

REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention
Du diplôme de Master 2
Spécialité : Biologie des interactions plantes microorganismes.

Thème

**Evaluation des facteurs favorisant le développement des
Pectobacteria sur la pomme de terre**

Présenté par
M^{elle} Harkabi Halima

Soutenue devant le jury composée de :

M ^{me} Nebih D.	M.C.A	U.S.D.B1	Président de jury
M ^{me} Krimi Z.	Professeur	U.S.D.B1	Promotrice
M ^{me} Marok-Alim D.	Attachée de recherche	INRAA	Co-Promotrice
M ^{elle} Tafifet L.	M.A.B.	U.A.M.O	Examinatrice
M ^{me} Djellout H.	Doctorante	U.S.D.B1	Invitée

Année universitaire 2015/2016

Remerciement

Je tiens à remercier en premier lieu ALLAH le tout puissant de m'avoir donné courage, volonté et santé pour achever ce travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma reconnaissance.

Je voudrais tout d'abord adresser toute ma gratitude à ma mère pour son amour, sa patience et son soutien ainsi que mon très cher père pour ces sacrifices, son aide et sa confiance.

Je désire remercier Mme Krimi qui m'a fourni les outils nécessaires à la réussite de mes études universitaires. Ainsi que m'avoir accepté au sein de son laboratoire, sa disponibilité et sa serviabilité à tous les moments.

Je tiens à remercier ma dirigeante Mme Marok-Alim D. pour sa patience, sa serviabilité, son soutien et ces encouragements durant toute la période de ce travail.

Mes sincères remerciements est adressé à madame la présidente ainsi que les membres de jury, d'avoir accepté sans hésitation de lire, d'apprécier et de juger mon travail.

J'adresse mes remerciements à toutes les personnes avec lesquelles j'ai eu la joie de collaborer avec au sein du laboratoire de phytobacteriologie : Samia, selma, sarah, wissem, Hadjer, Rachida, Bouchra et Selma tech.

Enfin, je tiens à témoigner toute ma gratitude à mes frères et ma sœur Imene, ainsi que Rofieda, Samia, Isma, Hadda, fatma, ma famille et tous mes amies et collègues qui m'ont apporté leur support moral et intellectuel, leur confiance et leur support inestimable tout au long de ma démarche.

Évaluation des facteurs favorisant le développement de *Pectobactéria* sur la pomme de terre

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier le développement d'une collection de souches bactériennes sous diverses conditions écologiques (l'humidité relative et la température) ainsi qu'un facteur biologique la virulence des souches bactériennes sur la pomme de terre.

Nous avons entamé notre étude par le test du pouvoir pathogène de nos souches bactériennes sur des cubes de pomme de terre de variété *spunta*, ce dernier est considéré comme un test de présélection permettant de sélectionner les souches les plus performantes ayant développées des symptômes de pourriture molle pour des tests ultérieurs. Parmi les 59 souches testées, 13 souches ont répondu positivement à l'inoculation *in vitro* de façon hétérogène.

Par la suite, les souches bactériennes sélectionnées sont inoculées sur des disques de pomme de terre et testées afin d'évaluer l'effet de la virulence, de température à 10°C, 22°C et 34°C, ainsi que l'effet de l'humidité relative à 50%, à 86% et à 100%. L'apparition et le développement des symptômes de la pourriture molle sont estimée par le calcul de la quantité nette de chair de tubercules de pomme de terre pourrie (Qncp).

Les résultats obtenus ont montré que les souches répondent de façon hétérogène à l'inoculation bactérienne, qui s'exprime par une dégradation des tissus végétaux. L'observation de la pourriture molle indique une différence de virulence entre les isolats. Indiquant ainsi une relation exponentielle entre l'expression des symptômes et l'augmentation de la température d'incubation et de l'humidité relative pour les isolats bactériens sélectionnés.

Pour la température 10°C, 7 isolats répondus positivement à l'inoculation avec une faible perte de poids ne dépassant pas 17%, et 11 isolats pour la température 22°C avec une perte moyenne, ainsi l'ensemble des isolats pour la température 34°C avec une forte perte de poids. Les résultats de l'humidité nous ont indiqué une influence importante de l'humidité relative pour les traitements à 50% et à 86%. Toutefois, l'humidité relative à 100% n'a pas montré une influence sur l'expression des symptômes.

Mots-clés: Pourriture molle, humidité relative, température, la virulence, pomme de terre.

Evaluation of factors promoting the development of *Pectobacteria* on potato

Abstract

The objective of this work is to study the development of a collection of bacterial strains under various environmental conditions (relative humidity and temperature) and a biological factor virulence bacterial strains on the potato.

We started our study by achieving a pathogenicity test of our bacterial strains on cubes of potato *spunta* variety, it is considered a screening test to select the most effective strains of successors developed symptoms of soft rot for subsequent tests. Of the 59 tested strains, 13 strains have responded positively to the *in vitro* inoculation heterogeneously.

Thereafter, the selected bacterial strains are inoculated on potato discs and tested in order to evaluate the effect of virulence, temperature 10°C, 22°C and 34°C, and the effect relative humidity 50%, 86% and 100%. The emergence and development of symptoms of soft rot are estimated by calculating the net quantity of potato tubers rotten flesh of land (Qncp).

The results obtained showed that the strains respond heterogeneously bacterial inoculation, which is expressed by a degradation of the plant tissues. The observation of soft rot indicates a difference in virulence between isolates. Indicating an exponential relationship between the expression of symptoms and increasing the incubation temperature and the relative humidity for the selected bacterial isolates.

For temperature 10°C, 7 isolates positively answered inoculation with a small loss of weight not exceeding 17%, and 11 isolates for temperature 22°C with an average loss, and all isolates for temperature 34°C with a strong weight loss. The results showed us a major influence on relative humidity for treatments at 50% and at 86%. However, the relative humidity at 100% did not show an influence on the expression of symptoms.

Keywords: Soft rot, relative humidity, temperature, virulence, potato tubers.

تقييم عوامل تعزيز التنمية ل *Pectobacteria* على البطاطا

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة تطوير مجموعة من السلالات البكتيرية في ظل ظروف بيئية مختلفة (الرطوبة النسبية و درجة الحرارة) فضلا عن عامل بيولوجي الحدة المرضية للسلالات البكتيرية على البطاطا.

بدأنا دراستنا من خلال تحقيق اختبار الشراسة لسلالات البكتيرية على مكعبات البطاطا نوع سبونتا، و يعتبر هذا الأخير كاختبار لتحديد السلالات الأكثر فعالية في تطور أعراض التعفن اللين للاختبارات القادمة. من بين 59 سلالة مختبرة، 13 سلالة قد استجابت بشكل إيجابي في التلقيح في المختبر بصفة متباينة.

بعد ذلك تم تلقيح السلالة المختارة على أقراص البطاطا و اختبارها من أجل تقييم الحدة المرضية و درجات الحرارة 10، 22 و 34 درجة مئوية و تأثير الرطوبة النسبية 50 % ، 86 % و 100 % . يقدر نشوء و تطور أعراض التعفن اللين عن طريق حساب الكمية الصافية من درنات البطاطا المتعفنة (Qncp).

أظهرت النتائج أن السلالات تستجيب للتلقيح البكتيري بتباين، مما يشير إلى علاقة أسية بين التعبير عن الأعراض و زيادة درجة حرارة الحضانة و الرطوبة النسبية لهذه العزلات البكتيرية المختارة.

بالنسبة لدرجة الحرارة 10 درجة مئوية 7 عزلات قد استجابة للتلقيح مع خسارة صغيرة في الوزن لا تزيد عن 17 %، و في 22 درجة مئوية 11 عزلة استجابة مع خسارة متوسطة بينما في 34 درجة استجابة جميع العزلات مع خسارة عالية في الوزن. أظهرت لنا النتائج تأثير كبير على الرطوبة النسبية للعلاج بنسبة 50 % و 86 % و مع ذلك فإن الرطوبة النسبية 100 % لم يظهر لها تأثير على الأعراض.

الكلمات الرئيسية:

التعفن اللين، الرطوبة النسبية، الحرارة، الحدة المرضية، البطاطا.

Liste des tableaux.

Tableau 1 : les différentes méthodes de stockage de la pomme de terre utilisées.....	5
---	---

Liste des figures.

Figure 1 : description général d'une plante de pomme de terre.....	3
Figure 2 : Production de pomme de terre dans certains pays de l'Afrique du nord (1999 – 2010).....	7
Figure 3 : Tubercules de pommes de terre infectées par <i>Pba</i> 709 après trois jours d'incubation à 24 °C et à 100% d'humidité relative.....	10
Figure 4: Symptômes caractéristiques de la maladie de la pourriture molle sur différents végétaux infectés par les <i>Dickeya</i> spp.....	11
Figure 5. Symptôme de jambe noire, variant de pourritures humides brun foncé à noire de la base des tiges à des nécroses plus ou moins sèches et/ou tiges creuses.....	12
Figure 6. Pourriture molle et humide causée par <i>Pectobacterium</i> sp ou <i>Dickeya</i> sp.....	13
Figure 7. Pourritures dures lenticellaires.....	14
Figure 8: Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne.....	15
Figure 9. Système de sécrétion type II de <i>Pectobacterium carotovorum</i>	19
Figure 10: Structure du Lipopolysaccharide.....	22
Figure 11: les étapes de stérilisation de pomme de terre réaliser sous hotte à flux laminaire.....	27
Figure 12 : Les cubes de pomme de terre inoculée dans des boites de pétri stérile.....	28
Figure 13 : dépôt de l'inoculation bactérienne sur les disques de pomme de terre.....	29
Figure 14 : Microplaques de culture cellulaire contenant les disques de la pomme de terre.....	30
Figure 15 : Réponse des cubes de pomme de terre à l'inoculation <i>in vitro</i> des souches après trois jours d'incubation à 28°C.....	33
Figure 16 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 28°C.....	34
Figure 17: moyenne de Perte du poids (%) par les 13 isolats suite au développement de pourritures molles sur les disques de pomme de terre variété <i>spunta</i>	35
Figure 18 : Les disques de pomme de terre inoculée par les souches après trois jours d'incubation à 10°C.....	37

Figure 19 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 22°C.....	38
Figure 20 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 34°C.....	39
Figure 21 : la quantité de chair de pomme de terre pourrie observé sur les disques de pomme de terre inoculé et incubé à trois températures différentes (10, 22 et 34°C) pendant trois jours.....	40
Figure 22 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 28°C et 50% d'humidité relative.....	41
Figure 23 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 28°C et 86% d'humidité relative.....	42
Figure 24 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 28°C et 100% d'humidité relative.....	43
Figure 25 : la quantité de chair de pomme de terre pourrie observé sur les disques de pomme de terre inoculé et incubé à 28°C pendant trois jours aux différentes valeurs d'humidité relative (50%, 86% et 100%).....	44

Liste des abréviations

a_w	water activity (humidité relative).
ufc	unité de colonie formée
<i>Pcc</i>	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp <i>carotovorum</i> .
<i>Pba</i>	<i>Pectobacterium atrosepticum</i> .
<i>Ecc</i>	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> .
<i>Eca</i>	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i> .
PCWDE	Plant Cell Wall Degrading Enzymes (enzyme de dégradation des parois cellulaires des plantes).
PEL	Pectates lyases.
PNL	Pectines lyases.
PEH	Polygalacturonases.
PME	Pectines methylesterases.
pH	potentiel d'Hydrogène.
Cel	Cellulases.
Prt	Protéases.
QS	Quorum Sensing.
AHL	N-acyl-homoserine lactone.
T1SS	Type One Secretion System (système de sécrétion de type 1).
T2SS	Type Two Secretion System (système de sécrétion de type 2).
LPS	Lipopolysaccharides.
PCR	reaction de polymerisation en chaine.
Var	Variété.

SOMMAIRE

Introduction	1
Chapitre 1 : synthèse bibliographique.	
1. Généralité sur la pomme de terre.....	3
2. La pourriture molle bactérienne ou la jambe noire de la pomme de terre.....	8
3. Conditions favorables au développement de <i>Pectobacterium spp</i> et <i>Dickeya spp</i>	16
4. Pouvoir pathogène des bactéries pectinolytiques.	18
5. Stratégies de lutte contre les <i>Pectobacterium spp</i>	23
Chapitre 2 : Matériels et Méthodes.	
1. Matériels.....	26
2. Méthodes.....	26
3. Etude des principaux facteurs.....	29
4. Quantification des symptômes.....	31
5. Analyse des résultats obtenus.....	32
Chapitre 3 : Résultats et interprétations.	
1. Le pouvoir pathogène des souches bactériennes.....	33
2. Le facteur biotique : La virulence des souches bactériennes.....	34
3. Les facteurs abiotiques.....	36
Chapitre 4 : Discussion	46
Conclusion générale	51

Table de matières

Remercîment

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction..... 1

Chapitre 1 : synthèse bibliographique.

1. Généralité sur la pomme de terre.....	3
1.1. L'importance de la pomme de terre.....	4
1.2. Stockage.....	4
1.2.1. Conservation des semences.....	4
1.2.2. Conservation de la pomme de terre de consommation.....	4
1.2.3. Les différentes méthodes de stockage utilisées.....	5
1.3. Production de la pomme de terre.....	6
1.4. Les facteurs influençant le rendement de la pomme de terre.....	7
1.4.1. Les facteurs abiotiques.....	7
1.4.2. Les facteurs biotiques.....	7
2. La pourriture molle bactérienne ou la jambe noire de la pomme de terre.....	8
2.1. Description et taxonomie.....	8
2.2. Les agents responsables de la pourriture molle de pomme de terre.....	9
2.2.1. <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp <i>carotovorum</i>	9
2.2.2. <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>Brasiliense</i>	9
2.2.3. <i>Pectobacterium wasabiae</i>	10
2.2.4. <i>Pectobacterium atrosepticum</i>	10

Table de matières

2.2.5. <i>Dickeya dadantii</i>	11
2.3. Symptomatologie.....	12
2.3.1. En végétation.....	12
2.3.2. Sur tubercules.....	13
2.4. Cycle de développement de la pourriture molle des tubercules.....	14
3. Conditions favorables au développement de <i>Pectobacterium spp</i> et <i>Dickeya spp</i>	16
3.1. Au champ.....	16
3.1.1. Rôle du tubercule mère.	16
3.1.2. Rôle du sol et de la rhizosphère.....	17
3.1.3. Rôle de l'eau et des aérosols.....	17
3.1.4. Transmission par le matériel et les pratiques agricoles.	17
3.2. Au stockage.....	18
4. Pouvoir pathogène des bactéries pectinolytiques.	18
4.1. Principaux facteurs de virulence.....	19
4.1.1. Système de sécrétion type II et dégradation de la paroi végétale.....	19
• Protéines de virulence sécrétées par le T2SS.....	20
4.1.2. Système de sécrétion type I et sécrétion des protéases.....	21
4.2. Autres facteurs affectant la pathogénie.....	21
4.2.1. Mobilité.....	21
4.2.2. Sidérophores.....	21
4.2.3. Lipopolysaccharides.....	22
5. Stratégies de lutte contre les <i>Pectobacterium sp</i>	23
5.1. La lutte physique.....	23
5.2. La lutte biologique.....	23
5.3. Lutte chimique.....	24
5.4. Les mesures prophylactiques.....	24
5.4.1. Préparation et choix de la parcelle.....	25
5.4.2. Précautions relatives à la culture.....	25
5.5. L'utilisation des sels.....	25

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes.

