues aux bactéries *Pectobacterium* a été constatée. Ce groupe de bactéries est classé parmi les agents pathogènes les plus importants économiquement pour la culture de pommes de terre (Hélia, 2008).

La pourriture molle est la plus importante maladie bactérienne de la pomme de terre à l'échelle mondiale (De Boer, 1994). Les tubercules peuvent être infectés au champ avant la récolte ou pendant le stockage (Corcuff et al., 2011).

Les semences et les sols infectés sont les principales sources d'inoculum, et la propagation de l'infection au champ est facilitée par les eaux d'irrigation et de pluie. La dissémination en entrepôt est de son côté assurée par la macération de tubercules pourris et par les insectes (Yaganza, 2005).

### 2. 4. 1. 1. Caractéristiques phénotypiques

Les genres *Pectobacterium* et *Dickeya*, anciennement regroupés sous le genre *Erwinia*, appartiennent à la famille des Entérobactériacées. Ce sont des bactéries phytopathogènes Gram (-), anaérobiques facultatives, ayant une forme de batonnet (0,5 - 1 µm de diamètre sur 1- 3 µm de longueur) et munies de flagelles péritriches (Hauben et Swings, 2005; Charkowski, 2006).

Oxydase négative et catalase positive (Dickey et al., 1984). Elles sont capable de réduire les nitrates, fermenter le glucose et la produire de l'acide à partir de certains hydrates de carbone (méliobiose, D-arabitol ou tréhalose). Leur température optimale de croissance se situe entre 27°C et 35°C selon les espèces (Perombelon et Kelman, 1980).

#### a. *Pectobacterium atrosepticum*

*P. atrosepticum* est la nouvelle appellation d'*Erwinia carotovora subsp. atroseptica*. classée en espèce, *P. atrosepticum* est généralement associé au symptôme de la jambe noire de la pomme de terre dans les région tempérées (Pérombelon et Kelman, 1980).

Elle se développe préférentiellement entre 15 et 25 °C, entraînant des pourritures des tubercules et des tiges (**Pérombelon et Kelman, 1987**). En climat tempéré, la bactérie a pour hôte principal la pomme de terre (**Pérombelon et Kelman, 1980**). Bien que des souches aient été occasionnellement isolées de tomates (**Barzic et al., 1976**), de choux chinois (**De Boer et al., 1987**) et de poivrons (**Stommel et al., 1996**). L'association préférentielle de *P. atrosepticum* à la pomme de terre peut être expliquée en termes de concordance entre les exigences écologiques de la bactérie et celles de cette culture (**Pérombelon, 1992b**).

**b. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum***

L'espèce *P. carotovorum* comprend deux sous espèces dont *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, pathogène de la pomme de terre (**Gardan et al ; 2003**). *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* anciennement *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* est une bactérie opportuniste qui affecte une gamme d'hôtes très large (légumes, tournesols, tabac, etc.) dans des aires géographiques étendues (régions tropicales et tempérées). Psychotrophe, elle est capable de se développer à des températures allant de 20°C à 30°C (**Pérombelon, 2002**).

Le symptôme de la jambe noir, connu comme étant caractéristique de *P. atrosepticum* en conditions fraîches, peut également être provoqué par *P. c.* subsp. *Carotovorum* lorsque les températures sont élevées (30-35°C). Identifié aux Etats – Unis dans les années 1970, (**Stanghellini et Meneley, 1975 ; Molina et Harrison, 1977**), *P. c.* subsp. *Carotovorum* a été identifié plus récemment à partir de tels symptômes en Europe (**Hélias et al., 2006**). *P. c.* subsp. *carotovorum* est par ailleurs souvent l'agent associé aux pourritures aériennes des tiges probablement du fait de sa prédominance dans le sol, l'eau de pluie, les insectes et les aérosols (**Pérombelon et Kelman, 1987 ; De Boer, 1994**). De même *P. c.* subsp. *Carotovorum* est majoritairement associé aux pourritures sur tubercules.

Par ailleurs, de nouvelles sous-espèces de *Pectobacterium* (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis*) associées à des symptômes de jambe noire de la pomme de terre ont été découvertes au Brésil (**Duarte et al., 2004**) puis en Afrique du Sud (**Van der Merwe et al., 2010**).

### c. *Dickeya* spp.

Les *Erwinia chrysanthemi* (Ech) sont désormais intégrées dans le nouveau genre *Dickeya*. avec une température de croissance optimale élevée (35-37 °C) (**Janse et Ruissen, 1988**). Les espèces de *Dickeya* spp. associées à la pomme de terre sont *Dickeya dadantii* (anciennement Ech 3937), *Dickeya zea* (anciennement Ech biovar 3), *Dickeya dianthicola* (anciennement Ech biovars 1 et 7) (**Samson et al., 2005; Tsrer et al., 2009**). *Dickeya dadantii* est l'une des Entérobactéries phytopathogènes qui peut causer la pourriture molle dans un large éventail de cultures économiquement importantes (**Grenier et al., 2006**).

#### 2. 4. 1. 2. Le pouvoir pathogène

*Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. produisent plusieurs variétés d'enzymes pectiques extracellulaires capables de dégrader les parois cellulaires de l'hôte. Ces enzymes extra-cellulaires renferment des pectinases, des cellulases, des protéases et des xylanases. Parmi ces enzymes les pectinases jouent un rôle prépondérant dans le développement de la maladie.

La production de ces enzymes de pathogénicité est dépendante de la densité bactérienne de *Pectobacterium* spp. et est régulée par un système de *quorum-sensing*. Celui-ci permet l'expression des gènes de virulence seulement lorsqu'un quorum bactérien est atteint. Afin d'évaluer leur densité et donc de percevoir ce quorum, les *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. pectinolytiques synthétisent des molécules signal diffusibles appelés la N-acylhomoserine lactone (AHL) à travers leurs membranes cellulaires. Lorsque la multiplication bactérienne atteint le quorum, la concentration en signaux AHL dans le milieu devient suffisamment élevée pour être perçue par les bactéries comme un signal d'activation de la synthèse des enzymes de pathogénicité (**Ahoussi, 2012**).

#### 2. 4. 1. 3. symptomatologie

Lors des infections précoces des pousses par le *Pectobacterium* sp., des déficiences de peuplement apparaissent au champ. Avec une infection plus tardive, différents symptômes peuvent être distingués à savoir: la pourriture molle des tubercules et la jambe noire. Les symptômes peuvent se manifester différemment

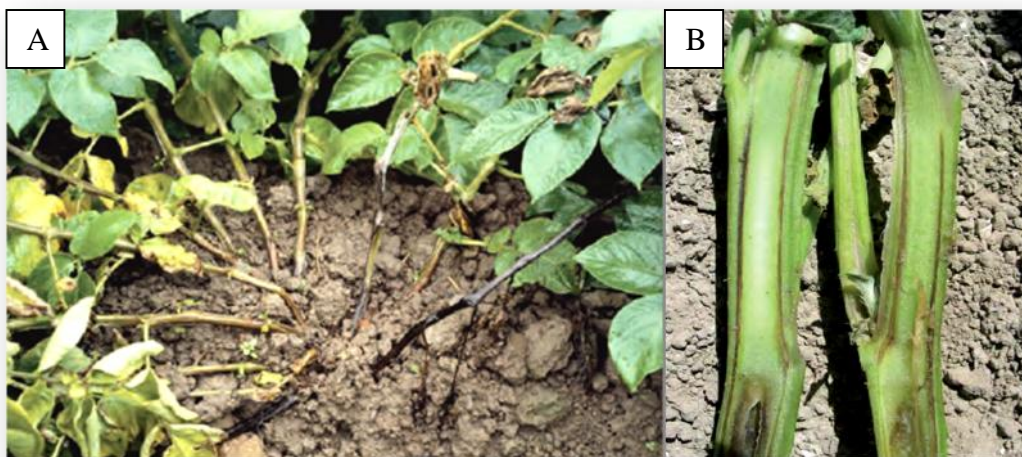
selon la variété, le temps, la période d'infection et l'agent pathogène (**Pérombelon, 2002; Toth et al., 2003a**).

#### a. Sur la partie aérienne

*Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. attaquent la tige du plant de la pomme de terre en cours de végétation provoquant ainsi la jambe noire (ou *Blackleg*). Les bactéries colonisent d'abord les vaisseaux du xylème de la plante et se multiplient par la suite dans les espaces intercellulaires de l'hôte en sécrétant une série de pectinases qui dégradent la paroi mitoyenne des cellules et déstabilisent le parenchyme provoquant ainsi la macération des tissus.

Ces phénomènes interrompent le transport de l'eau et des éléments minéraux, vers le sommet de la plante, provoquant des symptômes de flétrissement et de jaunissement du feuillage (**Hélias et al., 2000a**).

L'infection induit ensuite une pourriture molle de la tige qui prend une coloration brune foncée à noire, à la base des tiges du point d'attache des feuilles sur la tige ainsi que des nécroses plus ou moins sèches (Figure 2) (**Ahoussi, 2012**).



**Figure 2** : Symptôme de jambe noire, (A) : symptômes de flétrissement et de jaunissement du feuillage avec coloration brune foncée à noire à la base des tiges ; (B) : pourriture molle de la tige (**Anonyme, 2014**).



**b. Sur les tubercules**

Les symptômes observés sur tubercules se caractérisent par des pourritures molles. Des petites tâches diffuses d'aspect grasseyé commencent généralement par apparaître autour des lenticelles, des blessures ou du talon, puis s'étendent rapidement à l'intérieur du tubercule. La bactérie dégrade les tissus du tubercule provoquant une macération du parenchyme. La pourriture molle, de couleur claire, brunit jusqu'au noir. Au niveau des tissus de tubercule, la production de poches gazeuses, sont à l'origine d'une odeur nauséabonde très prononcée (figure 3) (**Pérombelon et Kelman, 1980**).

Les tissus infectés sont nettement délimités des parties saines. En conditions sèches, les lésions peuvent devenir creuses, dures et sèches. Dans d'autres cas, l'infection est stoppée et la zone malade se dessèche, laissant une zone creuse remplie d'une masse de matériel mort, dur et noir. En stockage, la pourriture peut s'étendre à tous le stock causant ainsi des dégâts très importants (**Romdhani, 1994; Pérombelon, 2002**).



**Figure 3** : Tubercules de pommes de terre infectées par Pba 709 après trois jours d'incubation à 24 °C et à 100% d'humidité relative. (A): Suintement du tubercule qui favorise la dissémination de la maladie en entrepôt; (B): Développement secondaire de moisissure; (C): Chair du tubercule pourri; (D): Sites d'infection (**Yaganza, 2005**).

## 2. 4. 2. le flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum*

Le flétrissement bactérien appelée également pourriture brune, causé par *Ralstonia solanacearum* (anciennement *Pseudomonas solanacearum*) est une maladie vasculaire d'origine tellurique et rhizosphérique. Cette maladie compte parmi les maladies destructives et pèse lourdement sur l'agriculture et l'économie de nombreux pays (**Perseley, 1986 ; Hayward, 1991**). *Ralstonia solanacearum* est un organisme de quarantaine pour NAPPO.

### 2. 4. 2. 1. Caractéristiques phénotypiques

*R. solanacearum* est une bactérie en forme de bâtonnet avec un diamètre moyen variant de 0,5 à 0,7 sur 1,5 à 2,5  $\mu\text{m}$ , aérobic stricte (**Denny et Hayward, 2001**), Gram négatif et mobile grâce à un flagelle polaire (**Kelman, 1953 ; Kelman et Jensen 1951**). Elle possède une oxydase qui métabolise le glucose par voie oxydative et qui accumule du poly- $\gamma$ -hydroxybutyrate dans son cytoplasme à partir d'un milieu de culture riche en carbone (**stevenson et al, 2001**).

Sur milieu gélosé, des colonies typiques se forment après 3 jours d'incubation, elles seront petites (1-1,3 mm), lisses, luisantes et opalescentes, arrondies ou irrégulières, muqueuses, blanchâtres à crème, à bords entiers, bombé, et pouvant libérer un pigment brun avec l'âge qui diffuse dans le milieu (**Lelliott et stead, 1987**). La substance mucoïde est produite par l'accumulation des exopolysaccharides (EPS) (**Smith, 1920**).

Pour la plupart des souches, la température optimale de croissance est entre 28-32°C; Cependant, certaines souches pathogènes sur la pomme de terre ont une température de croissance plus faible (27°C) (**Genin, 2010**).

### 2. 4. 2. 2. Gamme d'hôte et distribution géographique

*R. solanacearum* présente une très grande variabilité phénotypique, génotypique et du pouvoir pathogène comme en atteste sa vaste gamme d'hôte et sa capacité à s'adapter à différents environnements agro-climatiques. La grande plasticité de cette bactérie peut expliquer en partie la diversité génétique (**Lebeau, 2010**).