1. Matériels.....	26
-------------------	----

Table de matières

1.1 Matériels biologiques.....	26
1.2 Matériel végétal.....	26
2. Méthodes.....	26
2.1 Désinfection de Matériel végétal.....	26
2.2 Test du pouvoir pathogène.....	27
2.3 Préparation des suspensions bactériennes à inoculer.....	28
2.4 Méthode d'inoculation.....	28
3. Etude des principaux facteurs.....	29
3.1 Le facteur biotique.....	30
3.2 Les facteurs abiotiques.....	30
3.2.1 Etude de l'effet de la température sur le développement des symptômes de pourriture molle.....	30
3.2.2 Etude de l'effet de l'humidité sur le développement des symptômes de pourriture molle.....	31
4. Quantification des symptômes.....	31
5. Analyse des résultats obtenus.....	32

Chapitre 3 : Résultats et interprétations.

1. Le pouvoir pathogène des souches bactériennes.....	33
2. Le facteur biotique : La virulence des souches bactériennes.....	34
3. Les facteurs abiotiques.....	36
3.1 Effet de la température sur le développement des symptômes de pourriture molle.....	36
3.2 Effet de l'humidité sur le développement des symptômes de pourriture molle.....	41

Chapitre 4 : Discussion.....

• L'expression des symptômes liés à la virulence.....	47
• Effet de la température.....	48
• Influence de l'humidité sur l'expression des symptômes.....	50

Conclusion générale.....51

Références bibliographiques

Annexes

Introduction.

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) joue un rôle clé dans le système alimentaire mondial. C'est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde (Anonyme., 2012). Elle arrive, après le riz, le blé et le maïs, au quatrième rang des cultures vivrières des pays en voie de développement (Horton., 1987). Elle subit des attaques de nombreux bio-agresseurs dont les bactéries. Parmi celles-ci, les bactéries pectinolytiques, anciennement regroupées sous le genre *Erwinia* spp sont responsables de deux maladies de la pomme de terre.

D'une part, la maladie de la «jambe noire» qui se caractérise par la pourriture des tiges de la plante et, d'autre part, la maladie de la «pourriture molle», qui s'attaque aux tubercules. Ces deux maladies sont présentes dans tous les pays où la pomme de terre est cultivée et provoquent d'importantes pertes économiques (Toth *et al.*, 2011; Czajkowski *et al.*, 2011).

La classification de ces bactéries a été modifiée au début des années 2000. Elles appartiennent désormais à deux genres distincts, *Pectobacterium* et *Dickeya*, sont responsables des maladies de qualité (Hélias., 2008).

Le pouvoir pathogène de ces bactéries repose sur la sécrétion des enzymes extracellulaires qui permet aux *Pectobacterium* spp et *Dickeya* spp d'assurer leurs besoins énergétiques (fonction trophique) et leur progression dans les tissus de l'hôte (Boucher *et al.*, 2001). Au niveau du tubercule, la contamination s'effectue le plus souvent par les lenticelles et les blessures occasionnées par les insectes, les nématodes et les matériels agricoles (Pérombelon et Salmond., 1995; Pérombelon., 2000).

L'initiation de la pourriture molle dépendait du niveau de la population des *Pectobacterium* spp et *Dickeya* spp sur tubercule (Bain *et al.*, 1990; Pérombelon, 2002; Toth *et al.*, 2003b). En effet, lorsque les conditions environnementales deviennent favorables, les bactéries (*Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp.) présentes à l'état latent au niveau du site d'infection entrent en multiplication active et atteignent une population seuil de 10^7 - 10^8 cellules/g de tissu nécessaire à la production de large variété d'enzymes lytiques extracellulaires capables de macérer les tissus de l'hôte (Toth *et al.*, 2003).

Il n'existe pas, de méthode de lutte chimique efficace contre ces bactéries. La seule manière de lutter contre ces pathogènes est d'adopter des mesures prophylactiques visant à ralentir le développement de l'inoculum latent au sein des lots.

Outres ces mesures, les conditions d'environnement jouent également un rôle très important dans le développement et la propagation de ces bactéries au sein d'un lot (Dupuis *et al.*, 2005).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence des facteurs biotiques (la virulence de souches) et les facteurs abiotiques (la température et l'humidité relative) d'une collection de souches bactériennes sur le développement des symptômes de pourriture molle des tubercules de pomme de terre cultivées en Algérie. Cette collection de 59 souches ont été isolées des tubercules de pomme de terre de la région d'Ain defla, et identifiées par voies biochimique et biologique.

Le travail consiste à étudier les points suivants :

- Le pouvoir pathogène de la collection des souches bactériennes sur la pomme de terre variété *spunta*, ce dernier est considéré comme un test de présélection permettant de sélectionner les souches ayants développer une réponse positive pour les tests ultérieurs.
- Etude de l'effet de la virulence des souches sélectionnées sur le développement des symptômes de pourriture molle.
- Etude de l'effet de la température et l'humidité relative sur le développement des symptômes sur la pomme de terre.

1. Généralité sur la pomme de terre

Le *Solanum tuberosum* est à l'origine de l'Amérique du Sud et appartient à la famille des *Solanacées*. Le genre *Solanum* est polymorphe et regroupe plus de 1 000 espèces qui sont surtout présentes dans les régions tropicales et subtropicales du globe (Spooner and Knapp., 2013). La partie consommée est le tubercule (figure 1). Ce dernier, présente une haute valeur nutritive en tant que source des glucides complexes, riche en fibres et minéraux. Il également apprécié pour son cycle de production court (6 mois) (Kettani Halabi., 2014).

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

Règne : *Plantae*.

Embranchement : *Phanérogames*.

Division : *Angiospermes*.

Classe : *Dicotylédones*.

Ordre : *Solanales*.

Famille : *Solanaceae*.

Genre : *Solanum*.

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

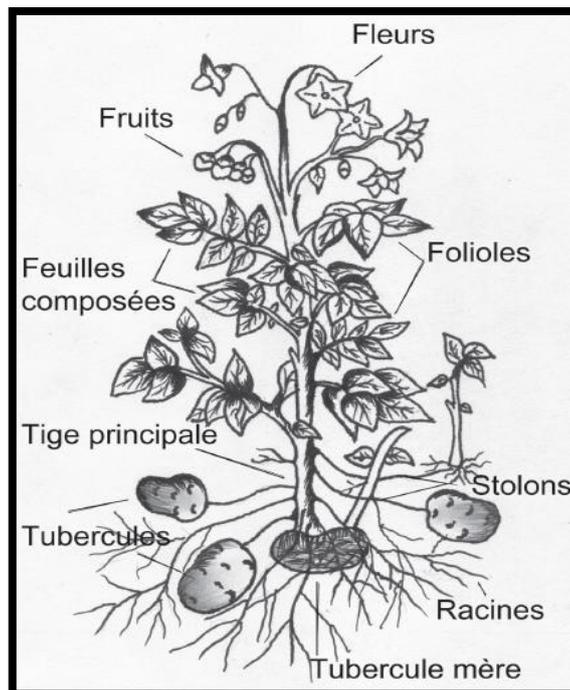


Figure 1 : description général d'une plante de pomme de terre (Bruno et Bernard., 2009).

1.1. L'importance 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). Le tubercule de pomme de terre est un organe vivant contenant un grand pourcentage en eau (80%). L'amidon (féculé) forme les trois quarts de la matière sèche, et les sucres réducteurs formant 0.25 à 3% de cette dernière à la récolte. Les sucres réducteurs sont importants en raison de leur incidence sur la conservation (Van Kempen., 1994).

1.2. Stockage.

Les conditions climatiques idéales pour le stockage des tubercules de pomme de terre sont une température de 4 °C et une humidité relative de 90 % (Onwueme., 1978 ; Horton., 1987). Ces conditions ne peuvent être assurées que par une réfrigération artificielle qui demande des magasins spéciaux. Dans les conditions environnementales, la conservation ne dépasse 4 à 6 semaines, ce qui suffit uniquement à assurer la commercialisation normale (Onwueme., 1978; Horton., 1987).

1.2.1. Conservation des semences.

La pomme de terre est multipliée à partir de semenceaux qui doit être stockés dans des conditions leur permettant de maintenir leur plein pouvoir germinatif. Contrairement aux tubercules de consommation, les semenceaux doivent être stockés en lumière diffuse afin de réduire la croissance des pousses à la fin de la dormance (Horton., 1987). Les tubercules sont placés sur des étagères, avec un maximum de trois couches superposées (Onwueme., 1978 ; Horton., 1987).

1.2.2. Conservation de la pomme de terre de consommation.

Outre une température basse et une bonne aération, l'efficacité du stockage des tubercules est déterminée par l'absence de lumière, laquelle cause le verdissement et rend les tubercules impropres à la consommation (Onwueme., 1978 ; Horton., 1987).

Il est très important de choisir une variété qui a de bonnes aptitudes à la conservation. La maturité est un déterminante qui assure aux tubercules une peau bien formée permettant leur protection. Etant donné qu'un excès de fumure azotée retarde la maturité (Bruno et Bernard., 2009). Seuls les tubercules « parfaits » peuvent être mis en conservation. Le premier tri au champ et un contrôle lors de la mise en caisses doivent permettre d'éliminer toutes les pommes de terre attaquées ou abîmées (Bruno et Bernard.,

2009). Selon les quantités à stocker et la durée, les paysans utilisent des méthodes très faciles (Marty., 1992).

1.2.3. Les différentes méthodes de stockage utilisées.

Tableau 1 : les différentes méthodes de stockage de la pomme de terre utilisées.

<p>➤ Les caisses de conservation.</p>	
<p>Conservation de courte durée de 3 à 5 mois maximum, la durée est limitée par la levée de dormance des tubercules stockés.</p>	<p>Une conservation longue jusqu'à 8 mois utilisant des chambres froides (+/- 10 °C), le froid va allonger la durée naturelle de la dormance des tubercules.</p>
<p>en plein champ.</p> 	
<p>stockage traditionnel en couche sur le sol.</p> 	
<p>Stockage en sacs et caisses.</p> 	<p>Stockage en silos superposés.</p> 

Bruno et Bernard., 2009.

L'utilisation des caisses permet de stocker des quantités de pomme de terre plus importantes par unité de surface (Bruno et Bernard., 2009).

➤ Le bâtiment de conservation.

Conservation de courte durée sans utilisation de froid. Il faut éviter les températures très élevées ($> 40^{\circ}\text{C}$), assurer un degré d'humidité élevé ($> 80\%$) à l'intérieur du bâtiment, stocker les tubercules à l'obscurité.

-Case de conservation construite à l'ombre de grands arbres.



-Case avec toit de paille et ventilation.



Les chambres froides pour une conservation de longue durée.

Une longue conservation des tubercules demande un entreposage entre 8 et 12°C , avec le maintien de l'humidité au-dessus de 95% mais sans jamais atteindre le point de rosée qui pourrait provoquer une condensation et mouiller les tubercules, ce qui favorise le développement d'infections

Bruno et Bernard., 2009.

Il est important d'effectuer un contrôle régulier de l'état du magasin et des tubercules et de prendre les mesures nécessaires en cas d'anomalie (réparer le magasin, éliminer les tubercules pourris, etc.) (Onwueme., 1978 ; Horton., 1987).

1.3. Production de la pomme de terre.

Situation en Algérie :

En Algérie, la filière pomme de terre continue d'enregistrer des performances encourageantes grâce à la mise en synergie des différents acteurs de cette filière, l'introduction des techniques de production et de conservation et beaucoup plus au professionnalisme des agriculteurs. Les statistiques indiquent que la production a atteint 3,2 millions de tonnes en 2010 contre 2,67 millions de tonnes en 2009 et 2,2 millions de tonnes en 2008 (figure 2) (Anonyme., 2012).

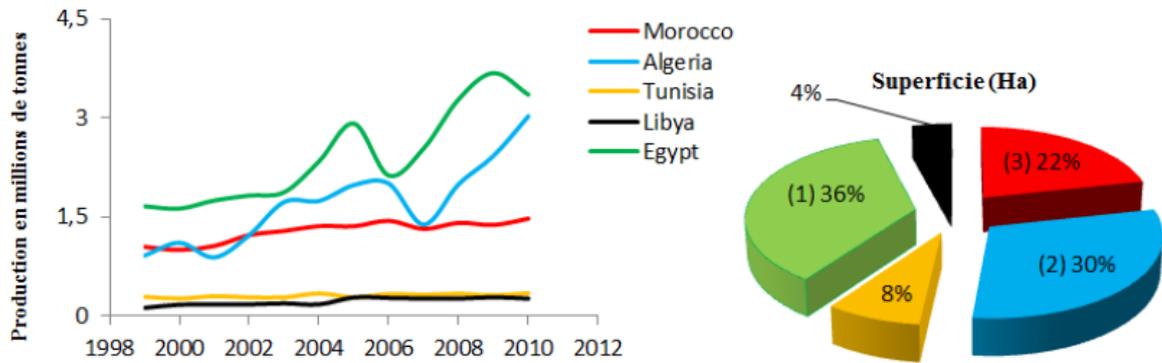


Figure 2 : Production de pomme de terre dans certains pays de l'Afrique du nord (1999 – 2010) Anonyme (2012).

1.4. Les facteurs influençant le rendement de la pomme de terre

A l'instar des autres cultures, la culture de pomme de terre peut subir les effets de nombreux facteurs abiotiques (climatiques, édaphiques...) ou biotiques tel que les ravageurs et les microorganismes (champignons, oomycètes, virus et bactéries) conduisant à des pertes économiques importantes (Rensink *et al.*, 2005).

1.4.1. Les facteurs abiotiques

Les facteurs abiotiques sont les facteurs non infectieux et non transmissibles d'une plante altérée à une plante saine. Les principaux sont les températures extrêmes, les pluies irrégulières réparties inégalement, la lumière diffuse et l'humidité (Bettina Stäubli., 2008). S'ajoutent à ces facteurs climatiques, la structure et la nature du sol, les concentrations en éléments minéraux (calcium, fer ...) et la pollution qui peut affecter l'air, l'eau et le sol (Kettani Halabi., 2014).

1.4.2. Les facteurs biotiques.

Les facteurs biotiques se divisent en deux groupes, les ravageurs et les agents responsables aux maladies parasitaires. **Les ravageurs** regroupent l'ensemble des espèces qui causent des dégâts aux cultures au champ, au cours du transport ou du stockage. Les plus importants sont les insectes phytophages et les nématodes, par exemple *Globodera pallida*, nématode à kyste de la pomme de terre (Blok *et al.*, 2006).

La teigne de la pomme de terre (*Phthorimaea operculella*) infeste la pomme de terre et d'autres solanacées dans les zones tropicales et subtropicales, elle est le plus important ravageur de la pomme de terre stockée (Onwueme., 1978 ; Horton., 1987).

D'autres lépidoptères et coléoptères attaquent parfois les tubercules en magasin, mais ils ne causent généralement pas de problèmes sérieux (Onwueme., 1978 ; Horton., 1987). Certains ravageurs sont des vecteurs d'agents de maladies (virus, mycoplasmes, bactéries et champignons) (Kettani Halabi., 2014).

Les maladies parasitaires sont infectieuses et contagieuses. Les agents pathogènes responsables de ces maladies peuvent être à type d'exemple : des champignons, (*Alternaria solani* : maladie de l'alternariose ; *Fusarium* spp : maladie de Fusariose ...) ; des oomycètes (*Phytophthora infestans* : Mildiou de la pomme de terre) ; des virus (Potato Virus Y « PVY » et Potato Virus X « PVX » : Mosaïque de la pomme de terre ...) et des bactéries (*Clavibacter michiganensis* : Pourriture annulaire, *Ralstonia solanacearum* : Pourriture brune et *Pectobacterium* spp : Pourriture molle de pomme de terre ...) (Kettani Halabi., 2014).

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. Les *Erwinia* et *Streptomyces* qui provoquent respectivement les symptômes de pourritures molles et de gale commune sont des parasites de qualité (Hélias., 2008).

2. La pourriture molle ou la jambe noire de la pomme de terre.

2.1. Description et taxonomie.

Les bactéries pectinolytiques, anciennement regroupées sous le genre *Erwinia* spp appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*, sont responsables de deux maladies de la pomme de terre. D'une part, la maladie de la «jambe noire» qui se caractérise par la pourriture des tiges de la plante et, d'autre part, la maladie de la «pourriture molle», qui s'attaque aux tubercules. Ces deux maladies sont présentes dans tous les pays où la pomme de terre est cultivée et provoquent d'importantes pertes économiques (Toth *et al.*, 2011; Czajkowski *et al.*, 2011). La classification de ces bactéries a été modifiée au début des années 2000. Elles appartiennent désormais à deux genres distincts, *Pectobacterium* et *Dickeya* (De Werra *et al.*, 2015).

Ce sont des bactéries phytopathogènes Gram (-), anaérobiques facultatives, ayant une forme de bâtonnet (0,5-1 µm de diamètre sur 1-3 µm de longueur) (Hauben et Swings., 2005; Charkowski., 2006), mobiles grâce à des flagelles péritriches, oxydase négative et catalase positive (Dickey *et al.*, 1984). Elles sont capable de réduire les nitrates, fermenter le glucose et de produire de l'acide à partir de certains hydrates de carbone. Leur température optimale de croissance se situe entre 27°C et 35°C selon les espèces (Perombelon and Kelman., 1980).

Les *Pectobacteria* et *Dickeya spp* engendrent sur les cultures de pomme de terre un refus ou un déclassement des lots de semences, ainsi qu'un refus à l'exportation (Pérombelon., 2000; Toth *et al.*, 2011). Elphinstone et Pérombelon (1986) ont montré qu'un tubercule de pomme de terre infecté pouvait engendrer la contamination de 100 kg de tubercules de pomme de terre sains en conservation.

2.2. Les agents responsables de la pourriture molle de pomme de terre.

2.2.1. *Pectobacterium carotovorum* subsp *carotovorum*.

Pcc (anciennement *Erwinia carotovora carotovora*) affecte une gamme d'hôtes très large (légumes, tournesols, tabac, etc.) dans des aires géographiques étendues (régions tropicales et tempérées), elle est associée aux pourritures sur tubercules (Hélias., 2008) et capable de se développer à des températures allant de 20°C à 30°C (Pérombelon., 2002). Le symptôme de la jambe noire, 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) (Hélias., 2008).

2.2.2. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Brasiliense*.

Cette souche a été isolée et décrite pour la première fois au Brésil en 2004 (Duarte *et al.*, 2004). Depuis lors, sa présence a été établie en Afrique du Sud (van der Merwe *et al.*, 2010) et au Canada (De Boer *et al.*, 2012). En Europe, elle a été récemment signalée aux Pays-Bas (Nunes Leite *et al.*, 2014). Génétiquement très proche de *P. c. subsp carotovorum*, elle semble toutefois beaucoup plus agressive que celle-ci et peut provoquer des dégâts importants aux cultures de pomme de terre, y compris sur des tiges (Duarte *et al.*, 2004).

2.2.3. *Pectobacterium wasabiae*.

Pectobacterium wasabiae a été isolée pour la première fois au Japon sur du raifort dans les années 1980 (Goto et Matsumoto., 1987) et a été identifiée pour la première fois sur pomme de terre aux USA en 2001 (Ma *et al.*, 2007), puis en Nouvelle Zélande en 2008 (Pitman *et al.*, 2008). On la trouve désormais dans presque toutes les régions où la pomme de terre est cultivée, y compris en Europe. La communauté scientifique qui étudie ces bactéries pense que cette souche ne s'est pas propagée à partir du lieu où elle a été découverte, mais a probablement été confondue durant de nombreuses années avec *P. c. subsp. carotovorum* (avec les amorces oligo-nucléotidiques utilisées alors, la PCR ne permettait pas de les différencier) (De Werra *et al.*, 2015).

Une étude en Pologne, menée avec des techniques de séquençage et PCR-RFLP, et sur des collections bactériennes, a démontré que des bactéries identifiées en 1997 comme *P. c. subsp. carotovorum*, étaient en réalité du *P. wasabiae* (Waleron *et al.* 2013). *P. c. subsp. carotovorum* ne provoquant pas de symptômes aériens sur pomme de terre (Bartz et Kelman 1985).

2.2.4. *Pectobacterium atrosepticum*.

Pba (anciennement *Erwinia carotovora atroseptica*) est une bactérie limitée essentiellement aux pommes de terre (figure 3). Généralement associée aux symptômes de la jambe noire dans les zones tempérées à climat frais et humide. (Helias *et al.*, 1998; Toth *et al.*, 2003b). Elle se développe préférentiellement entre 15 et 25 °C, entraînant la pourriture des tubercules et des tiges (Pérombelon et Kelman., 1987).

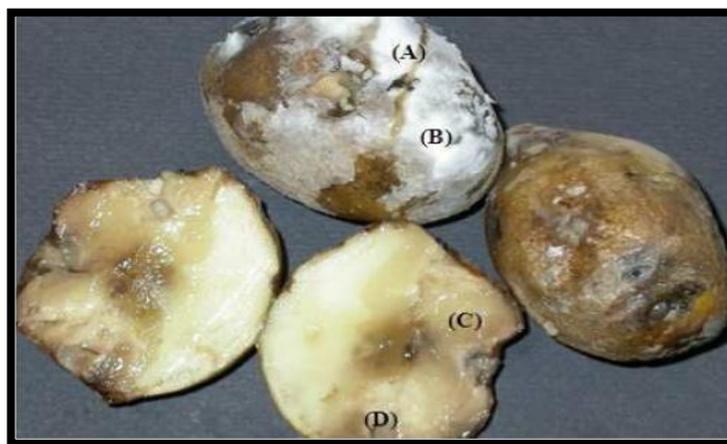


Figure 3 : Tubercules de pommes de terre infectées par *Pba* 709 après trois jours d'incubation à 24 °C et à 100% d'humidité relative. (A): Suintement du tubercule qui

favorise la dissémination de la maladie en entrepôt; (B): Développement secondaire de moisissure; (C): Chair du tubercule pourri; (D): Sites d'infection (Yaganza., 2005).

2.2.5. *Dickeya dadantii*.

Dickeya dadantii (anciennement *Erwinia chrysanthemi*) est un organisme de quarantaine (OEPP/EPPO., 1982), elle est l'une des entérobactéries phytopathogènes qui peut causer la pourriture molle dans un large éventail de cultures économiquement importantes (Grenier *et al.*, 2006) (figure 4). Elle s'exprime préférentiellement dans les régions tropicales et subtropicales à des températures optimales assez élevées (35-37°C) (Kettani Halabi., 2014).

La dissémination et la pénétration de la bactérie sont favorisées par un taux d'humidité élevés et la présence d'eau (Dickey et Victoria., 1980). Elle provoque une pourriture molle qui dégrade les organes charnus des plantes tels que tubercules, racines, boutures en vert ou feuilles charnues. C'est aussi un pathogène de flétrissement, qui colonise le xylème et devient systémique dans la plante, aspect le plus alarmant dans le cas de multiplication végétative (Dickey et Victoria., 1980).

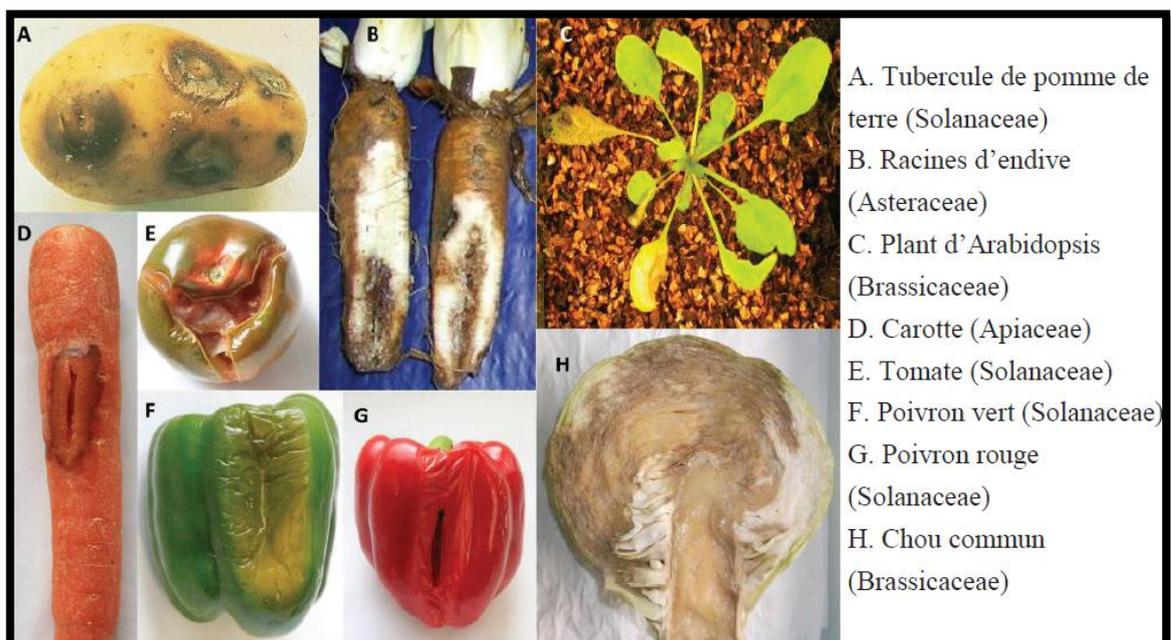


Figure 4: Symptômes caractéristiques de la maladie de la pourriture molle sur différents végétaux infectés par les *Dickeya* spp (Reverchon and Nasser., 2013).

2.3. Symptomatologie.

2.3.1. En végétation :

Les symptômes causés par les *Pectobacterium* spp et *Dickeya* spp pectinolytiques s'expriment en végétation et/ou en conservation. L'apparition et la nature des symptômes dépendent essentiellement des conditions environnementales (température, humidité) Le symptôme le plus typique est celui de la jambe noire, variant d'une pourriture humide brun foncé à noire de la base des tiges (figure 5A) à des nécroses plus ou moins sèches (figure 5C) (Pérombelon et Kelman, 1987).

Dans certains cas, seules des nécroses internes éventuellement doublées d'un phénomène de « tige creuse » se développent (figure 5C). L'extériorisation des symptômes peut débuter au niveau du point d'attache des feuilles sur la tige (figure 5B). Des jaunissements et/ou flétrissements du feuillage peuvent être associés à la jambe noire. (Pérombelon et Kelman., 1987).

La jambe noire est très répandue surtout en conditions climatiques humides. Des conditions sèches et froides favorisent le développement de nécroses sur les tiges et de flétrissements des feuilles, l'attaque est moins violente et le noircissement peut se limiter à la moelle. Cette maladie est principalement due à *Pectobacterium atrosepticum* (Toth *et al.*, 2003b; Czajkowski *et al.*, 2011).



Figure 5. Symptôme de la jambe noire, (A) : variant de pourritures humides brun foncé à noire de la base des tiges, (B) : pourriture des points d'attache des feuilles sur la tige, (C) : des nécroses plus ou moins sèches et/ou tiges creuses (Hélias., 2008).