L'impact économique et social élevé de cet organisme résulte de sa large répartition géographique dans le monde entier. Plus de 200 espèces de plantes, en particulier les cultures tropicales et subtropicales, sont sensibles à l'un ou l'autre des races de *R. solanacearum* (Buddenhagen et al , 1962).

La classification par race divise les souches de *R. solanacearum* en cinq races sur la base de la plante hôte (Tableau 1).

**Tableau 1** : les races de *R. solanacearum* (Denny et Hayward, 2001).

Races	Plantes d'hôtes	Distribution géographique
1	Large	Asie, Australie, Amériques
2	Banane, et d'autre Musa spp	Caraïbes, Brésil, Philippines
3	Pommes de terre	Le monde entier
4	Gingembre	Asie
5	Mûrier	Chine

### 2. 4. 2. 3. symptomatologie

Les symptômes externes du flétrissement bactérien les plus caractéristiques sont le flétrissement, le rabougrissement et le jaunissement du feuillage (Smith, 1920; Kelman, 1953), Cependant l'expression des symptômes et le taux de développement de la maladie peut varier en fonction des conditions de sensibilité et de la croissance des plantes hôtes, et sera également influencée par les conditions environnementales (Smith, 1914; Kelman, 1953).

#### a. Sur la partie aérienne

Aux premiers stades de l'infection, les premiers symptômes visibles apparaissent généralement sur le feuillage des plantes. Ces symptômes se manifestent par le flétrissement des plus jeunes feuilles pendant la chaleur de la journée avec récupération à l'aspect normal pendant la nuit lorsque les températures sont plus fraîches, mais bientôt le flétrissement devient irréversible et se traduit par la mort des plantes. Les tiges de jeunes plants peuvent présenter des étroites stries foncées (figure 4) (Champoiseau, 2010).

Un brunissement du tissu vasculaire des tiges de plantes flétries est observé une fois coupées transversalement, et un exsudat laiteux apparaît à la surface de la coupe. Lorsqu'une tige coupée est placée dans l'eau verticalement, des filets de productions bactériennes s'écoulent des faisceaux vasculaires (Hay, 2001). De tels filets ne sont pas formés par d'autres bactéries pathogènes. Ce test est une valeur présomptive du diagnostique par l'OEPP.



**Figure 4 :** symptômes causés par *Ralstonia solanacearum* : flétrissement et rabougrissement de plant de pommes de terre (Gonzalez, 2010).

#### **b. Sur les tubercules**

Les symptômes externes peuvent être visible ou pas, suivant l'état de développement de la maladie ; de plus, les symptômes sont très similaires à ceux de la pourriture annulaire (*Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus*) (OEPP, 2004). *R. solanacearum* se distingue par l'exsudat bactérien qui se dégage souvent des yeux et du talon des tubercules infectés. Lorsque l'exsudat bactérien se dessèche, une masse de sol adhère au niveau des yeux des tubercules .

Au début de l'infection, l'anneau vasculaire prend une coloration jaune à brun clair, par la suit, la décoloration devient plus nettement brune (Champoiseau et al., 2009) (Figure 5).

Les plantes présentant des symptômes foliaires provoqués par *R. Solanacearum* peuvent porter des tubercules sains, et des plantes ne présentant pas de symptômes de la maladie peuvent produire des tubercules infectés (Gonzalez, 2010).



**Figure 5 :** symptômes causés par *Ralstonia solanacearum* sur tubercule de pomme de terre : observation d'exsudat bactérien à partir de tissus vasculaires (anneau vasculaire) (Gonzalez, 2010).

#### 2. 4. 2. 4. Le pouvoir pathogène

*R. solanacearum* produit de nombreuses enzymes extracellulaires, également appelées exoenzymes, lui permettant de dégrader la paroi pectocellulosique de la plante infectée. La bactérie sécrète des enzymes cellulolytiques et pectinolytiques afin d'envahir les tissus de la plante. (Roberts et al. 1988).

Le rôle des EPS est suspecté dans l'expression des symptômes de flétrissement chez la plante en raison de leur accumulation dans les vaisseaux du xylème, elle-même suivie de la formation de bouchons qui empêcheraient la circulation de l'eau et des éléments minéraux (Denny et al., 1990).

Le déterminant principal du pouvoir pathogène de *R. solanacearum* est le système de sécrétion de type III (SST3), codé par les gènes *hrp* (hypersensitive reaction and pathogenicity) (Cornelis et Van Gijsegem 2000; Galán et Collmer 1999; He et al. 2004). Les gènes *hrp* jouent un rôle dans le développement de la réaction d'hypersensibilité chez les plantes hôtes résistantes et dans l'initiation des symptômes de maladie chez les plantes hôtes sensibles (Boucher et al. 1992).

### 2. 4. 3. Le flétrissement bactérien ou pourriture annulaire causée par *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*

Le flétrissement bactérien causé par *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) est une maladie destructive de la pomme de terre (Davis et al., 1997; Franc, 1999).

La bactérie, auparavant appelée *Bacterium sepedonicum*, a été décrite par Spieckermann et Kottoff en 1914 puis dénommée le plus souvent *Corynebacterium sepedonicum* ou *C. michiganensis* subsp. *sepedonicum* (Rousselle et al ; 1996). *Cms* a un pouvoir pathogène très virulent et qui peut causer des pertes extensives au niveau de la culture de la pomme de terre (Rich, 1983).

#### 2. 4. 3. 1. Caractéristiques phénotypiques

*Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (*Cms*) est une bactérie Gram positif, les cellules sont en forme de bâtonnet court, irrégulier, souvent disposé en V ; elles mesurent généralement de 0,4 à 0,6 µm sur 0,8 à 1,2 µm. *Cms* est aérobic stricte, ne forme pas d'endospore et n'est pas mobile. Sa croissance est très lente sur milieu nutritif gélosé ; le diamètre des colonies est de 1 à 3 mm après 5 jours de culture. Ces colonies sont circulaires, brillantes, claire (blanche, puis crème à jaune pâle), opaques. Sa température optimale de croissance *in vitro* est de 20 à 23 C°. Elle donne une réaction d'hypersensibilité sur tabac (Rousselle et al ; 1996). La bactérie est principalement cantonnée dans les zones climatiques tempérées froides du globe. (OEPP, 1990).

#### 2. 4. 3. 2. Gamme d'hôte

L'hôte naturel de *Cms* est la pomme de terre, mais la bactérie a été isolée de betteraves à sucre et trouvée au champ sur une espèce de mauvaise herbe, *Solanum sarachoides*. De nombreuses espèces de Solanacées, dont l'aubergine et la tomate, peuvent être infectées artificiellement et naturellement (Rousselle et al ; 1996).

### 2. 4. 3. 3. Symptomatologie

Le flétrissement bactérien est une maladie vasculaire qui atteint les organes aériens et les tubercules. Le développement, puis l'expression de la maladie se manifestent différemment selon les cultivars de pomme de terre, le pouvoir pathogène des isolats, la dose d'inoculum et les facteurs abiotiques. L'évolution des symptômes est différente selon la température et les niveaux d'énergie lumineuse (**Rousselle et al ; 1996**).

#### a. Sur la partie aérienne

Les premiers symptômes se caractérisent par un flétrissement des feuilles basales dont les bords s'enroulent vers le centre, puis les feuilles se chlorosent. Ces symptômes apparaissent assez tardivement, environ 10 semaines après la plantation. Le flétrissement progresse rapidement vers l'apex, peut se généraliser à toute la plante, qui meurt, ou n'atteindre qu'une partie du pied, de la tige ou de la feuille. Il pourrait s'expliquer par une perturbation de la circulation de la sève dans le xylème, par les bactéries ou par les polysaccharides extracellulaires produits par *Cms* (figure 6), (**Rousselle et al ; 1996**). Un climat chaud et sec favorise l'apparition des symptômes (**OEPP/CABI, 1996b**).

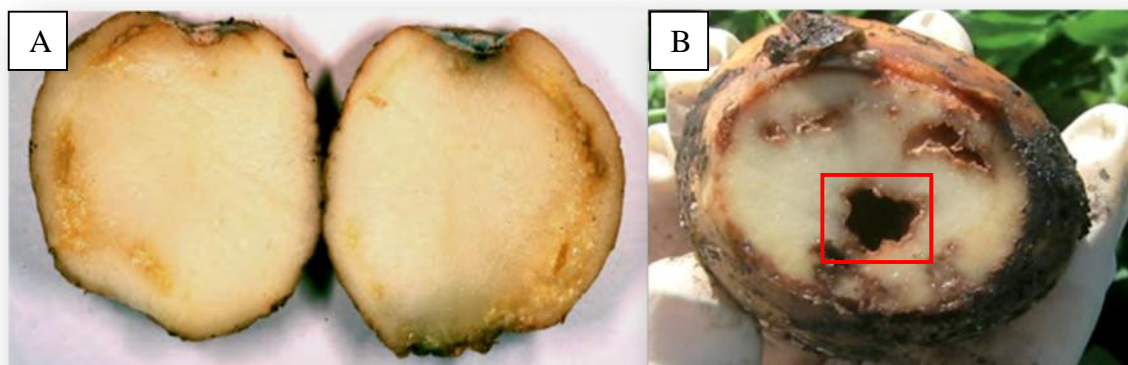


**Figure 6 :** symptômes du flétrissement bactérien causés par *Clavibacter michiganensis subsp Sepedonicus* sur la pomme de terre: enroulement et nécrose des feuilles (**Anonyme, 2014**).



**b. Sur les tubercules**

Dans les tubercules en croissance ou en conservation, la bactérie se multiplie dans l'anneau vasculaire et entraîne sa détérioration qui débute au point d'attache du stolon. Le tubercule coupé présente un anneau jaunâtre ou brun (figure 7A), à ce niveau, les tissus se décollent facilement et libèrent un exsudat crème contenant des bactéries et des cellules végétales décomposées. En phase extrême, le tubercule est craquelé en surface, des taches sombres apparaissent sous le périoderme, puis il se décompose et une cavité se forme à l'intérieur (figure 7B). La pourriture ne dégage pas d'odeur particulière (Rousselle et al ; 1996).



**Figure 7** : symptômes du flétrissement bactérien causés par *Clavibacter michiganensis subsp sepedonicus* sur le tubercule de pomme de terre. (A) : observation de l'anneau vasculaires de couleur jaunâtre à brun ; (B) : formation de cavité à l'intérieur du tubercule de pomme de terre (Anonyme, 2014).

**2. 4. 3. 4. Le processus infectieux**

Lorsque la bactérie est au niveau de vaisseau de xylème, elle commence la multiplication en masse puis la sécrétion des EPS sous l'action du Quorum sensing (Leigh et Coplin, 1992) et qu'induit un blocage de la circulation de la sève dans le xylème et par conséquent le flétrissement apparait (Rousselle et al ; 1996).

La bactérie se conserve et se multiplie dans l'anneau vasculaire (Metzler et al ; 1997) ce qui entraîne sa détérioration par la sécrétion des enzymes extracellulaires spécialement les cellulases et pectinases qui peuvent contribuer aussi au flétrissement de la plante hôte par la détérioration du xylème et des cellules parenchymateuses adjacentes (Benhamou, 1991 ; Rousselle et al ; 1996).

### 3. Les méthodes de lutte contre les bactérioses de la pomme de terre

#### 3. 1. La lutte culturale

L'hygiène des cultures est extrêmement importante pour la lutte contre la plupart des maladies et ravageurs. Elle peut impliquer l'élimination et la destruction des résidus de culture, des plantes fortement infestées, des repousses provenant d'une récolte précédente et les plantes adventices (**Ezzahiri et al ; 2004**).

Les pratiques culturales et sanitaires traditionnellement utilisées pour contrôler le développement des maladies de la pomme de terre consistent à :

- éviter de blesser les tubercules pendant les opérations de récolte et de manutention (les blessures étant une porte d'entrée privilégiée pour la pourriture molle),
- débarrasser la ferme et les entrepôts des résidus de végétaux potentiellement contaminés,
- désinfecter les équipements de lavage et de tri (**De Boer, 1994**).

Les rotations culturales avec des plantes non hôtes sont aussi des moyens efficaces pour diminuer les populations bactériennes présentes dans le sol (**Ahikari et Besnyat, 1998**). Dans le cas du flétrissement bactérien (causé par *R. solanacearum*), Il est recommandé d'effectuer des rotations de culture de 5-7 ans sans cultures sensibles (**Graham & Lloyd, 1979; Graham et al., 1979**), ces pratiques permettent également de réduire l'incidence de la pourriture molle (**Jeger et al., 1996; Stevenson et al., 2001**).

Ainsi que l'incorporation de la matière organique améliore la nutrition minérale des cultures (action trophique) et par conséquent, augmente leur résistance aux agents phytopathogènes et ravageurs (**Semal et al ; 1994**). L'amendement organique du sol libère des composés toxiques qui agissent directement sur les ennemis de cultures (**N'deye, 1995**).

les résultats de nombreux travaux utilisant divers composés antimicrobiens pour lutter contre les agents pathogènes des plantes (**Mecteau et al., 2002**) suggèrent que les sels organiques et inorganiques peuvent constituer une alternative intéressante pour contrôler les maladies des tubercules entreposés. De plus, la bio-compatibilité des sels (**Horst et al., 1992**), leur faible coût et le fait qu'ils possèdent un large spectre antimicrobien, les rendent intéressants en vue d'une utilisation pour lutter contre les maladies végétales (**Olivier et al., 1998**).