2.3.2. Sur tubercules.

Les tubercules peuvent également être atteints de symptômes qui se développent en cours de culture ou de conservation sous la forme de pourritures molles et humides souvent nauséabondes (figure 6). En conservation, les pourritures molles peuvent entraîner la contamination rapide des tubercules avoisinants. Des bactéries pectinolytiques variées (*Clostridium* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp.) peuvent être impliquées dans la pourriture des tubercules en conservation, particulièrement lorsque les températures sont élevées (Campos *et al.*, 1982 ; Pérombelon et Kelman, 1987), mais les *Pectobacterium* spp restent les agents les plus fréquents et les plus dommageables.

Dans le cas d'attaques localisées aux lenticelles, les pourritures sont qualifiées de lenticellaires (figure 7). Un séchage adéquat des tubercules peut toutefois bloquer leur développement. Les symptômes sont alors qualifiés de pourritures lenticellaires (De Boer., 1994).



Figure 6. Pourriture molle et humide causée par *Pectobacterium* sp ou *Dickeya* sp (Hélias., 2008).



Figure 7. Pourritures dures lenticellaires (Hélias., 2008).

2.4. Cycle de développement de la pourriture molle des tubercules.

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 le suintement de tubercules pourris et par les insectes (Yaganza., 2005). La figure 8, résume les principales étapes du cycle de développement de la maladie.

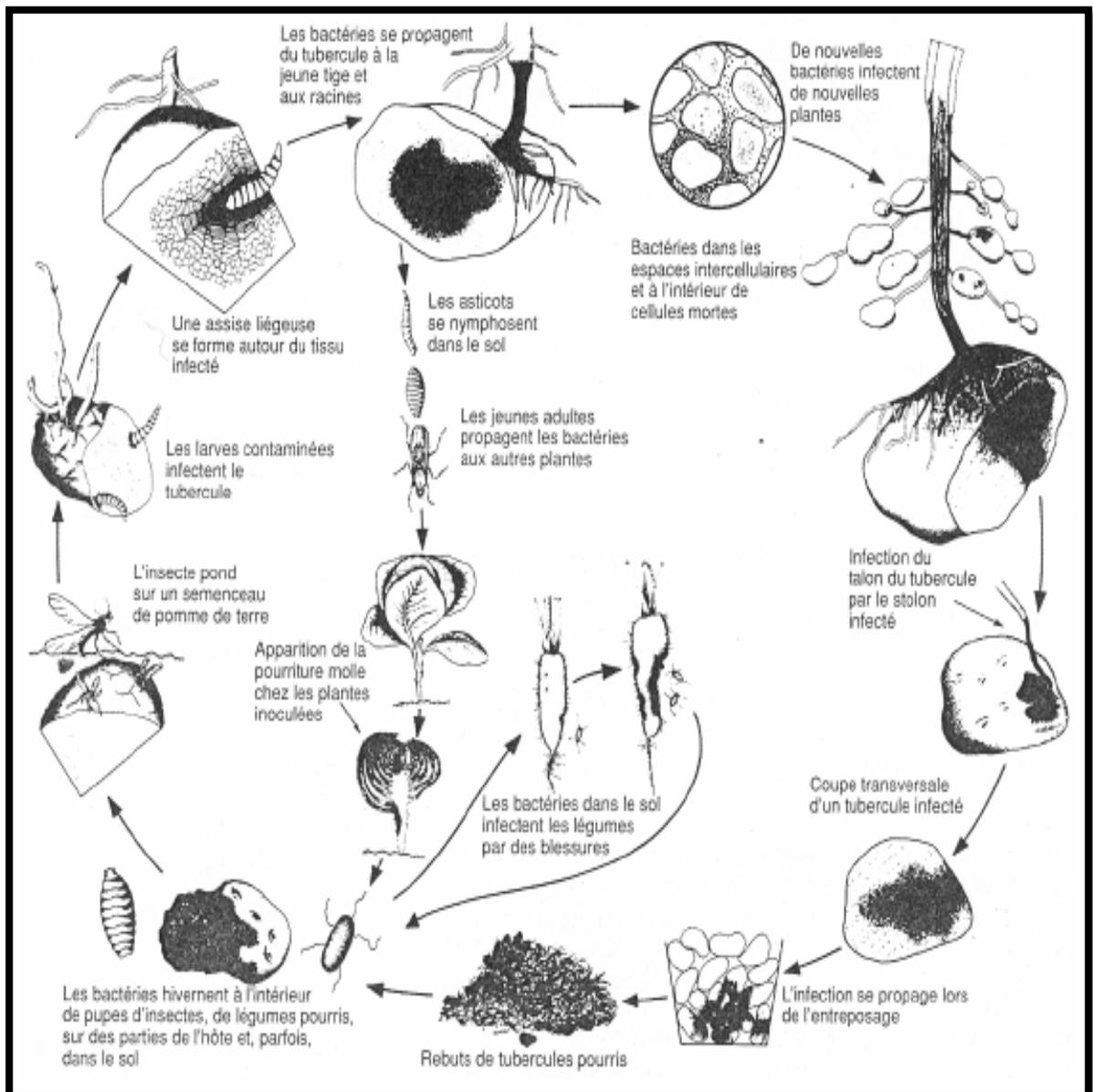


Figure 8: Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne (Howard *et al*, 1994).

3. Conditions favorables au développement de *Pectobacterium spp* et *Dickeya spp*.

3.1. Au champ

L'initiation de l'infection et le développement des symptômes au champ sont en fonction de la température, de l'humidité, du niveau de contamination, des pratiques culturales et de l'état de fertilité du sol (Elphinstone., 1987). La jambe noire est favorisée par des sols humides et des températures relativement fraîches (<19°C). Contrairement à la pourriture molle des tubercules de pomme de terre, la jambe noire se développe généralement en condition d'aérobic et seul *Pba* et *Dickeya spp* étaient connues comme étant liées à la maladie pendant plusieurs années (Pérombelon., 2002).

Récemment, De Haan *et al* (2008) ont montré dans leurs travaux que *Pcc* était capable de provoquer la maladie de jambe noire en régions tempérées. Un niveau minimal de 10³ bactéries par tubercule est nécessaire à l'infection (Stead., 1999).

L'interaction entre le niveau de contamination, l'humidité du sol et la température détermine l'incidence de la maladie (Smadja *et al.*, 2004) et le type de symptômes (Elphinstone., 1987). Un temps humide à la plantation et des conditions fraîches au moment de la levée favoriseront la jambe noire, avec parfois des dessèchements si par après les conditions sont plus sèches. Un niveau de mécanisation élevé est responsable d'une incidence plus grande de la maladie, due aux coups, aux blessures et à la transmission de l'inoculum par le matériel (Elphinstone et Pérombelon., 1986). Le manque de maturité, les radiations solaires, les gelées, la salinité excessive, les dégâts causés par d'autres pathogènes sont des facteurs favorables au développement des symptômes de pourriture molle (Tweddell *et al.*, 2003).

3.1.1. Rôle du tubercule mère.

Le tubercule mère joue un rôle important dans la conservation, la transmission et la dissémination de *Pectobacterium spp* et *Dickeya spp* (Toth *et al.*, 2011). Les bactéries peuvent être localisées à l'état latent dans le système vasculaire, les lenticelles ou à la surface des tubercules (Pérombelon., 2000). Si elles tendent à disparaître rapidement de la surface des tubercules en conditions sèches, les populations bactériennes sont capables de se maintenir pendant les six à sept mois de stockage à un niveau de contamination sensiblement constant au sein des lenticelles (Pérombelon., 1973). Par ailleurs, les blessures occasionnées lors de la manipulation des tubercules constituent également une

porte d'entrée de *Pectobacterium spp* et *Dickeya spp* (Pérombelon et Kelman., 1980). Ce type de contamination se produit principalement lors du contact de tubercules sains avec des tubercules malades (Elphinstone et Pérombelon., 1986).

3.1.2. Rôle du sol et de la rhizosphère.

Les bactéries responsables de la pourriture molle et de la jambe noire auraient une très faible capacité à survivre seules dans le sol. La population de *Pectobacterium spp* augmente fortement en présence d'exsudats racinaires de plantes (adventices ou cultures) selon McCarter-Zorner *et al* (1985) en cas d'absence ou de quantités moindres de nutriments liées à la récolte ou la maturité des plantes, la population bactérienne diminue jusqu'à un niveau non détectable. Les études menées par Van der Wolf *et al* (2007) montrent, quant à elles, que les *Dickeya spp* ne survivent pas plus de trois semaines dans un sol nu. Contrairement à l'humidité, la température du sol semble avoir un effet plus marqué sur la survie des bactéries. Ainsi, Pérombelon et Hyman (1989) ont montré que *Pba* et *Pcc* meurent rapidement dans un sol dépassant les 25°C, alors qu'elles peuvent survivre plusieurs semaines, voire plusieurs mois, à des températures avoisinant 10 à 20°C. *Pcc* décrite comme ayant une plus grande capacité de survie que *Pba*, est également plus fréquemment mise en évidence dans la rhizosphère (Pérombelon et Hyman., 1989).

3.1.3. Rôle de l'eau et des aérosols.

Dans la plupart des pays du monde, *Pectobacterium spp* et *Dickeya spp* ont été mis en évidence dans les eaux de rivières, la nappe phréatique, les pluies, les aérosols et mêmes les océans. Les homologues observées entre des souches isolées de pomme de terre et d'eau de rivières confortent l'hypothèse selon laquelle ces dernières constituent des sources potentielles de contamination via l'irrigation (Kapsa., 2008). La survie de ces bactéries dans les aérosols semble être de courte durée puisque seulement 50% des bactéries survivent après 5 à 10 minutes (Pérombelon., 1992).

3.1.4. Transmission par le matériel et les pratiques agricoles.

Le passage de machines agricoles contaminées lors de la culture constitue un autre mode de dissémination des bactéries. La plantation, la récolte et le tri mécanique des tubercules peuvent également être la cause de la propagation des pathogènes entre les lots de pomme de terre et au sein des stocks. Cette contamination a principalement lieu lors du

contact de tubercules sains avec des tubercules ou du matériel infectés (Van Vuurde *et al.*, 1994).

3.2. Au stockage

La pourriture molle débute généralement sur des tubercules situés au fond du tas de pomme de terre, où la ventilation est déficiente et la condensation fréquente, à tel point qu'au moment de s'en rendre compte, une bonne partie de la récolte est déjà irrécupérable. Les conditions nécessaires à l'initiation des pourritures molles des tubercules de pomme de terre en conservation sont: l'anaérobiose, l'eau libre, la température supérieure au minimum requis pour la croissance bactérienne, le potentiel hydrique des cellules du tubercule élevé (Pérombelon et Kelman, 1980) et un seuil minimum de bactéries (10^3 bactéries par tubercule) (Bain et al, 1990).

L'anaérobiose affaiblit la résistance de l'hôte (par son effet défavorable sur la synthèse des phytoalexines, composés phénoliques, radicaux libres, etc.) (Pérombelon, 2002), inhibe la lignification et la subérification des cellules (protègent contre les enzymes pectiques) et augmente la perméabilité membranaire (Pérombelon, 2002).

La température influence le développement de l'une ou l'autre des *Pectobacterium* spp et *Dickeya* spp selon le minimum requis pour la croissance (Pérombelon, 2002).

4. Pouvoir pathogène des bactéries pectinolytiques.

Le genre *Pectobacterium* pouvant infecter un large spectre d'hôtes comme la pomme de terre, les carottes, et le melon. Les agents pathogènes qui vivent dans la rhizosphère, rentrent dans la plante par les ouvertures naturelles telles que les lenticelles ou par les blessures. Dans un premier temps, les bactéries s'engagent dans une phase de multiplication intense. Dans un second temps, quand la densité cellulaire atteint un certain seuil, débute la sécrétion d'enzymes de macération telles que des cellulases, des protéases et des pectinases permettant la dégradation des parois végétales (Smadja *et al.*, 2004).

Certaines souches produisent également du carbapénème, un antibiotique qui permettrait de favoriser la colonisation du milieu par les *Pectobacterium* en contrôlant la croissance des autres espèces bactériennes présentes (Bainton *et al.*, 1992). Chez

Pectobacterium, la production d'enzymes de macération, d'antibiotiques mais aussi de sidérophores est régulée par *quorum-sensing* (QS) (Barnard et Salmond., 2007).

4.1.Principaux facteurs de virulence.

Six systèmes de sécrétion permettant de sécréter les enzymes lytiques ou les facteurs de virulences sont développées par les bactéries Gram négatif et en particulier les *Pectobacterium* sp. Ils sont différenciés selon leur fonctionnement, l'assemblage de la machinerie et le type de substrats (Sandkvist., 2001).

4.1.1. Système de sécrétion type II et dégradation de la paroi végétale.

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 (PCWDE, Plant Cell Wall Degrading Enzymes). Ces facteurs de virulence sécrétés sont les déterminants clés du pouvoir pathogène des *Pectobacterium* (Charkowski., 2006; Koiv *et al.*, 2010).

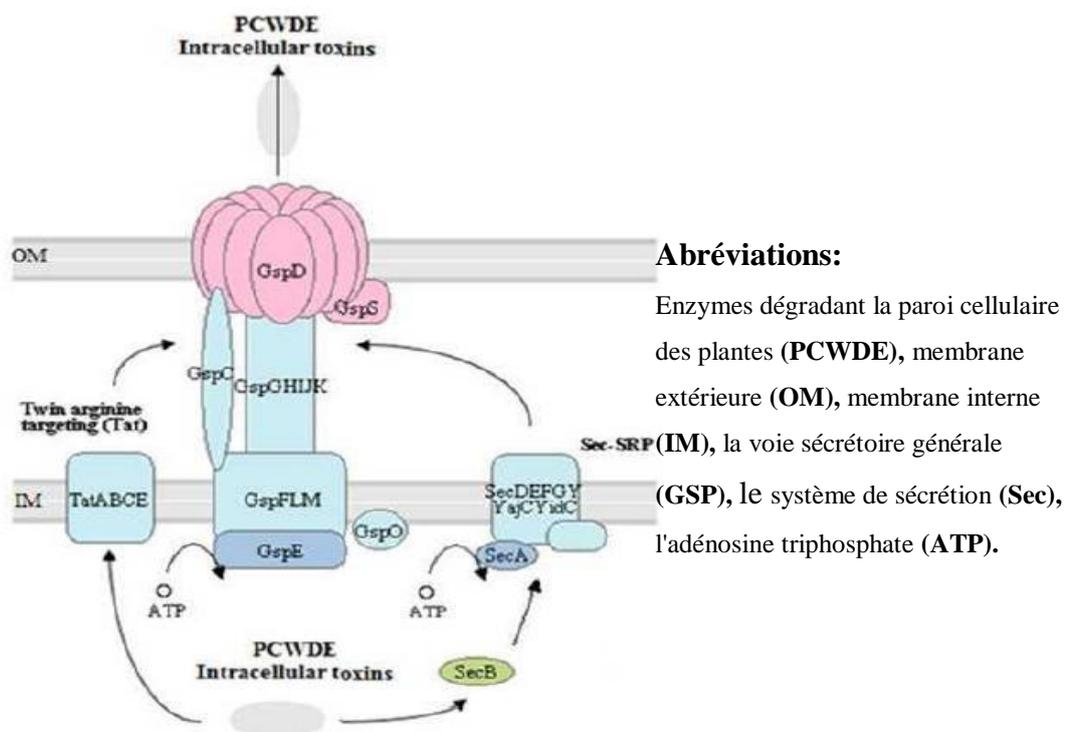


Figure 9. Système de sécrétion type II de *Pectobacterium carotovorum*, modifié d'après KEGG: Encyclopédie de Kyoto des gènes et génomes (2010).