### 3. 2. La lutte physique

La manipulation soigneuse des plantes pendant la récolte et le stockage permet de réduire les blessures et limiter ainsi les possibilités d'infection par le pathogène, d'autres moyens de lutte physique permettent de lutter contre les *Pectobacterium* (**Czajkowski et al., 2011**). Différents moyens peuvent être mis en œuvre tels que : La ventilation d'air extérieur pendant le transport et les contrôles de température et d'humidité pendant le stockage sont des pratiques supplémentaires qui peuvent limiter l'infection ou la propagation du pathogène. Les producteurs ont aussi les moyens de limiter la pourriture molle pendant le stockage en éliminant les tubercules endommagés ou malades (**Moreau et al., 2005**).

La technique de thermothérapie a été appliquée avec succès sur de nombreuses maladies en particulier les maladies bactériennes transmises par semences, les nématodes, les insectes et les acariens et sur différentes parties de la plante telles que les semences, les rhizomes, les bulbes et les boutures (**Janse et Wenneker, 2002 ; Fleurat, 2005**). La méthode de lutte la plus efficace contre *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* est la production de semences saines suivant un schéma de certification (**Nelson, 1984**).

### 3. 3. La lutte biologique par l'utilisation de microorganismes

La lutte biologique fait partie des méthodes de plus en plus favorisées en phytopathologie pour contrôler les maladies végétales d'importance. Toutefois, son application aux maladies de la pomme de terre demeure expérimentale. Par exemple, *Bacillus subtilis* BS 107 serait actif *in vitro* et *in vivo*, contre *Pcc* et *Pba* (**Sharga et Lyon, 1998**).



Un antibiotique produit par *Erwinia carotovora* subsp. *betavascularum* serait aussi efficace contre le développement de Ecc sur la pomme de terre (**Axelrood et al., 1988**).

Par ailleurs, la lutte biologique par utilisation de bactéries antagonistes ou avirulentes (sauvages ou mutantes) de *R. solanacearum* est aussi une stratégie de la lutte testée par de nombreuses équipes internationales. Les souches notamment *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus* sp., *Bulkolderia* sp., sont capables d'inhiber la croissance de *R. solanacearum* (**Hartman et al. 1993; Ji et al. 2008; Shekhawat et al. 1993; Wydra et al. 2005**).

### 3. 4. La lutte chimique

Les traitements chimiques sont largement utilisés pour le contrôle des ennemis des cultures (**Panneton et al ; 2000**). On ne connaît pas de composés chimiques spécialement destinés à lutter contre la pourriture molle de la pomme de terre. Toutefois, la maladie se développant facilement sur des tubercules pré-infectés par les champignons, l'utilisation de fongicides aide indirectement à contrôler cette maladie (**De Boer, 1994**).

### 3. 5. La lutte génétique

De nombreux cultivars résistants utilisés dans la culture de pomme de terre, cependant la diversité de races et de souches de *R. solanacearum* rend impossible leur utilisation dans des pays différents (**French, 1985; Hartman et Elphistone, 1994**). De même, aucune variété commerciale totalement résistante (**Rasche et al., 2006; Czajkowski et al., 2011**) n'a été signalée vis-à-vis *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. en dépit de leurs niveaux de sensibilité différents (**Pasco et al., 2006**).

# **Chapitre II :**

## **Matériels et méthodes**

## Matériels et méthodes

### 1. Objectifs

Le but de notre travail est de tester la pathogénicité des principaux agents bactériens isolés à partir de tubercule de pomme de terre de la région d'Ain defla en 2015.

De ce fait, notre travail est constitué de deux parties : la première concerne la réalisation du test d'hypersensibilité sur tabac. La deuxième partie est consacrée à la réalisation du test du pouvoir pathogène sur la tomate et l'aubergine.

### 2. Le matériel biologique

Un total de 58 souches bactériennes a été utilisé pour la présente étude et qui font partie de la collection de souches bactérienne du laboratoire de phytobactériologie.

En rappel, ce sont des souches isolées en 2015 à partir des tubercules et des semences de pomme de terre appartenant à deux génotypes : (Spunta et Désirée).

Ces isolats bactériens ont été isolés et identifiés par voies biochimique et biologique et qu'ils sont susceptibles d'appartenir aux principaux genres à savoir : *Pectobacterium spp*, *Ralstonia solanacearum* et *Clavibacter michiganensis*.

### 3. Le matériel végétal

Pour notre expérimentation, nous avons testé trois plantes hôtes susceptibles d'être attaquée par notre collection d'isolats bactériens. Cette gamme d'hôtes concerne trois espèces ; le tabac, la tomate et l'aubergine et qui constituent des plantes hôtes attaquées par ces souches bactériennes (**Pérombelon et Kelman, 1987**) et qu'elles constituent aussi des espèces couramment cultivées en Algérie.

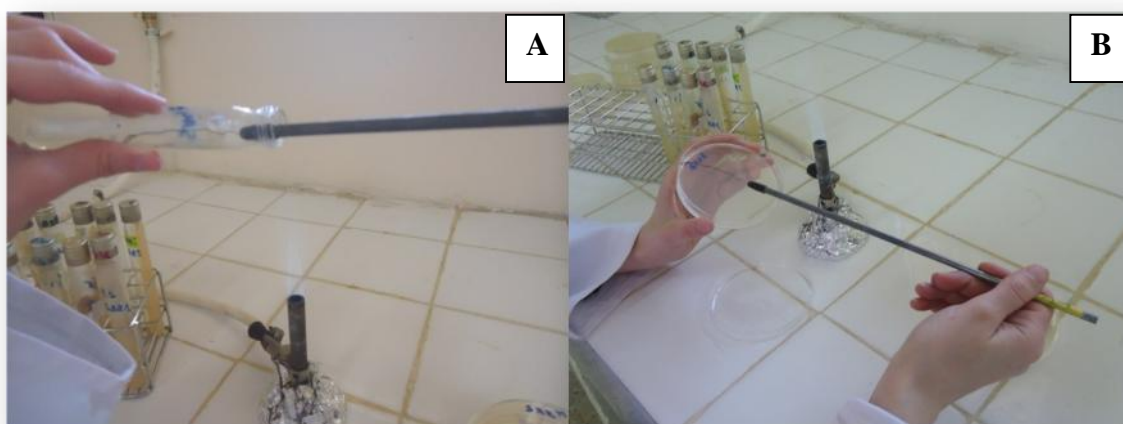
Les plants de tomate sont de la variété SIMA (F1) alors que les plants d'aubergine sont de la variété GALINE (F1), dont nous avons travaillés sur 58 plants pour chaque variété. Ces plants sont certifiés indemnes de maladies et fournis gracieusement par une pépinière de la région de Blida.

Concernant les plants de tabac, nous avons utilisé la variété *White Burley*, fournie par le laboratoire de phytobactériologie.

#### 4. La purification des souches

La purification est une opération nécessaire afin d'obtenir des clones purs. La méthode consiste à faire des étalements sectoriels avec la culture bactérienne de chaque souche à l'aide d'une anse. A raison de 3 secteurs par boîte contenant le milieu LPGA, suivie d'une étape d'incubation à 28-30°C.

Le travail a été réalisé dans des conditions d'asepsies (devant un bec benzène et sur paillasse désinfectée par de l'hypochlorite de sodium puis par de l'alcool).



**Figure 8** : quelques étapes de purification ; (A) : prélèvement d'une culture bactérienne conservée en tube à essai ; (B) : ensemencement en strie dans une boîte de pétrie.

## 5. Le test d'hypersensibilité sur tabac (réaction d'hypersensibilité)

Le test d'hypersensibilité du tabac met en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie par le dessèchement des zones inoculées sur les feuilles de tabac. Dans un tube de 2 ml d'eau distillée stérile une suspension bactérienne concentrée de  $10^7$  CFU/ml correspond à une densité optique de 0.2, et à une longueur d'onde de 600 nm, a été préparée à partir d'une culture bactérienne âgée de 24 heures (Haddane, 2012).

Sur les feuilles d'un plant de tabac (*Nicotina tabacum*) de la variété *White Burley* au stade de 5 à 6 feuilles, nous avons infiltré par une injection sous épidermique une suspension bactérienne à l'aide d'une seringue stérile de 5 ml. L'inoculation de la suspension bactérienne se fait sur la surface inférieure de la feuille.

Le témoin négatif consiste à injecter de l'eau distillée stérile au niveau du limbe foliaire. Pour chaque isolat bactérien, une feuille de tabac a été inoculée et codifiée (figure 9).

La lecture des résultats est effectuée 24 à 72 h après inoculation, un résultat positif se traduit par la présence d'une zone nécrotique mettant en évidence le pouvoir pathogène de la souche bactérienne testée (Yabuuchi et Smith, 1999)

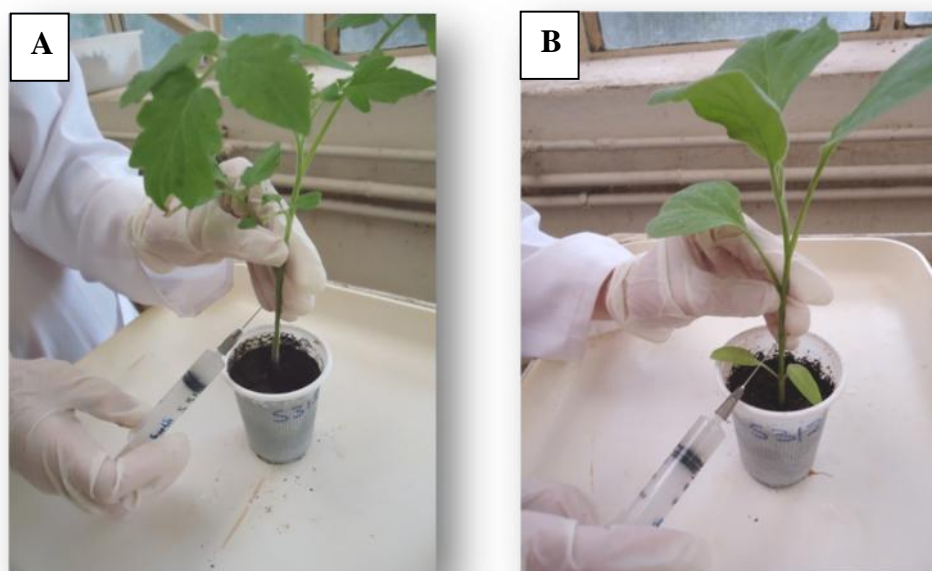


**Figure 9** : la réalisation du test de la réaction d'hypersensibilité.

## 6. Le test du pouvoir pathogène des bactéries

Le test du pouvoir pathogène *in planta* a été réalisé sur des plants de tomate et d'aubergine au stade plantule (stade quatre feuilles).

Nous avons préparé une suspension bactérienne à partir des cultures préalablement purifiés à une densité optique,  $DO = 0.13$ , et à une longueur d'onde de 600 nm, ce qui correspond à une densité cellulaire de  $10^6$  CFU/ml (Haddane, 2012), nous avons réalisé trois incisions au niveau de la tige de chaque plant (considérer comme répétitions) et à l'aide d'une seringue stérile munie d'une aiguille hypodermique nous avons réalisé l'inoculation des souches bactériennes. Le témoin négatif est inoculé avec de l'eau distillée stérile.



**Figure 10** : la réalisation du test du pouvoir pathogène ; (A) : inoculation du plant de tomate ; (B) : inoculation du plant d'aubergine.

Les 24 heures précédant l'inoculation on arrête d'arroser les plantes tests. Les observations s'effectuent quatre semaines après l'inoculation des plantes.

Les symptômes de *R. solanacearum* sur tomates apparaissent en premier lieu sur les plus jeunes feuilles ou elles présentent un aspect flasque, habituellement pendant les périodes les plus chaudes de la journée. La plante entière peut rapidement se flétrir si les conditions sont favorables au pathogène.

En conditions moins favorables, la maladie se développe plus lentement un rabougrissement peut se produire et de nombreuses racines adventives sont produites par la tige. (McCarter, 1991). Chez l'aubergine, le flétrissement unilatéral est un des principaux symptômes (Lebeau, 2010).

En serre, le premier symptôme de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* sur tomate est un flétrissement réversible des feuilles pendant les périodes de chaleur. Les feuilles peuvent présenter alors des zones internervaires nécrotiques, blanches puis brunes. Le flétrissement devient rapidement irréversible et la plante entière se dessèche (OEPP, 2005).

Chez l'aubergine *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* provoque un flétrissement des feuilles qui peut se manifester en premier lieu par une flaccidité sur les bords ou entre les nervures. Au départ, le tissu flétri peut prendre une couleur vert foncé ou un aspect tacheté, mais il pâlit avant de se nécroser (Dinesen, 1984).

## 7. Les paramètres étudiés

Le résultat du pouvoir pathogène des isolats bactériens *in planta* est évalué par l'apparition des symptômes et de leur sévérité. La lecture des résultats de l'expression des symptômes se fait chaque semaine pendant un mois précédant l'inoculation.

# **Chapitre III :**

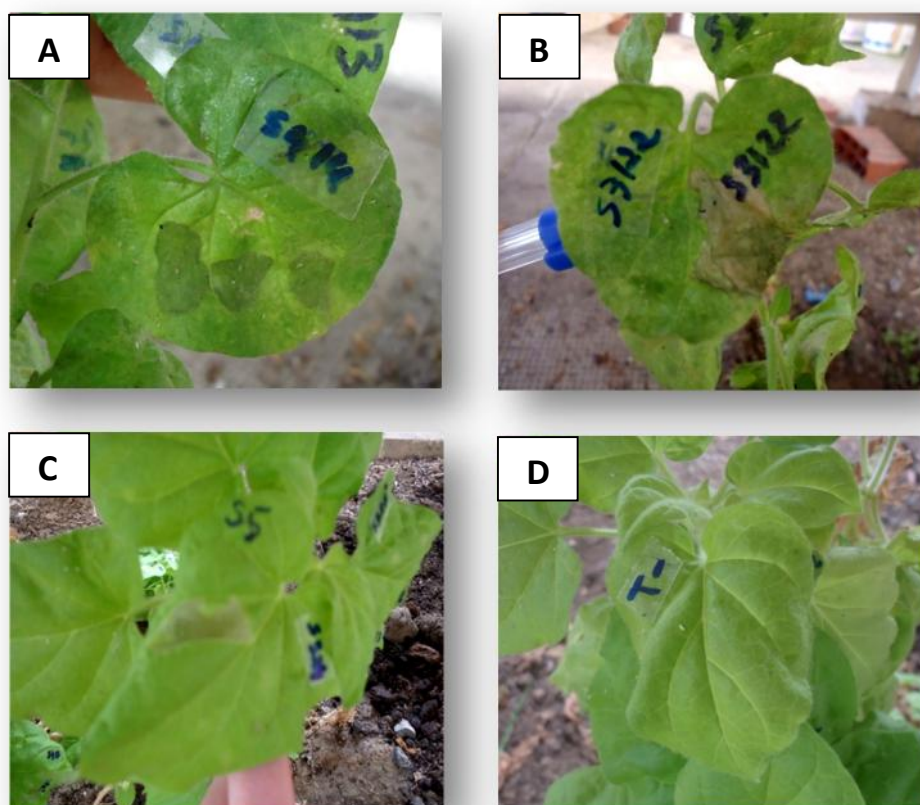
## **Résultats et interprétation**



### 1. Analyse de la réaction d'hypersensibilité

Après 48 heures précédant l'inoculation, sur un totale de 58 isolats testés, 38 isolats provoquent la réaction d'hypersensibilité sur tabac sous forme de nécrose localisé au niveau de la partie infiltré ce qui représente 65% de réponse positive.

Alors que 20 isolats bactériens ont répondu négativement au test d'hypersensibilité au tabac ce qui représente 34% de la totalité des isolats testés (figure 11).



**Figure 11** : les différents résultats de la réaction d'hypersensibilité causée par les isolats bactériens testés (Originale, 2016).

(A), (B), (C) : réaction d'hypersensibilité sous forme de nécrose localisé dans de la partie infiltré.

(D) : une feuille de tabac injectée avec de l'eau distillée stérile (témoin négatif).

**Tableau 2 :** résultats de la réaction d'hypersensibilité inoculée par les isolats bactériens testés.

Souches testés	Réponse
SA5, S323, S421, S412, S322, S411, S332', S3122, S413, S41, S414, S331, S31, S32, S221, S415, S423, SA41, Har4, Har12, SA2, SA4, S326, S333, S326', S336, S5, S327', SA2', S337, S338, SA8, S334, S32M, S323', S422, S312', Hav5	+
S332, SA62, S327, S25, SA22, SA5', SA6, S224, S426, SA3, S324, S312, SA7, S23, S22, S325, S223, S331', S22M, S21	-

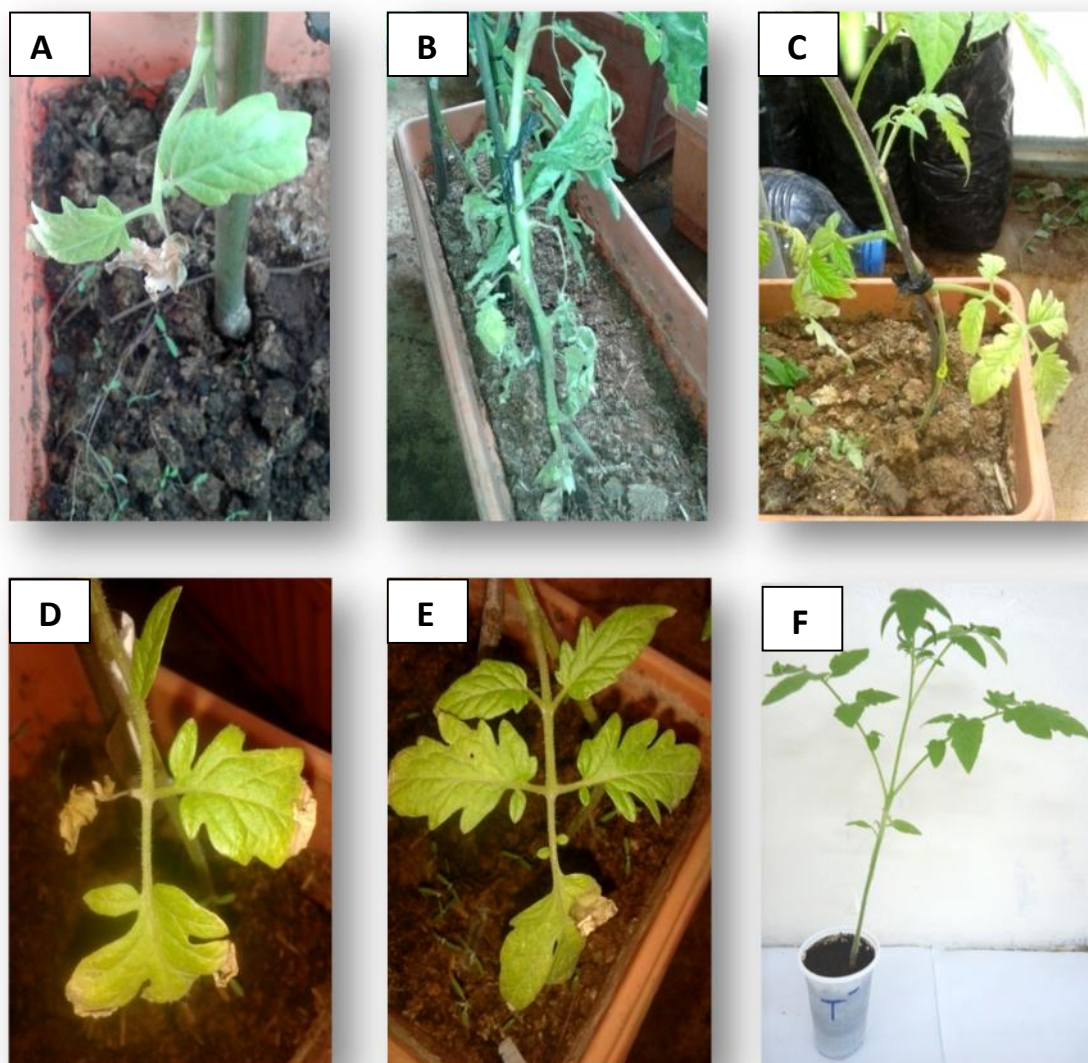
(-) : Réponse négative.

(+) : Réponse positive.

## 2. Le test du pouvoir pathogène

### 2. 1. sur la tomate

Après un mois d'observation, parmi les 58 isolats inoculés aux plants de tomate, 24 plants (41%) expriment des symptômes de jaunissement des feuilles, de flétrissement et une nécrose marginale suite à l'inoculation artificielle, tandis que pour les 34 plants restant (58%) en plus du témoin négatif ne manifestent aucun symptôme (figure 12).



**Figure 12** : la réponse des plants de tomates après l'inoculation (Originale, 2016).

(A) : Une réponse positive qui montre le symptôme de nécrose marginale.

(B) : Une réponse positive qui montre le symptôme de flétrissement total de plant inoculé.

(C) : Une réponse positive qui montre le symptôme de jaunissement.

(D) : Une réponse positive qui montre deux symptômes de jaunissement et nécrose marginale.

(E) : Une réponse positive qui montre les symptômes de flétrissement et nécrose marginale.

(F) : Un plant de tomate inoculé avec de l'eau distillée stérile (le témoin négatif).

**Tableau 3** : résultats du test du pouvoir pathogène inoculée par les isolats bactériens testés sur la tomate.

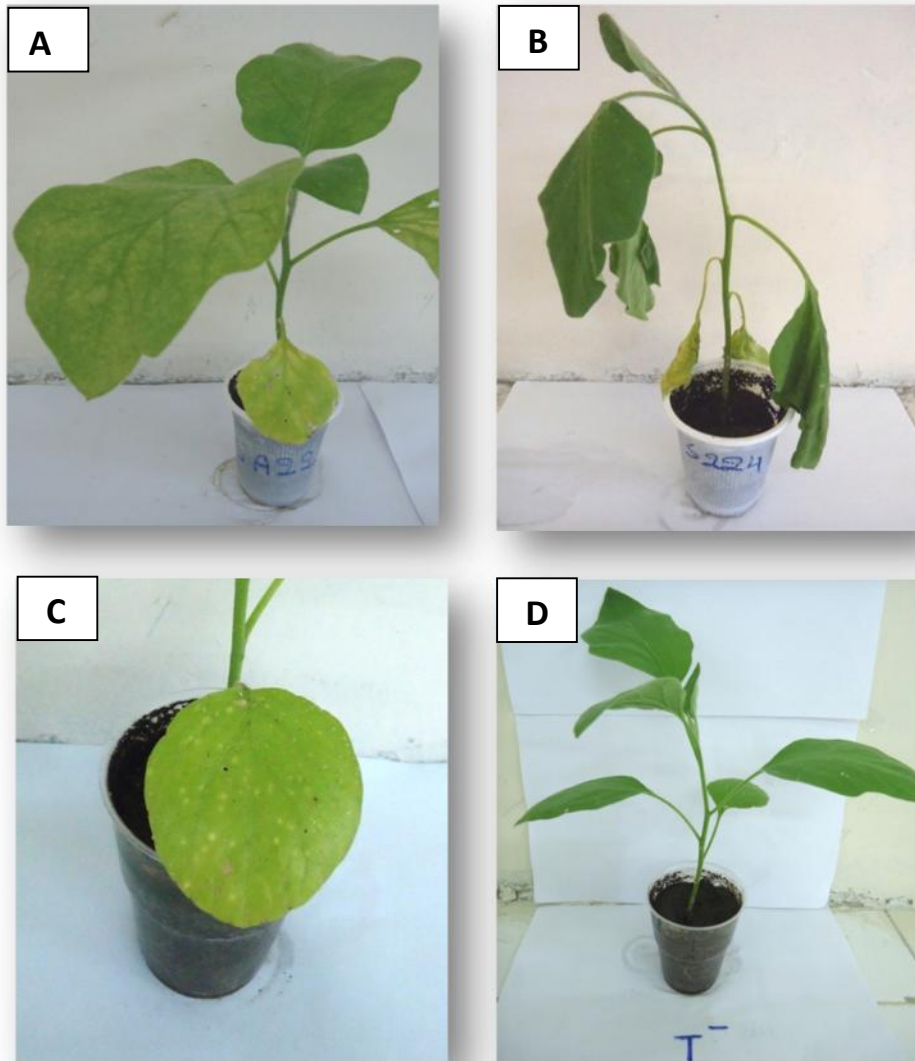
Souches testés	Réponse
S336, SA5, SA4, Har12, S337, S224, S334, S326', S331', S423, S32, S421, S3122, SA5', Hav5, SA41, S327', S32M, S426, S331, SA3, S21, S333, S411	+
S332, S323, SA62, S323', S412, S322, S327, S332', S422, S413, S41, S414, S31, S25, SA22, S221, S415, Har4, SA2, SA6, S326, S324, S5, S312, SA7, SA2', S338, S23, S22, S325, S312', S223, SA8, S22M	-

(-) : Réponse négative.

(+) : Réponse positive.