- **Protéines de virulence sécrétées par le T2SS :**

Pectobacterium spp et *Dickeya spp* produisent plusieurs variétés d'enzymes pectiques extracellulaires capables de dégrader les parois cellulaires de l'hôte (Terta et al., 2010) qui sont sécrétées dans le milieu externe par le T2SS codé par l'opéron *out* (Sandkvist., 2001). Parmi ces enzymes les pectinases jouent un rôle prépondérant dans le développement de la maladie. Quatre types de pectinases sont connus, les pectates lyases (PEL), pectines lyases (PNL) et les pectines méthyles estérases (PME); et les polygalacturonases (PEH) (Toth *et al.*, 2003).

Les PEL sont les plus importantes dans le développement de la maladie (Smadja *et al.*, 2004). Des extraits purifiés de PEL provoquent la macération et la mort cellulaire (Liao., 1989). En outre, des souches de *Dickeya spp* dont le gène codant pour les PEL a été inactivé par délétion sont devenues moins virulentes (Jafra *et al.*, 1999). Smadja et al. (2004) ont montré au cours de leurs travaux que la température optimale de pathogénicité de *Pba* et *Pcc* est liée à la température optimum de l'activité des PEL et non à leur température optimum de croissance.

Les Cellulases (Cel) sont censés agir en synergie avec les autres enzymes extracellulaires précitées pour attaquer les parois des cellules primaires et secondaires des plantes (Toth *et al.*, 2003b). L'activité enzymatique est dépendante du pH du site d'infection (Nachin et Barras., 2000) et de la température (Smadja *et al.*, 2004).

La production des enzymes est dépendante de la densité bactérienne de *Pectobacterium spp* qui est régulée par un système de *quorum-sensing* (Ferluga *et al.*, 2008). 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 Nacylhomoserine 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 (Charkowski., 2009). Cette molécule et ses analogues fonctionneraient comme un signal régulateur

universel, également présents chez d'autres microorganismes (Toth *et al.*, 2003; Barnard *et al.*, 2007).

4.1.2. Système de sécrétion type I et sécrétion des protéases.

Le système de sécrétion de type 1 (T1SS, Type I Secretion System) est le plus simple des systèmes de sécrétion. Il est constitué de trois protéines assurant la sécrétion (Holland *et al.*, 2005). Les protéases (Prt) des *Pectobacterium* sont les principales exoprotéines secrétées par ce système. *Dickeya dadantii* E16 par exemple, produit au moins quatre métalloprotéases PrtA, B, C, et G via le T1SS codées par les gènes PrtD, E et F nécessaire au pouvoir pathogène de la bactérie (Boyd and Keen., 1993).

4.2. Autres facteurs affectant la pathogénie.

Les PCWDE et les protéases sont les principaux facteurs responsables du développement des symptômes de la pourriture molle. Toutefois, d'autres facteurs affectent également l'installation et la progression de l'infection, ainsi que l'induction des mécanismes de défenses chez l'hôte. Ces facteurs comprennent la mobilité, les lipopolysaccharides et les sidérophores (Kettani Halabi., 2014).

4.2.1. Mobilité

La mobilité a été décrite comme un facteur de pathogénie chez *Pectobacterium* sp afin de réussir 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 de rejoindre leurs niches écologiques préférées. Des mutants non mobiles des souches *Pcc* révèlent une virulence atténuée malgré la présence des PCWDE. Les flagelles auraient un rôle non négligeable dans le pouvoir pathogène des *Pectobacterium* (Lautier., 2007).

4.2.2. Sidérophores

Les sidérophores ont été décrite comme un cofacteur de nombreux processus cellulaires, le fer contribue à l'adaptation de la bactérie au cours de son cycle de vie ce qui lui confère un rôle dans le pouvoir pathogène, malgré sa faibles concentrations (Ferguson and Deisenhofer., 2002). Les bactéries produisent les sidérophores qui sont des composés chimiques à faible poids moléculaire produits par les bactéries et les champignons, capables de fixer le fer et de l'importés dans les cellules sous la forme de complexes fer-

sidérophores (Franza *et al.*, 2005). L'expression de gènes codant pour certaines pectate lyases (pelB, C, D et E) de *Dickeya dadantii* est induite lors d'une carence en fer, et réprimée par la protéine Fur en présence de fer dans le milieu (Franza *et al.*, 2002; Franza *et al.*, 2005).

4.2.3. Lipopolysaccharides

Les lipopolysaccharides (LPS) sont des complexes macromoléculaires présents de manière constitutive dans la membrane externe de toutes les bactéries à Gram négatif. Sur le plan structural, les LPS sont constitués d'un lipide A et d'une partie polysaccharidique débordant de la membrane externe (Lautier *et al.*, 2007). Les bactéries à Gram négatif élaborent des mécanismes qui modifient la structure des lipides A à différents environnements, ces modifications peuvent promouvoir la résistance contre les peptides antimicrobiens (Miller *et al.*, 2005).

Le LPS participe la protection physique des cellules bactériennes en contribuant à réduire la perméabilité membranaire, permettant ainsi la croissance bactérienne dans un environnement défavorable (Lautier *et al.*, 2007) (Figure 10).

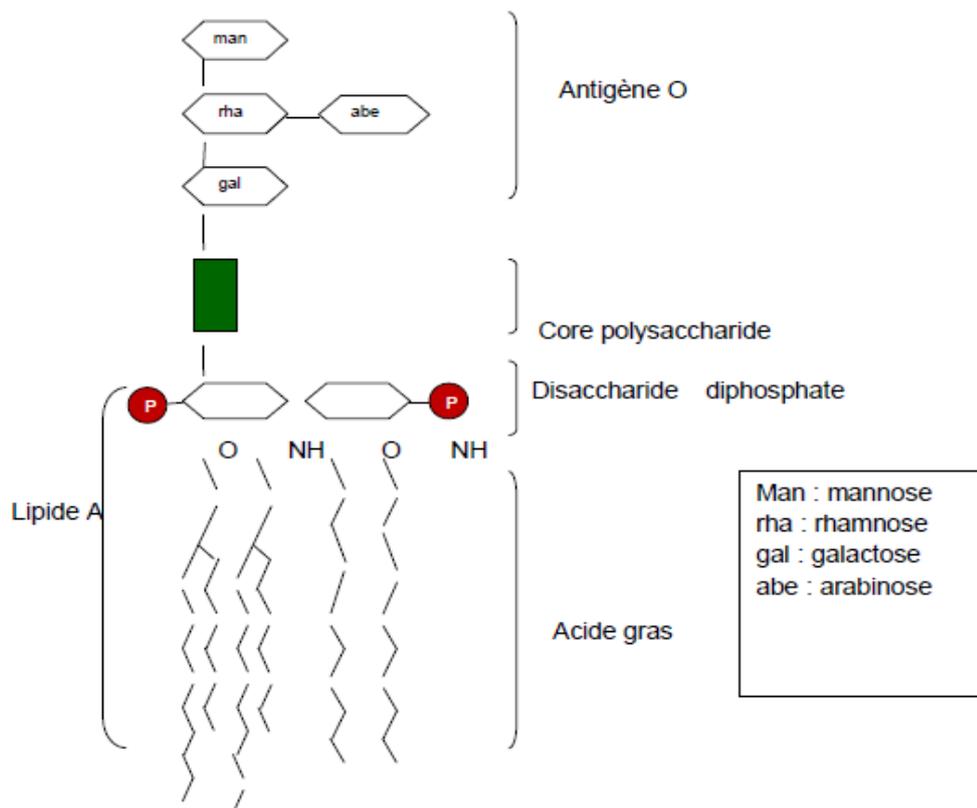


Figure 10: Structure du Lipopolysaccharide (Lautier *et al.*, 2007).

5. Stratégies de lutte contre les *Pectobacterium spp.*

Les différentes stratégies de lutte qui existent à l'heure actuelle, contre les maladies bactériennes des plantes et en particulier contre les *Pectobacterium spp* sont des moyens de lutte physique et biologique (Kettani Halabi., 2014).

5.1. La lutte physique.

Différents moyens peuvent être mis en oeuvre 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. De plus, des mesures sont à l'étude, visant à limiter la présence des pathogènes sur le tubercule après récolte et leur dissémination dans l'environnement (Hélias., 2008).

Moreau *et al.*, (2005) envisagent l'utilisation de réacteurs de décontamination dont la technologie est basée sur l'émission de plasmas froids pour traiter les eaux de lavage des tubercules après récolte.

5.2. La lutte biologique.

La lutte biologique fait partie des méthodes de plus en plus favorisées en phytopathologie pour contrôler les maladies végétales d'importance, avec un impact plus réduit sur l'environnement et la santé humaine, par rapport aux pesticides chimiques. Elle repose essentiellement sur l'exploitation des relations dynamiques entre la plante et son environnement. Différentes approches de base de la lutte biologique ont été définies : la compétition, le parasitisme, l'antibiose et l'induction des systèmes de défense chez la plante (Kettani Halabi., 2014).

Toutefois, son application aux maladies de la pomme de terre habitation expérimentale. Par exemple, *Bacillus subtilis* BS 107 serait actif *in vitro* et *in vivo*, contre *Ecc* et *Eca* (Sharga et Lyon., 1998). Un antibiotique produit par *Erwinia carotovora* subsp. *betavasculorum* serait aussi efficace contre le développement de *Ecc* sur la pomme de terre (Axelrood *et al.*, 1988). Des souches de *Pseudomonas spp* ont permis de contrôler

expérimentalement le développement des bactéries responsables de la pourriture molle, bien que dans certains cas, des résistances à l'agent de lutte biologique aient été rapportées (Colyer et Mount., 1984).

L'existence du signal de quorum-sensing chez toutes les espèces de *Pectobacterium* et *Dickeya* macergènes et son importance stratégique dans la maladie de pourriture molle désignent ce signal bactérien comme une cible privilégiée pour développer des outils de lutte contre la virulence des *Pectobacteria*. Ces stratégies d'anti-virulence ont toutes pour vocation l'interruption de la signalisation quorum-sensing de *Pectobacterium* (Amy O., 2009; Fan *et al.*, 2011; Mahmoudi *et al.*, 2011a; Palmer *et al.*, 2011).

L'inhibition du quorum sensing : Ces nouvelles méthodes de lutte n'ont pas vocation à éliminer le pathogène, mais à en atténuer la virulence par interruption de la signalisation quorum-sensing. Ces stratégies d'anti-virulence ciblent la perturbation de la perception par les pathogènes des signaux QS et/ou la dégradation de ces derniers (Cirou *et al.*, 2009). En effet, une large gamme de molécules est actuellement décrite comme susceptible d'affecter directement la signalisation QS. De nombreuses bactéries de la rhizosphère et du sol sont capables de dégrader les molécules signales du QS (Mahmoudi *et al.*, 2011b).

5.3. La lutte chimique.

Pour des raisons de protection de l'environnement, les doses faibles des traitements chimiques des cultures à base de cuivre ou d'organomercure demeurent peu efficaces (Priou and Jouan., 1996). De nouveaux composés capables d'altérer l'intégrité cellulaire bactérienne ou d'inhiber la croissance des *Pectobacterium*, des solutions salées de chlorure d'aluminium et de métabisulfite de sodium (Yaganza *et al.*, 2004) ou encore de peptides de synthèses (Kamysz *et al.*, 2005), se sont avérés très efficaces lors d'essais au laboratoire. Si ces composés peuvent sembler très intéressants grâce à leur large spectre d'hôte (fongique et bactérien), le risque écologique d'altération des équilibres microbiens apparaît très important (Latour *et al.*, 2008).

5.4. Les mesures prophylactiques.

Les principaux facteurs de développement de *Pectobacterium* spp et *Dickeya* spp sont l'humidité et les conditions asphyxiantes qui favorisent leur multiplication et leur

dissémination. La lutte prophylactique contre ces pathogènes concerne toutes les étapes de la culture de pomme de terre (Hélias., 2008).

5.4.1. Préparation et choix de la parcelle.

Le choix et la préparation des parcelles destinées à la production des pommes de terre sont importants. Il est ainsi souhaitable de privilégier les rotations longues, de supprimer les réservoirs potentiels de bactéries dans la parcelle en détruisant les repousses et en éliminant les adventices (Hélias., 2008).

Ne pas planter dans des zones humides ou tassées et favoriser un travail du sol qui permet son assèchement permet en outre d'éviter les conditions humides et asphyxiantes favorables à la multiplication bactérienne (Hélias., 2008).

5.4.2. Précautions relatives à la culture.

L'utilisation de plants certifiés selon des normes strictes de qualité sanitaire est indispensable. Il faut également prendre garde à limiter les blessures et éliminer les tubercules pourris lors de la plantation. Les techniques culturales doivent être adaptées à la variété utilisée. L'épuration des plantes malades en cours de végétation (production de plants) limite la propagation des bactéries aux plantes saines adjacentes (Hélias., 2008).

Éviter l'irrigation excessive de la culture prévient le développement de conditions anaérobiques dans le sol. Une fertilisation raisonnée sans excès d'azote est par ailleurs recommandée (Hélias., 2008).