## 2. 2. sur l'aubergine

Concernant les plants d'aubergine testés avec les 58 isolats bactériens, nous avons constaté que 47 plants manifestent des symptômes de jaunissement, de flétrissement, la chute des feuille ainsi que l'aspect tacheté des feuilles ce qui représente 81% tandis que les 11 plants restants ont répondu négativement avec une absence de ses symptôme soit un taux de 19% (figure 13).



**Figure 13** : la réponse des plants d'aubergine au test du pouvoir pathogène après un mois (Originale, 2016).

(A) : une réponse positive montre un jaunissement des feuilles.

(B) : une réponse positive montre un jaunissement plus un flétrissement du plant d'aubergine.

(C) : une réponse positive montre un aspect tacheté de la feuille.

(D) : un plant d'aubergine inoculé avec de l'eau distillé stérile (témoin négatif).

**Tableau 4** : résultats du test du pouvoir pathogène inoculée par les isolats bactériens testés sur l'aubergine.

Souches testés	Réponse
S32M, S331, S327', S413, S325, SA2', SA7, S25, S333, S332, S334, SA5, S221, Har12, S21, SA5', S336, S332', SA4, S224, S337, SA22, S32, S415, SA62, Hav5, S312, S426, SA41, S331', S31, S322, S323, S5, S338, S312', S326, SA3, S3122, S411, SA2, S324, S327, S41, SA6, S323', S423	+
S421, S412, S414, Har4, S326', S23, S22, S223, SA8, S22M, S422	-

(-) : Réponse négative.

(+) : Réponse positive.

**Tableau 5** : relation entre l'agent phytopathogène et les différents symptômes obtenus.

Symptômes	Agents phytopathogènes		
	<i>Pectobacterium</i> <i>spp</i>	<i>R. solanacearum</i>	<i>C. michiganensis</i>
Jaunissement	+	+	+
Flétrissement	+	+	+
Nécrose	-		+
Aspect tacheté des feuilles	-	-	+
Chute des feuilles	-	-	+

(-) : Réponse négative.

(+) : Réponse positive.

# **Chapitre IV :**

## **Discussion des résultats**



L'objectif de notre travail est de mettre en évidence le pouvoir pathogène d'une collection de souches bactériennes isolées à partir des tubercules de pomme de terre. Les résultats que nous avons obtenus, nous ont permis de développer les points suivants :

## 1. Réaction d'hypersensibilité

La réaction d'hypersensibilité (HR) est un symptôme macroscopique attestant de l'attaque de la plante par un microorganisme pathogène (Newman *et al.*, 2007) et l'étape finale de la mise en place de la résistance active (Mur *et al.*, 2008). C'est une réaction de défense locale caractérisée par un mécanisme de mort cellulaire programmée (PCD, programmed cell death) au point de pénétration de l'agent pathogène avirulent ou de son éliciteur. Elle entraîne la formation d'une nécrose se développant rapidement autour de l'agent pathogène, limitant ainsi sa propagation (Jones *et Dangl*, 2006).

La HR est souvent associée à la synthèse de protéine PR, le renforcement des parois cellulaires ainsi que la production de composés antimicrobiens comme les phytoalexines (Hammond-Kosack *et Jones*, 1996 ; Ryals *et al.* ; 1996). La synthèse d'hormones telles que l'acide salicylique, l'acide jasmonique ou l'éthylène est également impliquée dans l'induction et la régulation de la HR (Brodersen *et al.*, 2005 ; Zhang *et al.*, 2011). Comme pour tout processus de PCD, la HR est caractérisée par une plasmolyse finale des cellules (Yu *and Choi*, 2000).

Ce mécanisme de défense est particulièrement efficace pour contrer l'invasion de certains agents pathogènes, notamment les champignons biotrophes. En revanche chez les nécrotrophes, la HR ne suffit pas à restreindre leur colonisation (Glazebrook, 2005).

Nous avons réalisé le test d'hypersensibilité sur le tabac pour le diagnostic biologique des organismes phytopathogènes. Dans notre cas, parmi les 58 isolats 38 isolats (65%) testés provoquent la réaction d'hypersensibilité sur le tabac sous forme d'une nécrose localisée sur la face supérieure de la feuille.



Les bactéries phytopathogènes utilisent la voie de sécrétion de type III pour injecter directement dans le cytoplasme de l'organisme hôte un certain nombre de facteurs de virulence ou éliciteurs de la réaction hypersensible HR (**Wei et al ; 1992**).

Le système de sécrétion de type III ou SST3 (Type Three Secretion System) est un déterminant majeur de la pathogénie, il est présent chez les bactéries phytopathogènes telles que les *Pseudomonas*, *Pectobacterium*, *Xanthomonas*, *Ralstonia* et *Pantoea* (**Cornelis, 2006**). Ce système de sécrétion très conservé est codé par les gènes *hrp* (hypersensitive response and pathogenicity) chez les bactéries phytopathogènes (**Alfano et Colmer, 2004**).

Ces gènes *hrp* jouent un rôle dans le développement de la réaction d'hypersensibilité chez les plantes hôtes résistantes et dans l'initiation des symptômes de maladie chez les plantes hôtes sensibles (**Boucher et al. 1992**).

*C. michiganensis* provoque une réaction d'hypersensibilité sur le tabac avec le même principe que *R. solanacearum* car ils ont pratiquement le même processus infectieux malgré que *C. michiganensis* est un gram positif (**Roussele et al ; 1996**).

22 isolats (36%) inoculés sur tabac ne causent pas une réaction d'hypersensibilité, ça peut être expliquée par le fait que certaines bactéries ne déclenche pas cette réaction sur le tabac contrairement lorsqu'ils sont inoculées dans leur plante hôte (**Boher ; 1987**).

Bien que certaines bactéries phytopathogènes comme dans le cas d'*E. chrysanthemi* qui possède un arsenal d'enzymes dégradatives, l'infection est si brutale que la plante n'a pas le temps de mettre en place une réponse hypersensible (**Costa et Loper ; 1994**).

La règle principale indique, seuls les organismes phytopathogènes peuvent provoquer une réaction d'hypersensibilité sur le tabac à l'exception des bactéries ; *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium rhizogones* ; quelque pathovars appartenant à *Pectobacterium carotovorum* et *Pseudomonas syringae pv savastanoi* (**Herlache et al ; 2001**).

## 2. Le pouvoir pathogène et virulence des souches

La deuxième étape de notre travail consistait à inoculer les isolats bactériens dans d'autres plants à savoir l'aubergine (variété Galine F1) et la tomate (variété Sima F1) afin de tester le pouvoir pathogène de nos isolats sur ces deux plantes qui sont considérées des plantes hôtes.

Concernant le mode d'inoculation, nous avons utilisé la méthode par injection des tiges qui permet l'apparition des symptômes plus rapidement que celle de l'inoculation du sol. Ceci peut être expliqué par la nature de l'injection au niveau des vaisseaux conducteurs permettant au flux de la sève d'entraîner les bactéries par voie systémique dans les étages supérieurs de la plante en temps court ; tandis que lorsque les bactéries sont inoculées dans le sol, elles prennent plus de temps pour pénétrer dans la plante et à atteindre les tissus vasculaires (**Taffifet, 2008**).

Après un mois d'observation, 47 plants d'aubergine et 24 plants de tomate présentent différents symptômes de stress biotique à savoir le jaunissement des feuilles, l'éclaircissement des nervures, une nécrose marginale, la chute des feuilles et le flétrissement.

Le pouvoir pathogène est défini par l'ensemble des gènes et leur régulation nécessaires à la colonisation, la survie, la multiplication, et les dégâts occasionnés par le pathogène dans l'hôte. Le pouvoir pathogène d'une souche est déterminé par sa virulence et son agressivité. La virulence est la capacité d'induire des symptômes de la maladie chez un organisme qu'on appelle de ce fait hôte tandis que l'agressivité traduit l'intensité des symptômes induits par le pathogène (**Lebeau, 2010**).

*R. solanacearum* est un organisme de quarantaine de la liste A2 de l'OEPP (OEPP/EPPO, 1978). C'est une bactérie phytopathogène vasculaire d'origine tellurique et rhizosphérique (**Hayward, 1991**).

Le déterminant principal du pouvoir pathogène de *R. solanacearum* est le système de sécrétion de type III (SST3), codé par les gènes *hrp* (**Cornelis et Van Gijsegem 2000; Galán et Collmer 1999; He et al. 2004**).

Ce système s'apparente à une véritable seringue moléculaire permettant à la bactérie de délivrer directement des facteurs de virulence, ou effecteurs, dans le cytoplasme de la cellule hôte cible (**Salanoubat, Genin, et al., 2002**). Les protéines effectrices agissent alors sur la cellule végétale pour empêcher la mise en place des mécanismes de défense de la plante et pour orienter la physiologie de la cellule végétale dans un sens favorable au développement de la bactérie (**Lindgren, 1997**).

Le méga plasmide de *R. solanacearum* porte également des déterminants du pouvoir pathogène comme des constituants du flagelle et les gènes contrôlant la synthèse d'EPS, donc ce méga plasmide jouent un rôle primordiale dans l'adaptation des bactéries (**Guidot et al ; 2007**).

les EPS jouent un rôle dans l'expression des symptômes de flétrissement chez la plante en raison de leur accumulation dans les vaisseaux du xylème, elle-même suivie de la formation de bouchons qui empêcheraient la circulation de l'eau et des éléments minéraux (**Denny et al., 1990**). Des mutants déficients pour la production d'EPS sont quasiment avirulents mais sont toujours capables de croissance *in planta* (**Denny and Baek, 1991; Kao et al., 1992**). L'EPS I est le plus important facteur de virulence de *R. solanacearum* (**Denny et Baek, 1991**), il représente 90% des exopolysaccharides produits (**Mc Garvey et al., 1999**).

L'espèce *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* est également une bactérie vasculaire responsable du chancre bactérien de la tomate, c'est un agent pathogène de quarantaine de la liste A2 de l'OEPP et est transmis par les semences (OEPP/EPPO, 1989). En cas d'infection, cette dernière bactérie se localise dans les vaisseaux du xylème (**Lyens et Cleene, 1983**), où elle provoque des cavités lysogènes. Les vaisseaux contaminés contiennent des dépôts granulaires visqueux, des thylls et des masses bactériennes (**Marte, 1980**). Le pathogène produit aussi un glycopeptide toxique biologiquement actif (**Miura et al, 1986**).

Ce type de bactérie forme une capsule ou du mucus de nature polysaccharidique (EPS), autour des bactéries assurant pour ce fait une protection de la bactérie dans l'environnement et contribuant à la virulence par le blocage des vaisseaux du xylème et ayant pour conséquence ; les symptômes de flétrissement (**Alfano et Colmer, 1996**).

Parallèlement, un autre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de phytobactériologie et qui étudie un autre aspect de cette même collection bactérienne, les résultats de ce travail a indiqué que 21% des isolats testés sur les disques de pomme de terre ont répondu positivement en développant des symptômes de pourriture molle (**Harkabi, 2016**).

*Pectobacterium carotovorum carotovorum* (*Pcc*), *Pectobacterium atrosepticum* (*Pba*) et *Dickeya dadantii* sont les trois espèces à l'origine de la pourriture molle des tubercules de pomme de terre (**Pérombelon, 2002; Toth et Birch, 2005**).

La pathogénicité des *Pectobacterium* est basée principalement sur les différents types de système de sécrétion qui sont codé par les gènes *hrp*. Dans le cas des mutations au niveau de cluster *hrp*, les bactéries ne se multiplient pas dans les tissus de l'hôte et pas d'apparition ses symptômes macroscopiques qui caractérisent la maladie (**Alfano et Colmer, 1997**).

Le système de sécrétion de type II (T2SS, Type II Secretion System) est largement exploité par les *Pectobacterium* pour sécréter une variété d'enzymes extracellulaires impliquée dans la dégradation des parois végétales de l'hôte. Ces facteurs de virulence sécrétés sont les déterminants clés du pouvoir pathogène des *Pectobacterium* (**Charkowski, 2006; Koiv et al., 2010**).

*Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. produisent plusieurs variétés d'enzymes pectiques extracellulaires capables de dégrader les parois cellulaires de l'hôte. Ces enzymes extra-cellulaires renferment des pectinases, des cellulases, des protéases et des xylanases. La production de ces enzymes de pathogénicité est dépendante de la densité bactérienne de *Pectobacterium* spp. et est régulée par un système de *quorum-sensing*. Celui-ci permet l'expression des gènes de virulence seulement lorsqu'un quorum bactérien est atteint (**Ahoussi, 2012**).

La mobilité a été décrite comme un facteur de pathogénie chez *Pectobacterium* sp., car il semble être nécessaire pour la réussite de l'invasion et l'infection des plantes et en particulier des tubercules de pomme de terre. La combinaison de la mobilité et du chimiotactisme permet aux bactéries de détecter et rejoindre leurs niches écologiques préférées. Ainsi, les flagelles auraient un rôle non négligeable dans le pouvoir pathogène des *Pectobacterium* (**Mulholland et al., 1993; Lautier, 2007**).