5.5. L'utilisation des sels.

Les résultats de nombreux travaux utilisant divers composés antimicrobiens pour lutter contre les agents pathogènes des plantes (Mecteau *et al.*, 2002). Ces travaux suggèrent que les sels organiques et inorganiques peuvent constituer une alternative intéressante pour contrôler les maladies des tubercules entreposés. De plus, la biocompatibilité 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). Ils sont en outre simples d'utilisation et requièrent relativement peu d'exigences de la part des instances de réglementation en vue de leur acceptation comme agents antimicrobiens (Aharoni *et al.*, 1997).

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence des facteurs biotiques et abiotiques d'une collection de souches bactériennes sur le développement des symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre.

Notre travail est constitué de trois parties principales : la première consiste à réaliser un test de présélection, une seconde partie est l'étude de l'effet de la virulence des souches sur la pomme de terre, et la dernière partie concerne l'étude de l'effet de la température et l'humidité relative sur le développement des symptômes de pourriture molle

1. Matériels

1.1 Matériels biologiques

Les essais ont été réalisés sur la base d'une collection de 59 isolats bactériens qui ont été isolés et identifiés par voies biochimique et biologique au niveau du laboratoire de phytobactériologie (2015), ces souches ont été isolées à partir des tubercules de pomme de terre var *spunta* et *désirée* présentant les symptômes de pourriture molle provenant des chambres froide et de champ de la région Ain defla. Les 59 souches ont été conservées en tube à 4°C et cultivées sur le milieu LPGA (Levure Peptone Glucose Agar) en boîte de pétri.

1.2 Matériel végétal.

Dans ce travail, nous avons utilisé des tubercules de pomme de terre de la variété Spunta (*Solanum tuberosum* L. var *Spunta*) pour les différents tests réalisés.

2. Méthodes

2.1 Désinfection de Matériel végétal.

Le matériel végétal utilisé est rincé abondamment sous l'eau du robinet, puis subi une première désinfection sous la hotte et dans des conditions aseptique avec une solution constituée d'eau distillée stérile et d'hypochlorite de sodium à 12% pendant 10 minutes, suivi d'un premier rinçage. Ce dernier est par la suite désinfecté une deuxième fois dans la solution d'hypochlorite de sodium à 12% pendant 10 minutes, à la fin un dernier rinçage a été réalisé (figure 11).



Figure 11: les étapes de désinfection de la pomme de terre réalisées sous hotte à flux laminaire.

2.2 Test du pouvoir pathogène des souches bactériennes.

Le test du pouvoir pathogène est considéré comme un test de présélection permettant de sélectionner les souches ayant développé une réponse positive pour les tests ultérieurs. Ce test est réalisé sur les cubes de pomme de terre inoculé par les 59 isolats et incubé à température 28°C.

Le matériel végétal est découpé en rondelles d'une hauteur de 1 cm, Ces rondelles sont découpées en carré de 4 cm à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Les cubes sont déposés dans des boîtes de pétri en verre stérile, par la suite à l'aide d'un bistouri stérile, nous avons réalisé un petit creux au centre à fin de déposer la suspension bactérienne (figure 12). Nous avons réalisé trois répétitions pour chaque isolat de la collection.

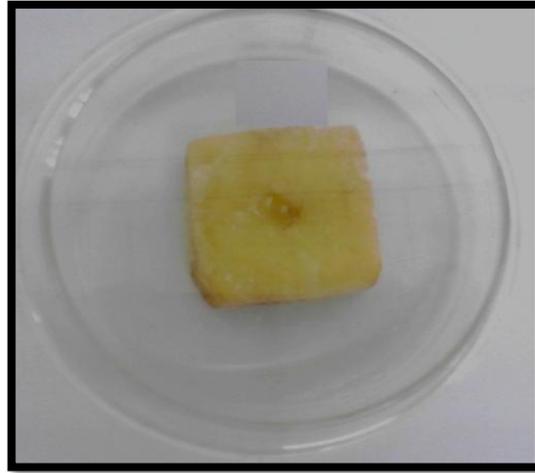


Figure 12 : Les cubes de pomme de terre inoculés dans des boites de pétri en verre stérile.

2.3 Préparation des suspensions bactériennes à inoculer

Les suspensions des souches ont été préparées à partir de cultures préalablement purifiées. La purification est une étape nécessaire afin de s'assurer de la pureté des souches bactériennes à inoculer. 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. La boîte est ensuite entourée avec du Parafilm pour limiter toute contamination et incuber dans une étuve à 28°C pendant 24h à 48h.

2.4 Méthode d'inoculation.

Pour l'étape d'inoculation, nous avons préparé des suspensions bactériennes à une densité cellulaire de 10^7 - 10^8 $\mu\text{fc/ml}$. A l'aide d'une micropipette, un volume de 50 μl de suspension bactérien est déposé directement sur le cube de pomme de terre suivie d'une étape d'incubation à 28°C pendant 72h, pour étudier le développement des symptômes de pourriture molle.

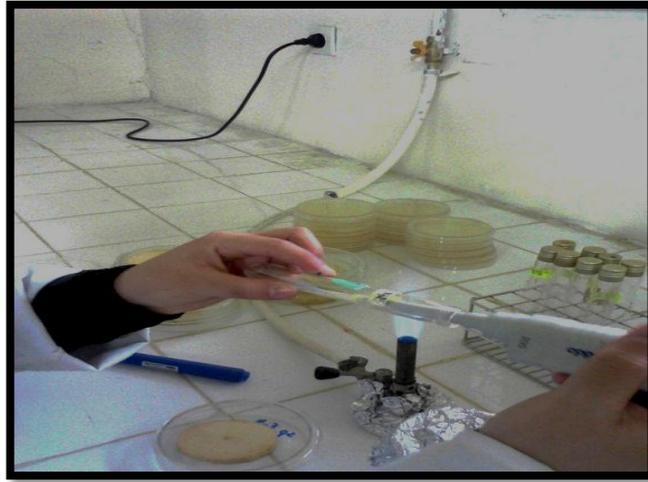


Figure 13 : dépôt de l'inoculation bactérienne sur les cubes de pomme de terre.

3. Etude des principaux facteurs.

Nous avons choisi de tester seulement les souches virulentes qui ont répondu positivement au test du pouvoir pathogène c'est-à-dire les souches présentant des symptômes de pourriture sur les cubes de pomme de terre.

Les disques de pomme de terre de 15 mm de diamètre et 20 mm de longueur ont été réalisés sur des tranches de pomme de terre à l'aide d'un emporte-pièce stérile sous la hotte à flux laminaire (Alim., 2009).

Par la suite, les disques sont déposés dans des microplaques stériles (boîte de culture cellulaire) contenant 12 alvéoles de 25 mm de diamètre et répartis en 4 colonnes et 3 rangées. Dans chaque microplaque 3 souches sont inoculées plus un témoin négatif (l'eau distillée stérile), les rangées sont considérées comme des répétitions (Alim., 2009) (figure 14).



Figure 14 : Microplaques de culture cellulaire contenant les disques de la pomme de terre.

Les paramètres étudiés : Nous avons choisi d'étudier deux principaux facteurs, à savoir :

- Facteur biotique (la virulence des souches).
- Facteurs abiotiques (la température et l'humidité relative).

3.1 Le facteur biotique (virulence des souches).

Le test a été effectué à une température de 28°C sur des disques de pomme de terre inoculés par les souches sélectionnés pour déterminer l'influence de la virulence des souches sur le développement des symptômes de pourriture molle. La lecture des résultats se fait après 3 jours d'inoculation.

3.2 Les facteurs abiotiques.

3.2.1 Etude de l'effet de la température sur le développement des symptômes de pourriture molle.

Pour étudier l'impact de la température sur le développement des symptômes, les suspensions bactériennes de souches sélectionnées ont été déposées directement sur les disques de pomme de terre et incubés à trois températures différentes (10°C, 22°C et 34°C) pendant 72h.

3.2.2 Etude de l'effet de l'humidité sur le développement des symptômes de pourriture molle.

Trois différentes valeurs d'humidité relative (50%, 86% et 100%) ont été obtenues en utilisant des dessiccateurs. L'humidité relative à l'intérieur des dessiccateurs a été stabilisée en utilisant une solution saturée de sels et de l'eau distillée: KCl (50% et 86%), et de l'eau distillée stérile (100%). Le sel a été mélangé dans un litre d'eau distillée et agité jusqu'à l'obtention d'une solution saturée (Ahoussi., 2012).

Pour le traitement (humidité relative), le dessiccateur renfermait 250 ml de la solution saline saturée appropriée avec un excès de la phase solide du sel afin de maintenir l'humidité relative désirée (Ahoussi., 2012).

Pour étudier l'impact de l'humidité sur le développement des symptômes, les suspensions bactériennes de souches sélectionnées ont été inoculées directement sur les disques de pomme de terre et incubée à une température ambiante 28°C pendant 72h à différentes valeurs d'humidités relatives.

4. Quantification des symptômes.

Après trois jours d'incubation deux mesures ont été effectuées.

La quantité de chair de pomme de terre pourrie (Qcp) a été exprimée en pourcentage par la formule suivante:

$$Q_{cp} (\%) = \frac{P_1 - P_2}{P_1}$$

P₁: poids (g) du disque de pomme de terre inoculé avant incubation.

P₂: poids (g) du disque de pomme de terre inoculé après enlèvement de la chair pourrie à l'aide d'une lame de scalpel au troisième jour de l'incubation (Ahoussi., 2012).

La quantité d'eau perdue par les disques de chair de pomme de terre (Qe) a été exprimée également sous forme de pourcentage par la formule suivante:

$$Q_e (\%) = \frac{P'_1 - P'_2}{P'_1}$$

P₁: poids (g) du disque de pomme de terre non inoculé avant incubation.

P₂: poids (g) du disque de pomme de terre non inoculé après trois jours d'incubation (Ahoussi., 2012).

Finalement, ces deux mesures, Q_{cp} et Q_e, ont été utilisées pour estimer la quantité nette de chair de tubercules de pomme de terre pourrie (Q_{ncp}) par la formule suivante:

$$\mathbf{Q_{ncp} (\%) = Q_{cp} - Q_e} \text{ (Ahoussi., 2012).}$$

5. Analyse des résultats obtenus.

Les résultats obtenus pour les différents tests effectués *in vitro* ont été analysé par le programme Excel 2013.

1. Le pouvoir pathogène des souches bactériennes.

Trois jours après l'inoculation des disques de pomme de terre par les différentes suspensions bactériennes, l'apparition et le développement des symptômes sur les disques se traduisent par la dégradation des tissus infectés qui deviennent spongieux, avec une couleur crème à brune foncé, dégageant une forte odeur nauséabonde.

Parmi les 59 souches testées, 13 souches (22.03%) ont répondu positivement à l'inoculation *in vitro* de façon variable (figure 15), et 46 souches (77.97%) n'ont pas présente des symptômes de pourriture molle.

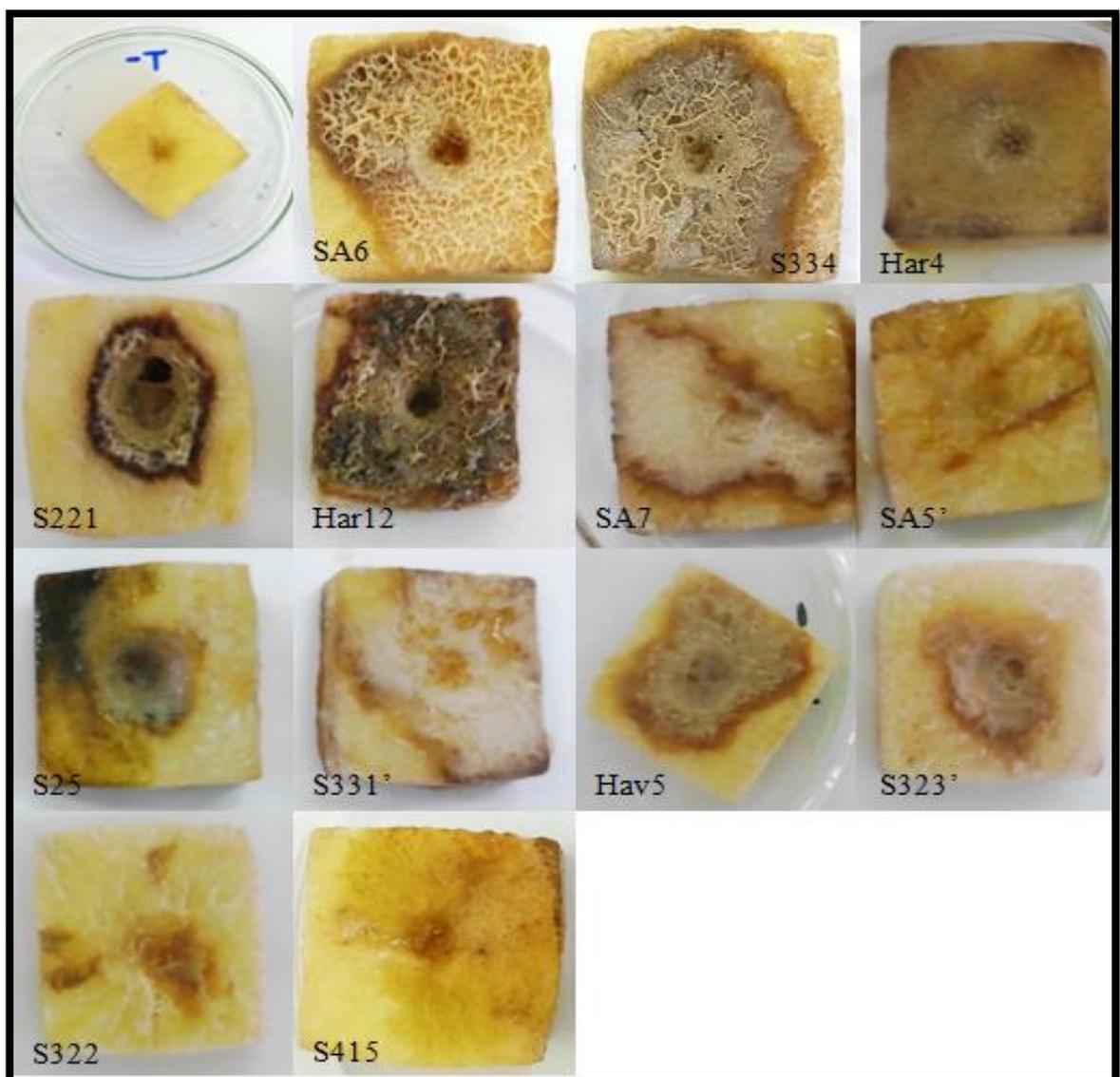


Figure 15 : Réponse des cubes de pomme de terre à l'inoculation *in vitro* des souches après trois jours d'incubation à 28°C.