La production des sidérophores en cas de carence en fer, constitue un majeur facteur de virulence chez *Pectobacterium* sp (**Boughammoura et al., 2007; Dellagi et al., 2009**). Ce qui a pour conséquence une déficience en fer pour la plante hôte provoquant une diminution de la synthèse de la chlorophylle, un arrêt de cycle de Calvin et ainsi l'affaiblissement du système de défense de l'hôte (**Klaus, 2001**).

# **Conclusion et perspectives**

### **Conclusion et perspectives**

Notre travail a pour but de tester la pathogénicité d'une gamme d'isolats bactériens isolés à partir des tubercules de pomme de terre de la région d'Ain defla, afin d'évaluer leur virulence vis-à-vis d'autres plantes appartenant à la famille des solanacées telles que la tomate et l'aubergine. Pour cela nous avons entamé notre travail par la réalisation du test d'hypersensibilité sur tabac suivi par l'étude du pouvoir pathogène de ces souches bactériennes sur deux plantes à savoir la tomate et l'aubergine.

Les résultats du premier test (HR) nous a indiqué que la majorité de nos isolats sont phytopathogènes développant ainsi une réaction d'hypersensibilité sous forme d'une nécrose localisée sur la partie infiltrée de la feuille de tabac.

Par la suite, la réalisation du test du pouvoir pathogène sur tomate a montré que sur un totale de 58 souches testées et inoculées aux plants de tomate, 24 souches ont répondu positivement ce qui signifie que 41% des souches provoquent des symptômes de nécroses marginales, de jaunissement et de flétrissement des feuilles.

De même, la réalisation du test du pouvoir pathogène sur l'aubergine a montré que sur un totale de 58 souches testées et inoculées aux plants d'aubergine, 47 souches ont répondu positivement ce qui signifie que 81% des souches provoquent des symptômes de jaunissement, de flétrissement, la chute des feuille ainsi que l'aspect tacheté des feuilles.

A la lumière de nos résultats obtenus, nous pouvons dire que nous sommes en présence de trois types de maladies bactériennes de pomme de terre à savoir la pourriture molle, la pourriture brune et la pourriture annulaire causées respectivement par *Pectobacterium spp*, *Ralstonia solanacearum* et *Clavibacter michiganensis*.

## *Conclusion et perspectives*

---

Comme une continuation de ce travail, il serait intéressant d'identifier ces souches en utilisant des tests phénotypiques par l'utilisation des milieux de culture sélectifs pour chaque bactérie, tel que des milieux à base de calcium et de pectate comme le milieu cristal violet-pectate (CVP) pour isoler les *Pectobacterium* spp., le milieu SPA (sucrose peptone agar) pour isoler *R. solanacearum* et le milieu LPGA pour *C. Michiganensis*.

De même, il existe d'autres moyens d'identifications à savoir des tests biochimiques, moléculaires et sérologiques. Cependant, l'utilisation de la PCR (Polymérase Chain Réaction) comme un outil de base de biologie moléculaire et la RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ainsi que le test ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) comme un test sérologique, permet non seulement l'identification mais bien aussi la détection et la classification de ces agents bactériens.

Par ailleurs, il est possible de tester le pouvoir pathogène sur d'autres plantes hôtes telles le géranium pour *R. solanacearum*, le poivrons et la carotte pour le groupe de *Pectobacterium* spp. et *Dikeya* spp.



# Table des matières

Remerciement

Dédicacé

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction.....1

## Chapitre I : Revue bibliographique

1. Généralité sur la pomme de terre.....	3
1. 1. La biologie de la pomme de terre.....	3
1. 2. La production de la pomme de terre.....	4
2. Les maladies de la pomme de terre .....	5
2. 1. Les ravageurs.....	5
2. 2. Les maladies fongiques.....	6
2. 3. Les maladies virales.....	7
2. 4. 1. La pourriture molle provoquée par <i>Pectobacterium</i> spp et <i>Dikeya</i> spp....	8
2. 4. 1. 1. Caractéristiques phénotypiques.....	8
a. <i>Pectobacterium atrosepticum</i> .....	8
b. <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>Carotovorum</i> .....	9
c. <i>Dikeya</i> spp.....	10
2. 4. 1. 2. Le pouvoir pathogène.....	10
2. 4. 1. 3. Symptomatologie.....	10
a. Sur la partie aérienne.....	11
b. Sur les tubercules.....	12
2. 4. 2. Le flétrissement bactérien causé par <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	13
2. 4. 2. 1. Caractéristiques phénotypiques.....	13

2. 4. 2. 2. Gamme d'hôte et distribution géographique.....	13
2. 4. 2. 3. Symptomatologie.....	14
a. Sur la partie aérienne.....	14
b. Sur les tubercules.....	15
2. 4. 2. 4. Le pouvoir pathogène.....	16
2. 4. 3. Le flétrissement bactérien ou pourriture annulaire causée par <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i> .....	17
2. 4. 3. 1. Caractéristiques phénotypiques.....	17
2. 4. 3. 2. Gamme d'hôte.....	17
2. 4. 3. 3. Symptomatologie.....	18
a. Sur la partie aérienne.....	18
b. Sur les tubercules.....	19
2. 4. 3. 4. Le processus infectieux.....	19
3. Les méthodes de lutte contre les bactérioses de la pomme de terre.....	20
3. 1. La lutte culturale.....	20
3. 2. La lutte physique.....	21
3. 3. La lutte biologique par l'utilisation de microorganismes.....	21
3. 5. La lutte chimique.....	22
3. 6. La lutte génétique.....	22

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

1. Objectifs.....	23
2. Le matériel biologique .....	23
3. Le matériel végétal.....	23
4. La purification des souches.....	24
5. Le test d'hypersensibilité sur tabac (réaction d'hypersensibilité).....	25
6. Le test du pouvoir pathogène des bactéries.....	26
7. Les paramètres étudiés.....	27

### **Chapitre III : Résultats et interprétation**

1. Analyse de la réaction d'hypersensibilité.....	28
2. Le test du pouvoir pathogène .....	29
2. 1. Sur la tomate.....	29
2. 2. Sur l'aubergine.....	31

### **Chapitre IV : Discussion des résultats**

1. Réaction d'hypersensibilité.....	34
2. Le pouvoir pathogène et virulence des souches.....	36

Conclusion.....	40
-----------------	----

Références bibliographiques

Annexes

# **Références bibliographiques**

## *Références bibliographiques*

- **Agrios G. N. 1997.** Plant pathology. 4e édition. Academic Press Inc., San Diego Californie. 635p.
- **Ahikari, T.B and Basnyat, R.C. 1998.** Effect of crop rotation and cultivar resistance on bacterial wilt of tomato in Nepal. Can. J. Plant pathol. 20: 283-287.
- **Ahoussi Augustin MOH. 2012.** Etude des facteurs écologiques influençant la croissance et Le développement des *Pectobacterium* spp. Infectant les Tubercules de pomme de terre. Thèse de doctorat, Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, Belgique. 113 p., 12 Tabl.,14 Fig.
- **Alfano, J.R., and Collmer, A. 1996.** Bacterial pathogens in plant life up against the wall, Departement of plant pathology, Cornell University, Ithaca, New York 14853-4203. The plant cell, vol 8, 1683-1698. October 1996 American society of physiologists.
- **Alfano, J.R., and Collmer, A. 2004.** Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defense. *Annu Rev Phytopathol* 42: 385-414.
- **Anonyme, 2007.** FAOSTAT Le monde de la pomme de terre: Production et consommation. Année Internationale de la pomme de terre 2008, FAO, Rome, 3 p.
- **Anonyme, 2008a.** FAO *Année internationale de la pomme de terre: Eclairage sur un trésor enfoui.* Compte rendu de fin d'année. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, Rome, ISBN : 978-92-5-306142-7, 148 p.
- **Anonyme, 2008b.** Cahiers Agricultures vol. 17, n° 4.
- **Anonyme, 2011.** Statistiques agricoles. Ministère de l'agriculture et du développement rural.
- **Anonyme. 2012.** FAOSTAT Food And Agriculture Organization Of The United Nations, <http://faostat.fao.org> .
- **Anonyme. 2014.** Norme CEE-ONU concernant la commercialisation et le contrôle de la qualité commerciale des plants de pomme de terre. Guide de la CEE-ONU sur les maladies, parasites et défauts des plants de pomme de terre.

- **Barzic MR, Samson R, Trigalet A.** Pourriture bactérienne de la tomate cultivée en serre. *Ann Phytopathol* 1976 ; 8 : 237-40.
- **Benhamou, N. 1991.** Cell surface interactions between tomato and *Clavibacter michiganensis subsp michiganensis*; localization of some polysaccharides and hydroxyproline- rich glycoproteins in infected host leaf tissue. *Physiol Plant Pathol* 38: 15-38.
- **Blok, V.C., Pylypenko, L., and Phillips, M.S. 2006.** Molecular variation in the potato cyst nematode, *Globodera pallida*, in relation to virulence. *Communications in agricultural and applied biological sciences* 71:637-638.
- **Boher bernard ; 1987.** Les bactéries parasites des plantes cultivées en république populaire du Congo. Laboratoire de Phytopathologie. Université Marien Ngouabi. Brazzaville.
- **Bonnemaine J-L; Chollet J-F; 2003.** Biologie et pathologie végétales. L'arsenal phytosanitaires face aux ennemis des plantes. Considérations générales. *C.R. biologies* 326 : 1-7.
- **Boucher CA, Gough CL, Arlat M. 1992.** Molecular genetics of pathogenicity determinants of *Pseudomonas solanacearum* with special emphasis on *hrp* genes. *Annu Rev Phytopathol* 30:443-461
- **Boughammoura, A., Franza, T., Dellagi, A., Roux, C., Matzanke-Markstein, B., and Expert, D. 2007.** Ferritins, bacterial virulence and plant defence. *Biometals* 20:347-353.
- **Brodersen, P., Malinovsky, F.G., Hematy, K., Newman, M.A., and Mundy, J. 2005.** The role of salicylic acid in the induction of cell death in *Arabidopsis* *acd11*. *Plant Physiology* 138:1037-1045.
- **Buddenhagen, I. W., Sequeira, L. & Kelman, A. 1962.** Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*. 52: 726.
- **Buozianni M. 2007.** L'usage immodéré des pesticides: de graves consequences sanitaire-Epidemiologiste, Faculté de médecine d'Oran.
- **Campos E., Maher E.A., Kelman A. 1982.** Relationship of pectolytic clostridia and *Erwinia carotovora* strains to decay of potato tubers in storage. *Plant Disease* 66, 543-6.

- **Champoiseau, P. G., Jones, J. B., and Allen, C. 2009.** *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 causes tropical losses and temperate anxieties. Online. Plant Healthprogress doi:10.1094/PHP-2009-0313-01-RV.
- **Champoiseau, P.G., Jones, J.B., Momol, T.M., Allen, C., Norman, D. J., Harmon, C., Miller, S. A., Schubert, T., Bell, D., Floyd, J. P., Kaplan, D., and Bulluck, R. 2010.** Recovery Plan for *Ralstonia solanacearum* Race 3 Biovar 2 Causing Brown Rot of Potato, Bacterial Wilt of Tomato, and Southern Wilt of Geranium. [http://plantpath.ifas.ufl.edu/rsol/RalstoniaPublications\\_PDF/USDA\\_Recovery\\_Plan\\_R3bv2\\_May2010.pdf](http://plantpath.ifas.ufl.edu/rsol/RalstoniaPublications_PDF/USDA_Recovery_Plan_R3bv2_May2010.pdf)
- **Charkowski A.O. 2006.** The Soft Rot *Erwinia*. In: Samuel S. Gnanamanickam (Ed.). *Plant- Associated Bacteria*, pp. 423-505.
- **CLEMENT J-M. 1981.** *Larousse agricole*. Librairie Larousse, Paris, ISBN 2-03-514301-2, 1208 p.
- **Corcuff, R., Mercier, J., Tweddell, R., and Arul, J. 2011.** Effect of water activity on the production of volatile organic compounds by *Muscodor albus* and their effect on three pathogens in stored potato. *Fungal Biology* 115:220-227.
- **Cornelis GR, Van Gijsegem F. 2000.** Assembly and function of type III secretory systems. *Annual Review of Microbiology* 54:735-774
- **Cornelis, G.R. 2006.** The type III secretion injectisome. *Nat Rev Microbiol* 4: 811-825.
- **Costa JM et Loper JE ; 1994.** Characterization of siderophore production by the biological-control agent *Enterobacter cloacae*. *Mol Plant Microbe Interact* 7: 440-448.
- **Czajkowski R., Pérombelon M.C.M., van Veen J.A., van der Wolf J.M. 2011.** Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review. *Plant Pathology* 60, 999-1013.
- **Dallaire C., 2008.** Les agents pathogènes (*Streptomyces* et *Spongospora*) responsables des gales que l'on retrouve chez la pomme de terre. Laboratoire de diagnostic en phytoprotection, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), Canada, pp. 8.