T : témoin négative (l'eau distillée stérile).

Pour les tests ultérieurs nous n'avons testés que les souches qui ont développé des symptômes de pourriture sur les disques de pomme de terre soit un total de 13 souches bactériennes.

2. Le facteur biotique : La virulence des souches bactériennes.

Trois jours après l'inoculation, le développement des symptômes caractéristiques de la maladie se traduisant par une macération des tissus infectés qui devient spongieux, avec une couleur crème à brune foncé (figure 16), le disque apparait humide et de consistance légèrement granuleuse, dégageant une forte odeur nauséabonde.

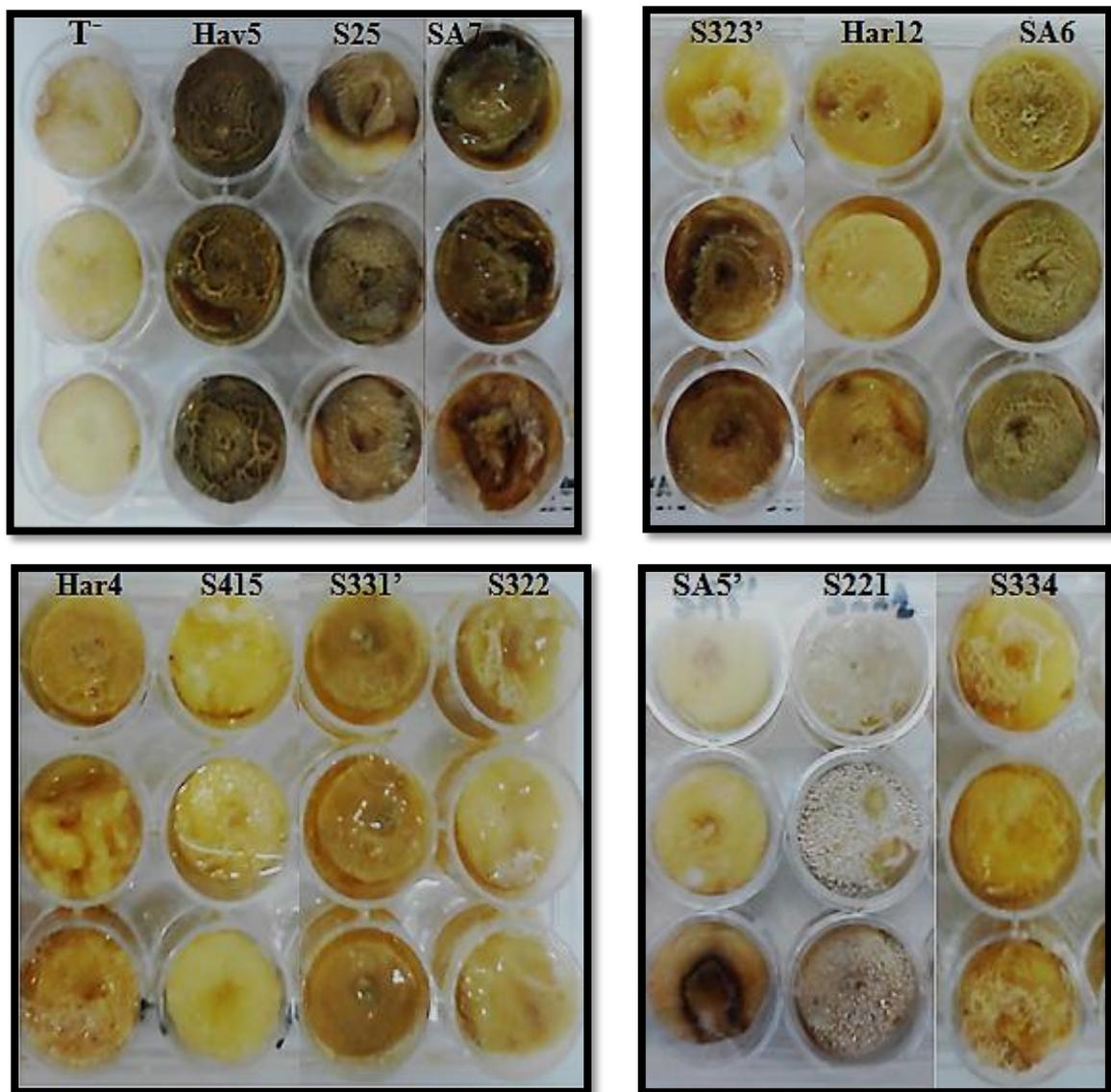


Figure 16 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 28°C. T⁻ : témoin négative (l'eau distillée stérile).

Les résultats du calcul du pourcentage (%) de la quantité de chair de pomme de terre pourrie (**Qncp**) observés sur les disques de pomme de terre inoculée par les 13 souches sont présentés dans l'histogramme qui exprime l'effet de la virulence sur le développement des symptômes de pourriture molle et sur la quantité de chair de pomme de terre pourrie dans nos conditions expérimentales (figure 17).

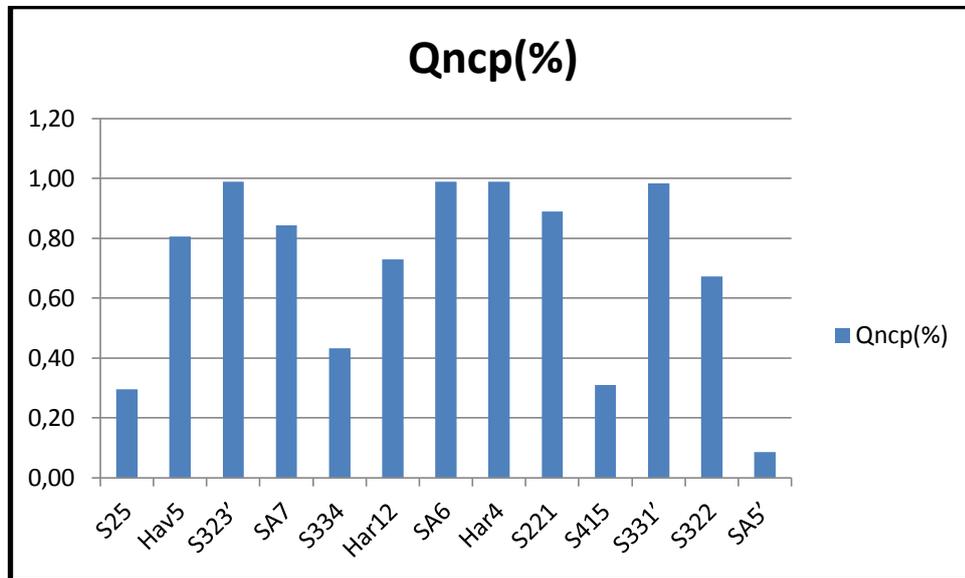


Figure 17: la quantité de chair de pomme de terre pourrie observé sur les disques de pomme de terre inoculé et incubé à 28°C pendant trois jours.

Qncp : la moyenne de quantité de chair de pomme de terre pourrie des trois répétitions.

Les résultats obtenus nous informent que le développement de pourritures sur les disques est remarquablement variable. Les disques témoins n'ont pas développé de pourritures, preuve que les tubercules utilisés étaient sains. Considérant l'ensemble des répétitions de l'essai, on constate des différences de réponses entre les isolats bactériens..

L'analyse d'histogramme a indiqué que les isolats S415, S334 et S25 testés sont moins virulents que les autres isolats. A titre d'exemple, S323' a entraîné une perte de poids environ trois fois plus élevée que S415.

Les résultats statistiques du pourcentage de la quantité de chair de pomme de terre pourrie ont révélé la présence d'une différence de virulence, la raison pour laquelle on la classe ces souches selon leur perte de poids.

Les souches très virulentes sont les souches S323', SA6, Har4 et S331' avec un pourcentage de la quantité de chair de pomme de terre pourrie $\geq 98\%$ où la pourriture des disques de pomme de terre inoculés est maximale 15mm c'est-à-dire la totalité du disque est pourrie.

Les souches Hav5, SA7, Har12, S221 et S322 sont des souches virulentes présenté un pourcentage de la quantité de chair de pomme de terre pourrie varie entre $66\% \leq Q_{ncp} \leq 90\%$ où la pourriture dépasse la moitié des disques de pomme de terre inoculée.

Les souches S25, S334 et S415 moyennement virulentes où la pourriture des disques inoculés est inférieure à 42% où la pourriture ne dépasse pas les deux quart du disque. La souche SA5' considéré comme la moins virulente où la pourriture est minimale ne dépasse pas quelque mm du disque, elle présente un pourcentage de quantité de chair pourrie égale 8%.

3. Les facteurs abiotiques.

3.1. Effet de la température sur le développement des symptômes de pourriture molle.

Après 3 jours d'inoculation, le développement des symptômes de pourriture se traduit par la macération des tissus infectés qui deviennent mou et spongieux, le disque apparait humide et de consistance légèrement granuleuse, avec une couleur crème à brune foncé, dégageant une forte odeur nauséabonde (les figures 18, 19 et 20) pour les trois températures d'incubation.

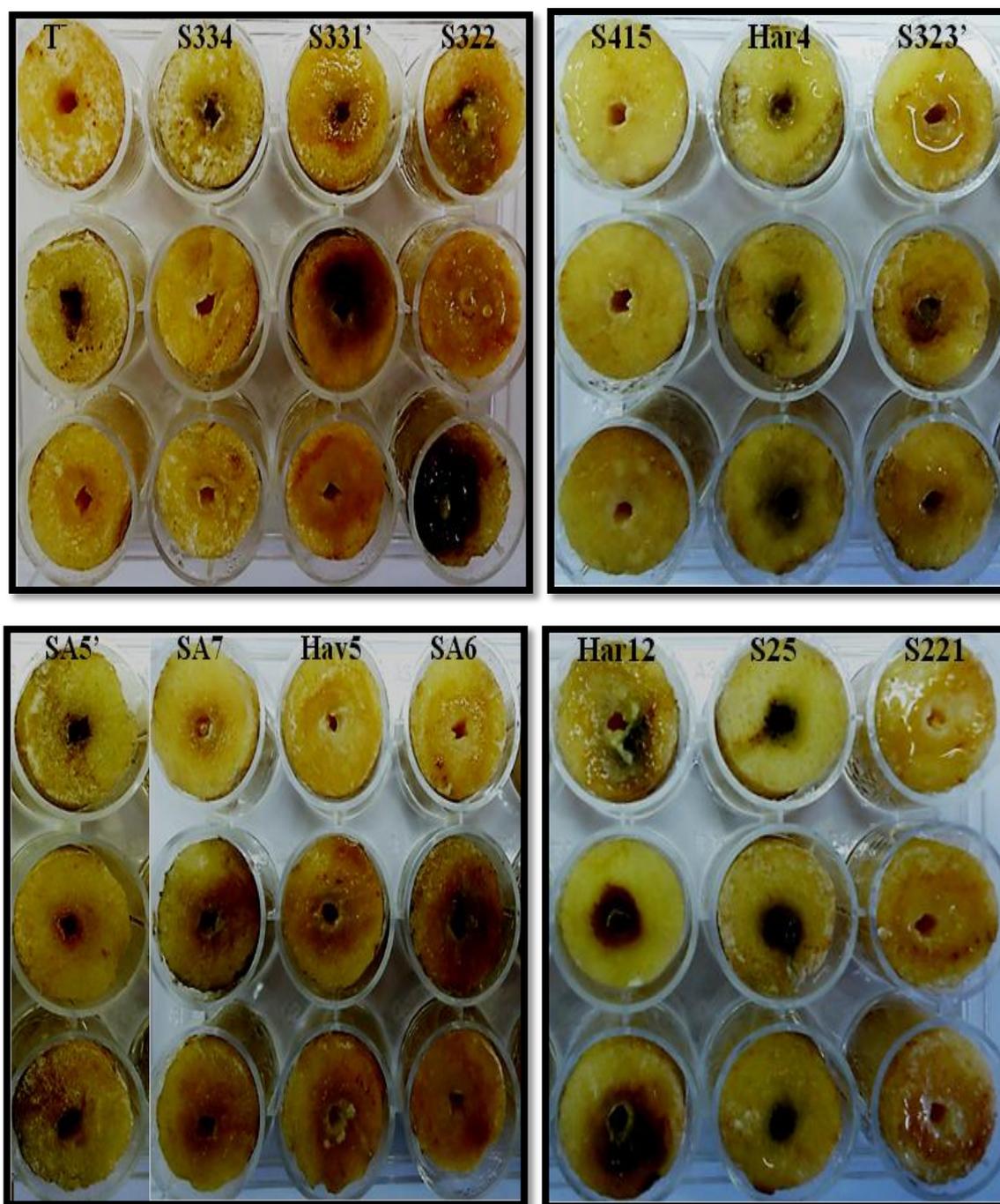


Figure 18 : Les disques de pomme de terre inoculée par les souches après trois jours d'incubation à 10°C.

T : témoin négative (l'eau distillée stérile).