- **Davis MJ, Gillaspie AG, Vidaver AK et Harris RW. 1984.** *Clavibacter*. a new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov. subsp. nov. & *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. nov., pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and bermudagrass stunting diseases. *International journal of Systematic Bacteriology* 34, 107-117.
- **Davis RM, Nunez J and Smart C. 1997.** UC IPM pest management guidelines: potato. The University of California, USA. <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r607100211.html>
- **De Boer SH, Verdonck L, Vrugink H, et al.** Serological and biochemical variation among potato strains of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and their taxonomic relationship to other *Erwinia carotovora* strains. *J Appl Bacteriol* 1987 ; 63 : 487-95.
- **De Boer, S.H. 1994.** Prospects for control of potato diseases caused by pectolytic *Erwinias*. *Advances in Potato Pest Biology and Management*, APS Press: 136-148.
- **Dellagi, A., Segond, D., Rigault, M., Fagard, M., Simon, C., Saindrenan, P., and Expert, D. 2009.** Microbial Siderophores Exert a Subtle Role in Arabidopsis during Infection by Manipulating the Immune Response and the Iron Status. *Plant Physiology* 150:1687- 1696.
- **Denny TP, Carney BF and Schell MA. 1990.** Inactivation of multiple virulence genes reduces the ability of *Pseudomonas solanacearum* to cause wilt symptoms. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **3:293-300**.
- **Denny, T. P. & Baek, S. R. 1991.** Genetic evidence that extracellular polysaccharide is a virulence factor of *Pseudomonas solanacearum*. *Mol Plant-Microbe Interact* 4: 198-206.
- **Denny, T. P. & Hayward, A. C. 2001.** *Ralstonia solanacearum*. In *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*, pp. 151-174. Edited by Schaad, N. W., Jones, J. B. & Chun, W. St. Paul, MN: APS Press.
- **Dickey, R.S., H.Z., C., and K.U., J. 1984.** *Erwinia chrysanthemi*: Serological relationships among strain from several hosts. *Phytopathology*, 11-1388-1394.
- **Dinesen, I. G. 1984.** The extraction and diagnosis of *Corynebacterium sepedonicum* from diseased potato tuber. *Eppo Bull.* 14 (2), 147-152.



- **Duarte V., De Boer S.H., Ward L.J., de Oliveira A.M.R. 2004.** Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of Applied Microbiology* **96**, 535-545.
- **Ezzahiri B, M, Bouhache, M.** Mihi et I. Erraki ; 2004 – index phytosanitaire du Maroc.ed. 2004. AMPP. 257p.
- **Farag, N.S.; Lashin, S.M.; All-Abdel, R.S.; Shatta, H.M.; Seif-Elyazal, A.M. 1982.** Antibiotics and control of potato black leg and brown rot diseases. *Agricultural Research Review* **60**, 149-166.
- **Fleurat Lessard, F. 2005.** Bases écophysiologiques de la lutte physique contre les insectes. In Regnault-Roger, C, Fabres G. Philogène, B J. R. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Lavoisier Tec & Doc, Paris, p 787-804.
- **Franc GD. 1999.** Persistence and Latency of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in Field-Grown Seed Potatoes. *Plant Disease* **83**, 247-250.
- **French, E.R. 1985.** Multiple disease resistance in potato cultivars with *Solanum phureja* and *S. demissum* background. *Phytopathology* **75**, 1288.
- **Galán JE, Collmer A. 1999.** Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. *Science* **284**:1322-1328
- **Gardan L, Gouy C, Christen R, et al.** Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavasculorum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. *Int J Evol Microbiol* **2003** ; **53** : 381-91.
- **Genin S. 2010.** Molecular traits controlling host range and adaptation to plants in *Ralstonia solanacearum*. *New Phytol.* **187**: 920-8.
- **Glazebrook J. 2005.** Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology* **43**: 205-227.
- **Gonzalez Adriana. 2010.** Functional characterization of a large genomic deletion resulting in loss of virulence in *Ralstonia solanacearum* race3 biovar2 strains. Université Toulouse III - Paul Sabatier.
- **Graham, J.; Jones, D.A.; Lloyd, A.B. (1979)** Survival of *Pseudomonas solanacearum* in plant debris and in latently infected potato tubers. *Phytopathology* **69**, 1100-1103.

- **Graham, J.; Jones, D.A.; Lloyd, A.B. 1979.** Survival of *Pseudomonas solanacearum* in plant debris and in latently infected potato tubers. *Phytopathology* **69**, 1100-1103.
- **Graham, J.; Lloyd, A.B. (1979)** Survival of the potato strain (race 3) of *Pseudomonas solanacearum* in the deeper soil layers. *Australian Journal of Agricultural Research* **30**, 489-496.
- **Graham, J.; Lloyd, A.B. 1979.** Survival of the potato strain (race 3) of *Pseudomonas solanacearum* in the deeper soil layers. *Australian Journal of Agricultural Research* **30**, 489-496.
- **Gregory, P. 1977.** Major potato diseases, insects, end nematodes: insects.86-89.
- **Grenier, A.-M., Duport, G., Pagès, S., Condemine, G., and Rahbé, Y. 2006.** The Phytopathogen *Dickeya dadantii* (*Erwinia chrysanthemi* 3937) Is a Pathogen of the Pea Aphid. *Applied and Environmental Microbiology* **72**:1956-1965.
- **Guidot, A ; Prior, P ; Schoenfeld, J ; Carrière, S ; Guenin, S ; Boucher, C. 2007.** Genomic structure and phylogeny of plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from gene distribution analysis. *Journal of Bacteriology*, **189**. pp. 377-387.
- **Haddane R. 2013.** Détection et identification des principaux genres bactériens isolés de quelques variétés de pomme de terre dans différentes régions de l'Algérie. Université de Blida.
- **Hammond-Kosack et Jones J.D.G. 1996.** Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell* **8**: 1773-1791.
- **Harkabi H. 2016.** Evaluation des facteurs favorisant le développement des *Pectobacteria* sur la pomme de terre. Université Blida 1.
- **Hartman GL, Hong WF, Hanudin, Hayward AC. 1993.** Potential of biological and chemical control of bacterial wilt. In: Hartman GL, Hayward AC (eds) *Bacterial wilt*. ACIAR, Canberra, Australia, pp 322-326
- **Hartman, G.L.; Elphinstone, J.G. 1994.** Advances in the control of *Pseudomonas solanacearum* race 1 in major food crops. In: *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum* (Ed. by

Hayward, A.C.; Hartman, G.L.), pp. 157-177. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni.

- **Hauben L., Swings J. 2005.** Family I. Enterobacteriaceae. Genus XIII. *Erwinia* Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers and Smith 1920, 209AL emend. Hauben, Moore, Vauterin, Steenackers, Mergaert, Verdonck and Swings 1999a, 1. In: George M. Garrity (eds). Second Edition. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. The Proteobacteria vol 2. The Gammaproteobacteria, part B, pp. 670-679.
- **Hay, R. K. 2001.** Scientific Review 1997-2000. Scottish Agricultural Science Agency, Edinburgh, Scotland.
- **Hayward, A. C. 1991.** Biology and epidemiology of bacteria wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytoathol.* 29pp. 65-87.
- **He SY, Nomura K, Whittam TS. 2004.** Type III protein secretion mechanism in mammalian and plant pathogens. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1694:181-206
- **Hélias, V. 2008.** *Pectobacterium spp.* et *Dickeya spp.* de la pomme de terre : nouvelle nomenclature pour *Erwinia spp.*, symptomatologie, épidémiologie et prophylaxie, *C. Agricultures*, 4:349-354.
- **Hélias V, Le Roux AC, Montfort F.** Potato blackleg in France: incidence of causal *Erwinias* species and field symptoms expression. 1<sup>st</sup> International *Erwinia* Workshop, Dundee, Scotland. 7–9th July 2006; 15.
- **Hélias V., Andrivon D., Jouan B. 2000a.** Development of symptoms caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* under field conditions and effects of these symptoms on the yield of individual potato plants. *Plant Pathology* **49**, 23-32.
- **Herlache, Kzhanghs, Ridecl, Carlesa, Zhengd, Basaranap, Thekerm, Burrat, B uur TJ. 2001.** Mutation that affect *Agrobacterium vitis* induced grape necrosis also after its ability to cause a hypersensitive response on the tobacco, *Phytopathology* 91, 966-972p.
- **Horst R. K., S. O. Kawamoto, et L. L. Porter. 1992.** Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. *Plant Dis.* **76**:247- 51.

[https://www.unece.org/fileadmin/DAM/trade/agr/promotion/Brochures/SeedPotatoes/LowResolution\\_French.pdf](https://www.unece.org/fileadmin/DAM/trade/agr/promotion/Brochures/SeedPotatoes/LowResolution_French.pdf)

- **Janse JD et Wenneker, M. 2002.** Possibilities of avoidance and control of bacterial plant diseases when using pathogen-tested (certified) or-treated planting material. BReview. Section Bacteriology, Plant Pathology (2002) 51, pp. 523-536.
- **Janse JD, Ruissen MA.** Characterization and classification of *Erwinia chrysanthemi* strains from several hosts in The Netherlands. *Phytopathology* 1988 ; 78 : 800-8.
- **JEAN C., 2000.** Maladies, insectes nuisibles et utiles de la pomme de terre : Guide d'identification. Institut de Recherche et de Développement en Agroenvironnement (IRDA). Sainte-foy, Quebec, pp. 32.
- **Jeger M. J., G. A. Hide, P. H. J. F. Van Den Boogert, A. J. Termor Shuizen, et P. Van Baarlen. 1996.** Pathology and control of soil-borne fungal pathogens of potato. *Potato Res.* **39**:437-469.
- **Ji X, Lu G, Gai Y, Zheng C, Mu Z. 2008.** Biological control against bacterial wilt and colonization of mulberry by an endophytic *Bacillus subtilis* strain. *FEMS Microbiology Ecology* 65:565-573
- **Jones, J.D.G., and Dangl, J.L. 2006.** The plant immune system. *Nature* 444:323-329.
- **Kao, C. C. Barlow, E; and Squeira, L. 1992.** Extracellular Polysaccharide Is Required for Wild-Type Virulence of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Bacteriol.* 174:1068-1071.
- **Kelman A, Jensen JH. 1951.** Maintaining virulence in isolates of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*;41:185-187.
- **Kelman, A. 1953.** The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. A literature review and bibliography. Raleigh, N.C.: North Carolina State College.
- **Klaus, H. 2001.** Iron and metal regulation in bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 4:172-177.

- **Koiv, V., Andresen, L., and Mae, A. 2010.** AepA of *Pectobacterium* is not involved in the regulation of extracellular plant cell wall degrading enzymes production. *Molecular Genetics and Genomics* 283:541-549.
- **Latour X., Faure D., Diallo S., Cirou A., Smadja B., Dessaux Y., Orange N. 2008.** Lutte contre les maladies bactériennes de la pomme de terre dues aux *Pectobacterium* spp. (*Erwinia carotovora*). *Cahiers Agricultures* **17**, 355-60.
- **Lautier, T. 2007.** Rôle de la protéine associée au nucléoïde Fis dans le contrôle de la virulence chez la bactérie phytopathogène *Erwinia chrysanthemi*. I.N.d.S.A.d. Lyon, ebook 2007:1-200.
- **Lebeau, A. 2010.** Resistance de la tomate, l'aubergine et le piment à *Ralstonia solanacearum* : interactions entre les gènes de résistance et la diversité bactérienne, caractérisation et cartographie des facteurs génétiques impliqués chez l'aubergine. Docteur : Université de la Réunion.
- **Leigh, J.A et Coplin, D.L. 1992.** Exopolysaccharides in plant-bacterial interactions. *Annu Rev Microbiol* 46 :307-346.
- **Lelliott RA et Stead DE. 1987.** Methods in Plant Pathology Volum 2, Methods for Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants, Chapter 3 Diagnostic Procedures ; 3.5.7. Bacterial ring rot of potatoes (*Clavibacter michiganense* subsp. *Sepedonicum* syn. *Corynebacterium Sepedonicum*). Blackwell Scientific Publications. p97-101.
- **LEPOIVRE P., 2003-** phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. les presses agronomiques de Gembloux. De Boek ed 1, Bruxelles, 427p.
- **Leyns, F ; De Cleene, M. 1983.** Histopathology of the bacteriosis caused by inoculation of *Corynebacterium michiganense* and *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* in tomato stems. *Mededelingen van de Fculiteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent* 48 (3), 663-670.
- **Lindgren, P.B. 1997.** The role of hrp genes during plant-bacterial interaction *Annu Rev Phytopathol* 35. pp. 129-152.
- **Manzer, F.E; McKenzie, A.R. 1988.** Cultivar response to bacterial ring rot infection in Maine. *American Potao Journal* 65, 333-339.
- **Marchoux G., Gognalons P. & Sélassié K.G., 2008.** *Virus des Solanacées. Du génome viral à la protection des cultures.* Paris, France: Quae.

- **Marte, M. 1980.** Histological observations on tomato stems naturally infected by *Corynebacterium michiganense*. *Phytopathologische Zeitschrift* 97, 252-271.
- **McCarter, S.M. (1991)** Bacterial wilt. In: *Compendium of tomato diseases* (Ed. by Jones, J.B.; Jones, J.P.; Stall, R.E.; Zitter, T.A.), pp. 28-29. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, Etats-Unis.
- **McGarvey, J. A; Denny, T.P. and Schell, M. A. 1999.** Spatial-Temporal and Quantitative Analysis of Growth and EPS I Production by *Ralstonia solanacearum* in Resistant and Susceptible Tomato Cultivars. *Phytopathology*. 89:1233-1239.
- **Mecteau M. R., J. Arul, et R. J. Tweddell. 2002.** Effect of organic and inorganic salts on the growth and development of *Fusarium sambucinum*, a causal agent of potato dry rot. *Mycol Res* **106**:688-696.
- **Metzler, MC; Laine, M.J et Boer, S.H. 1997.** The Status of Molecular Biological Research on the Plant Pathogenic Genus *Clavibacter*. *FEBS Microbiology Lett*; 150, 1-8.
- **Miura, L; Romeiro, R. da S; Gomes, J.C. 1986.** Production, purification and biological activity of an exotoxin produced in vitro by *Corynebacterium michiganense* pv. *Michiganense*. *Fitopatologia Brasileira* 11, 789-794. 267.
- **Molina JJ, Harrison MD.** The role of *Erwinia carotovora* in the epidemiology of potato blackleg. I. Relationship of *E. carotovora* var. *carotovora* and *E. carotovora* var. *atroseptica* to potato blackleg in Colorado. *Am Potato J* 1977 ; 54 : 587-91.
- **Moreau, M., Orange, N., and Brisset, J.L. 2005.** Application of electric discharges at atmospheric pressure and ambient temperature for bio-decontamination. *Ozone- Science & Engineering* 27:469-473.
- **Mulholland, V., Hinton, J.C.D., Sidebotham, J., Toth, I.K., Hyman, L.J., Perombelon, M.C.M., Reeves, P.J., and Salmond, G.P.C. 1993.** A pleiotropic reduced virulence (Rvi-) mutant of *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica* is defective in flagella assembly proteins that are conserved in plant and animal bacterial pathogens. *Molecular Microbiology* 9:343-356.

- **Mur, L.A.J., Kenton, P., Lloyd, A.J., Ougham, H., and Prats, E. 2008.** The hypersensitive response; the centenary is upon us but how much do we know? *Journal of Experimental Botany* 59:501-520.
- **Murakoshi, S.; Takahashi, M. 1984.** Trials of some control of tomato wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Bulletin of the Kanagawa Horticultural Experiment Station* No. 31, pp. 50-56.
- **N'deye, N; 1995.** Caractérisation des peuplements nématologiques dans les systèmes de culture à jachère au sud du bassin arachidier du Sénégal. Communication présentée à l'atelier du Gis-Linné, tenu le 4 Mai 1995 à Thiés au Sénégal.
- **Nelson, G.A. 1984.** Survival of *Corynebacterium sepedonicum* in potato stems and on surfaces held at freezing and above-freezing temperatures. *American Potato Journal* 62, 23-28.
- **Newman, M.-A., Dow, J.M., Molinaro, A., and Parrilli, M. 2007.** Priming, induction and modulation of plant defence responses by bacterial lipopolysaccharides. *Journal of Endotoxin Research* 13:69-84.
- **OEPP/EPPO, 2004.** *Ralstonia solanacearum*. Diagnostic protocols for regulated pests. Paris, Bulletin 34, pp. 1173-178.
- **OEPP/EPPO, 2005.** Fiche informative sur les organismes de quarantaine. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.
- **OEPP/EPPO. 1978.** Data sheet on quarantine organisme No. 58, *Pseudomonas solanacearum*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 8 (2).
- **OEPP/EPPO. 1978a.** Fiche informative sur les organismes de quarantaine No. 51, *Corynebacterium sepedonicum*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 8 (2).
- **Olivier C., D. E. Halseth, E. S. G. Mizubuti, et R. Loria. 1998.** Postharvest application of organic and inorganic salts for suppression of silver scurf on potato tubers. *Plant Dis.* 82:213-217.
- **Panneton, B ; C. Vincent et F. Fleurat-Lessard. 2000.** Place de la lutte physique en phytoprotection, pp. 1-24 in C. Vincent, B. Panneton et F. Fleurat- Lessard (Eds.) la lutte physique en phytoprotection, INRZ Edition, Paris, 347p.

- **Pasco C., Bozec M., Ellissèche D., Andrivon D. 2006.** Resistance Behaviour of Potato Cultivars and Advanced Breeding Clones to Tuber Soft Rot Caused by *Pectobacterium atrosepticum*. *Potato Research* **49**, 91–98.
- **Pérombelon M.C.M., Kelman A. 1987.** Blackleg and other potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: a proposal for a revision of the terminology. *Plant Disease* **71**, 283–5.
- **Pérombelon MCM.** Potato blackleg: epidemiology, host-pathogen interaction and control. *Neth J Plant Pathol* 1992 ; 98 : 135-46.
- **Pérombelon, M.C.M. 2002.** Potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology* 51:1-12.
- **Pérombelon, M.C.M., et Kelman, A. 1980.** Ecology of the Soft Rot *Erwinias*. *Annual Review of Phytopathology* 18:361-387.
- **Perseley, G. J. 1986.** Bacterial wilt disease in Asia and south Pacific workshop held at PCARRD; Los Banos, Philippine, 8-10 October 1985. ACIAR presse. N° 13, 145p.
- **Rasche F., Velvis H., Zachow C., Berg G., Van Elsas J.D., Sessitsch A. 2006.** Impact of transgenic potatoes expressing anti-bacterial agents on bacterial endophytes is comparable with the effects of plant genotype, soil type and pathogen infection. *Journal of Applied Ecology* **43**, 555–566.
- **Rich A.E. 1983.** Diseases by virus, viroids and mycoplasmas in potato diseases, 283. Academic press, New –Yrok, 92-136p.
- **Romdhani M.E. 1994.** Les espèces et sous-espèces pectinolytiques d'*Erwinia* inféodées à la pomme de terre en Tunisie. Thèse de doctorat en Sciences Biologiques Appliquées, Gent. 344p.
- **Rousselle. P, Robert. Y, Crosnier. J.C, éd. 1996.** La pomme de terre : production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. P : 275-277.
- **Rousselle-Bourgeois F., Priou S. 1995.** Screening tuber-bearing *Solanum* spp. for resistance to soft rot caused by *Erwinia carotovora* spp. *atroseptica* (Van Hall) Dye. *Potato Research* **38**, 111-118.
- **Ryals J.A; Neuenschwander U.H, Willits M.G; Molina A, Steiner H.y. and Hunt M.D. 1996.** Systemic acquired resistance. *The Plant Cell* 8: 1809- 1819.



- **Salanoubat, M., Genin, S., Artiguenave, F., Gouzy, J., Mangenot, S., Arlat, M., Boucher, C. A. 2002.** Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Nature*, 415(6871), 497-502.
- **Samson R., Legendre J.B., Christen R., Fischer-Le Saux M., Achouak W., Gardan L. 2005.** Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder *et al.* 1953) Brenner *et al.* 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zaeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **55**, 1415-27.
- **Schell MA, Roberts DP, Denny TP (1988).** Analysis of the *Pseudomonas solanacearum* polygalacturonase encoded by *pglA* and its involvement in phytopathogenicity. *Journal of Bacteriology* 170:4501-4508
- **Semal, J ; Besri, M. et Lepoivre, P ; 1994.** Protection des cultures. Pp 399-426.
- **Sharga B. M., et G. D. Lyon. 1998.** *Bacillus subtilis* BS 107 as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria. *Can. J. Microbiol.* **44**:777-783.
- **Shekhawat GS, Chakrabarti SK, Kishore V, Sunaina V, Gadewar AV .1993.** Possibilities of biological management of potato bacterial wilt with strains of *Bacillus* sp., *B. subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* and Actinomycetes. In: Hartman GL, Hayward AC (eds) Bacterial wilt. ACIAR, Canberra, Australia, pp 327-330
- **Smith EF, 1920.** An Introduction to Bacterial Diseases of Plants. Philadelphia, PA/London: WB Saunders.
- **Smith EF. 1920.** The brown rot of *Solanaceae*. Bacterial diseases of plants. U.S.A.: Saunders Company :177.
- **Smith, E. F. 1914.** Bacteria in relation to plant diseases. Wash. Carnegie Inst. *solanacearum* and analysis of its role in phytopathogenicity. *J Bacteriol.* 170: 1445– 1451.
- **SOLSTNER D., 1983.** *Les grandes productions végétales*. Collection Sciences et Techniques Agricoles, 13ème édit., Paris, France, pp. 242-278.

- **Stanghellini ME, Meneley JC. 1975** Identification of soft rot *Erwinia* associated with blackleg of potato in Arizona. *Phytopathology*; 65: 86-7.
- **Stevenson W. A., R. Loria, G. D. Franc, et D. P. Weingartner. 2001.** Compendium of potato diseases. American Phytopathological Society. 2e éd. St-Paul, Minnesota. 106p.
- **Stevenson W.A. R. Loria, G. D. Franc, et D. P. Weingartner. 2001.** Compendium of potato diseases. American Phytopathological Society. 2e éd. St-Paul, Minnesota. 106p.
- **Stommel JR, Goth RW, Haynes KG, Kim SH.** Pepper (*Capsicum annuum*) soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *PlantDis* 1996 ; 80 : 1109-12.
- **Storey R. J. M., et H. V. Davies.** 1992. Tuber quality. Pp 507-569. *Dans* The Potato Crop. Paul Harris (éd). Chapman & Hall. Londres.
- **Taffifet, L. 2008.** Pouvoir pathogène d'une population de *Ralstonia solanacearum* isolée de semences de pomme de terre. Thèse ing. Université de Blidda. 59p.
- **Toth, I.K., Bell, K.S., Holeva, M.C., and Birch, P.R.J. 2003a.** Soft rot erwiniae: from genes to genomes. *Molecular Plant Pathology* 4:17-30.
- **Toth, I.K., et Birch, P.R.J. 2005.** Rotting softly and stealthily. *Current Opinion in Plant Biology* 8:424-429.
- **Tsrer (Lahkim) L., Erlich O., Lebiush S., Hazanovsky M., Zig U., Slawiak M., Grabe G., van der Wolf J. M., van de Haar J.J. 2009.** Assessment of recent outbreaks of *Dickeya* sp. (syn. *Erwinia chrysanthemi*) slow wilt in potato crops in Israel. *European Journal of Plant Pathology* **123**, 311–320.
- **Van der Merwe J.J., Coutinho T.A., Korsten L., van der Waal J.E. 2010.** *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg on potatoes in South Africa. *European Journal of Plant Pathology* **126**, 175–185.
- **VANDERHOFSTADT, B. et JOUAN B., 2009.** Guide technique de la culture de la pomme de terre en Afrique de l'Ouest. Centre pour le Développement de l'Entreprise. Union Européenne, Hoegaarden, Belgium, 82
- **Wei ZM, Laby RJ, Zumoff CH, Bauer DW, He SY, Collmer A, Beer SV. 1992.** Harpin, elicitor of hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. *Science* 257: 85-88.

- **Wydra K, Diogo R, Dannon E, Semrau J .2005.** Soil amendment with silicon and bacterial antagonists induce resistance against bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in tomato. In: Tielkes E, Hülsebusch C, Häuser I, Deininger A, Becker K (eds) Tropentag 2005, International Research on Food Security, Natural Resource Management and rural Development, Stuttgart
- **Yabuuchi E et Smith J. 1999.** La lutte contre *Ralstonia solanacearum*, 1-34p.
- **Yaganza E.-S. 2005.** Utilisation post-récolte de sels organiques et inorganiques pour lutter contre la pourriture molle de la pomme de terre : base physico-chimique. Philosophiae doctor (Ph.D.): Université Laval (Québec, Canada).
- **Yu, S.P., and Choi, D.W. 2000.** Ions, cell volume, and apoptosis. P Natl Acad Sci USA 97:9360-9362.
- **Zhang, L., Jia, C., Liu, L., Zhang, Z., Li, C., and Wang, Q. 2011.** The involvement of jasmonates and ethylene in *Alternaria alternata* f. sp *lycopersici* toxin-induced tomato cell death. Journal of Experimental Botany 62:5405-5418.

# **Annexes**

## **Annexe 1**

### **Composition du milieu de culture utilisé**

**(Donné pour un litre de milieu)**

Le milieu LPGA (Levure peptone glucose agar)

Bactopeptone .....5g

Extrait de levure .....5g

Glucose .....10g

Agar .....15g

Ajuster le pH à 7,2 avant d'ajouter l'agar.

Autoclaver 20 minutes à 120°C.