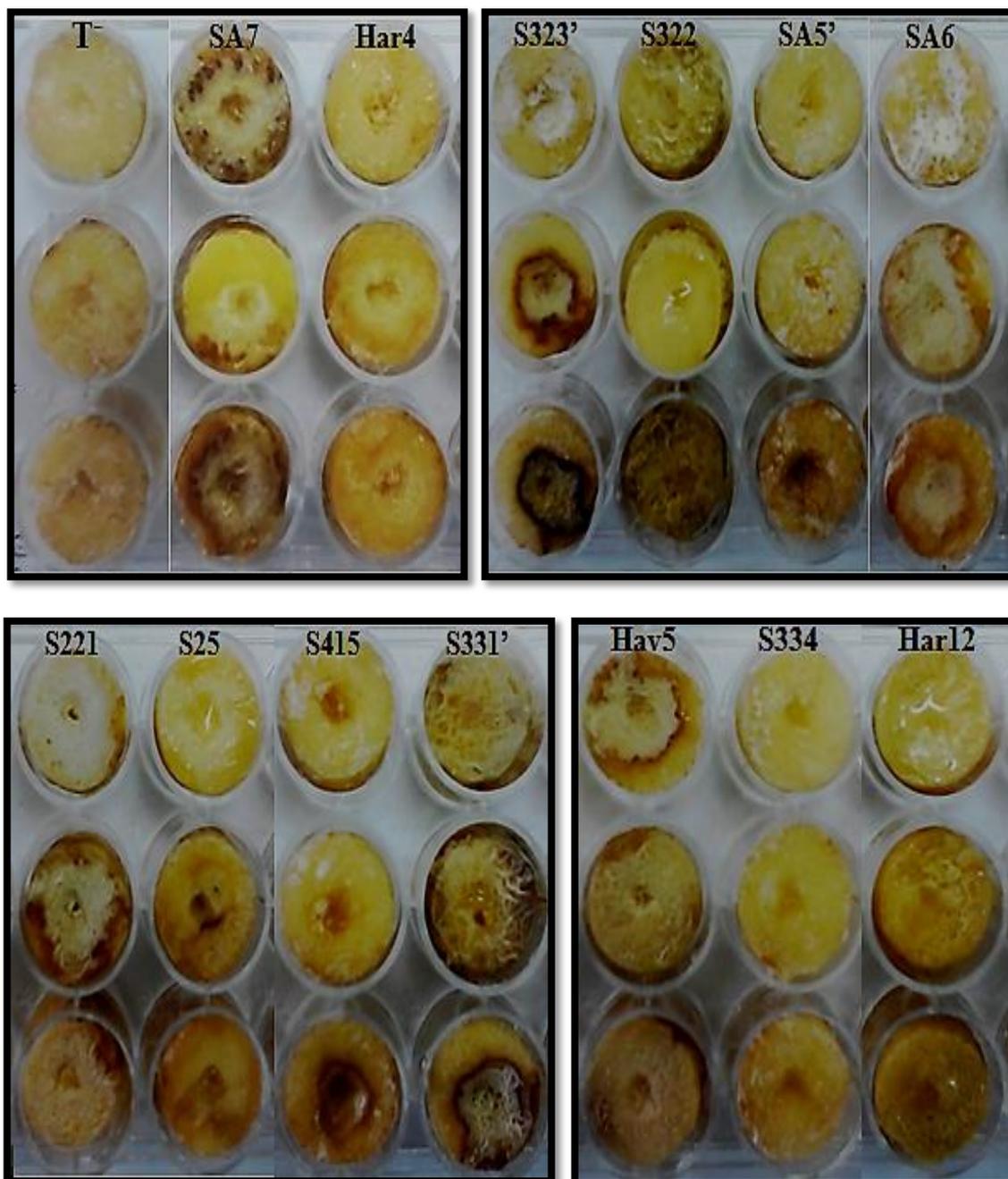


Figure 19 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 22°C.

T⁻ : témoin négative (l'eau distillée stérile).

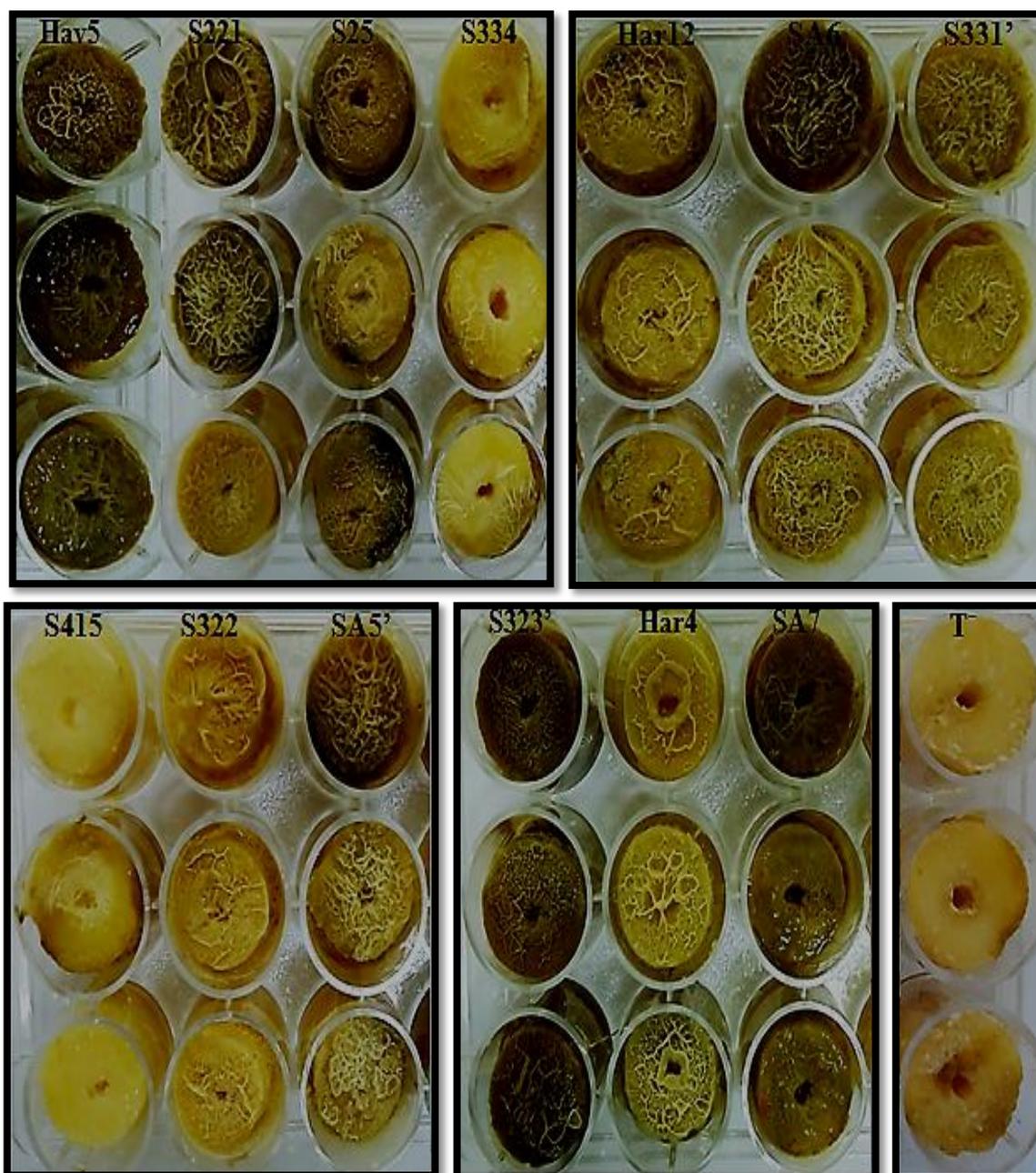


Figure 20 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 34°C.

T' : témoin négative (l'eau distillée stérile).

Les résultats du calcul du pourcentage (%) de la quantité de chair de pomme de terre pourrie (**Qncp**) observés sur les disques de pomme de terre inoculée par les 13 souches sont présentés dans l'histogramme, ce dernier exprime l'effet de la température sur le développement des symptômes de la pourriture molle (figure 21).

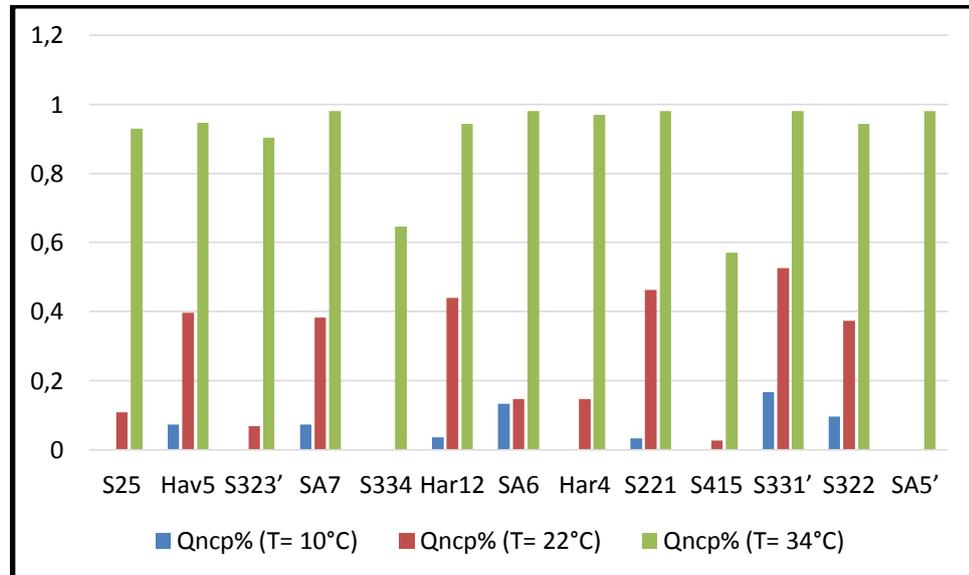


Figure 21 : la quantité de chair de pomme de terre pourrie observé sur les disques de pomme de terre inoculé et incubé à trois températures différentes (10°C, 22°C et 34°C) pendant trois jours.

Nos résultats indiquent une relation exponentielle entre l'expression des symptômes et l'augmentation de la température d'incubation pour les isolats bactériens testés *in vitro*.

Pour la température 10°C, nous avons observé les symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée par les isolats Hav5, SA7, Har12, SA6, S221, S331'et S322 avec une faible perte de poids (% Qncp) ne dépassant pas 17%. Ces isolats ont été inclus dans le groupe des souches virulentes et très virulentes. Les autres disques n'ont pas montré un développement des symptômes.

Parmi les 13 isolats testés pour la température 22°C, 11 isolats répondus positivement à l'inoculation avec une perte de poids moyenne ne dépassant pas 50%.

Enfin pour la température 34°C, nous avons observé les symptômes de pourriture sur l'ensemble des isolats testé avec une forte perte de poids ou la pourriture des disques inoculés est maximale ($Qncp \geq 94\%$) sauf deux isolats présentent une perte de poids moyenne de 57% pour la souche S415 et 65% pour la souche S334.

3.2. Effet de l'humidité sur le développement des symptômes de pourriture molle.

Trois jours après l'inoculation, l'apparition des symptômes de pourriture molle sur les disques de la pomme de terre des trois traitements, se traduit par la macération des tissus infectés qui deviennent mou et spongieux, avec une couleur crème à brune foncée, dégageant une forte odeur nauséabonde, et le disque apparaît humide (figure 22, 23 et 24), pour les trois valeurs d'humidité relative.

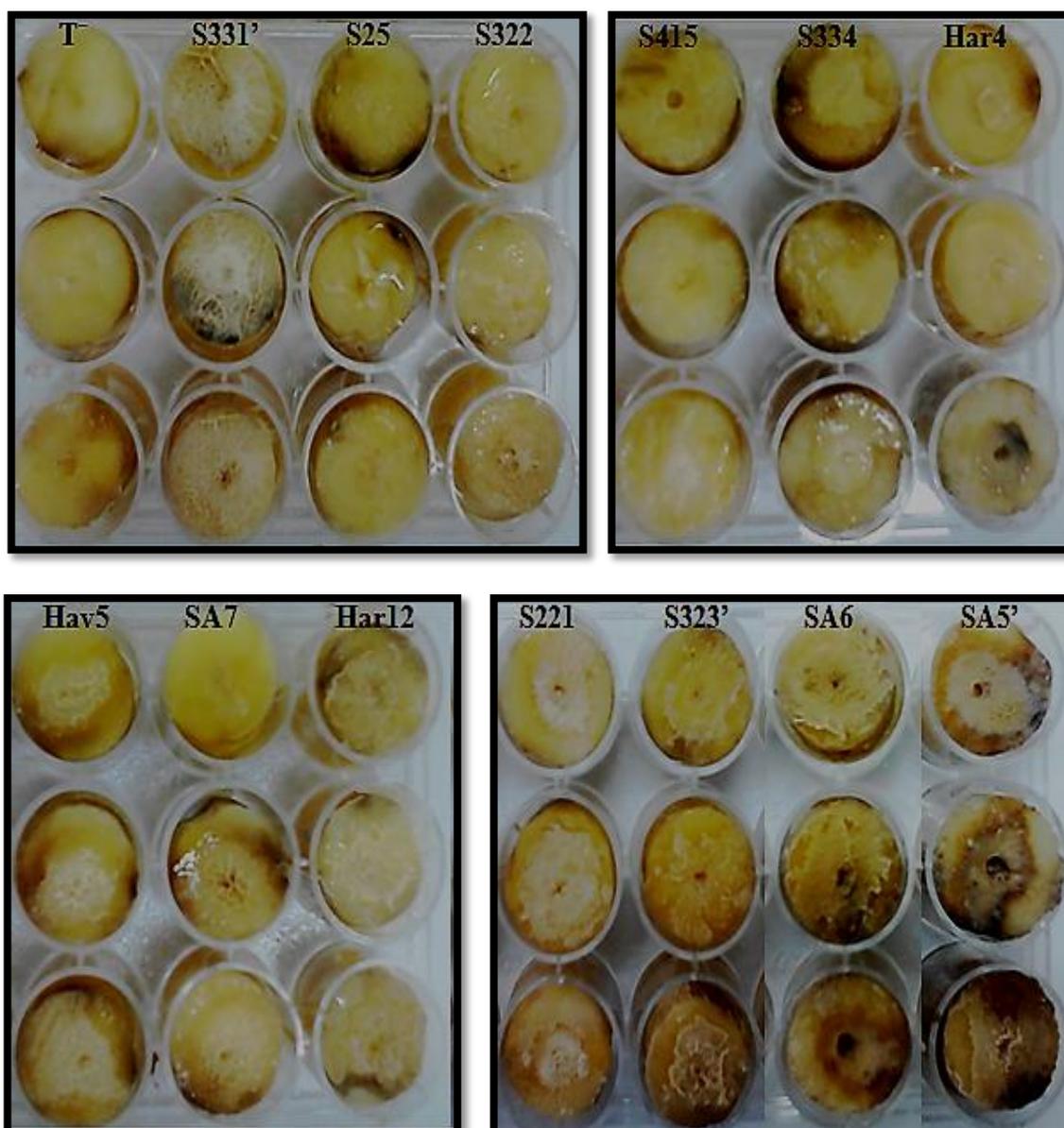


Figure 22 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 28°C et 50% d'humidité relative.

T⁻ : témoin négative (l'eau distillée stérile).

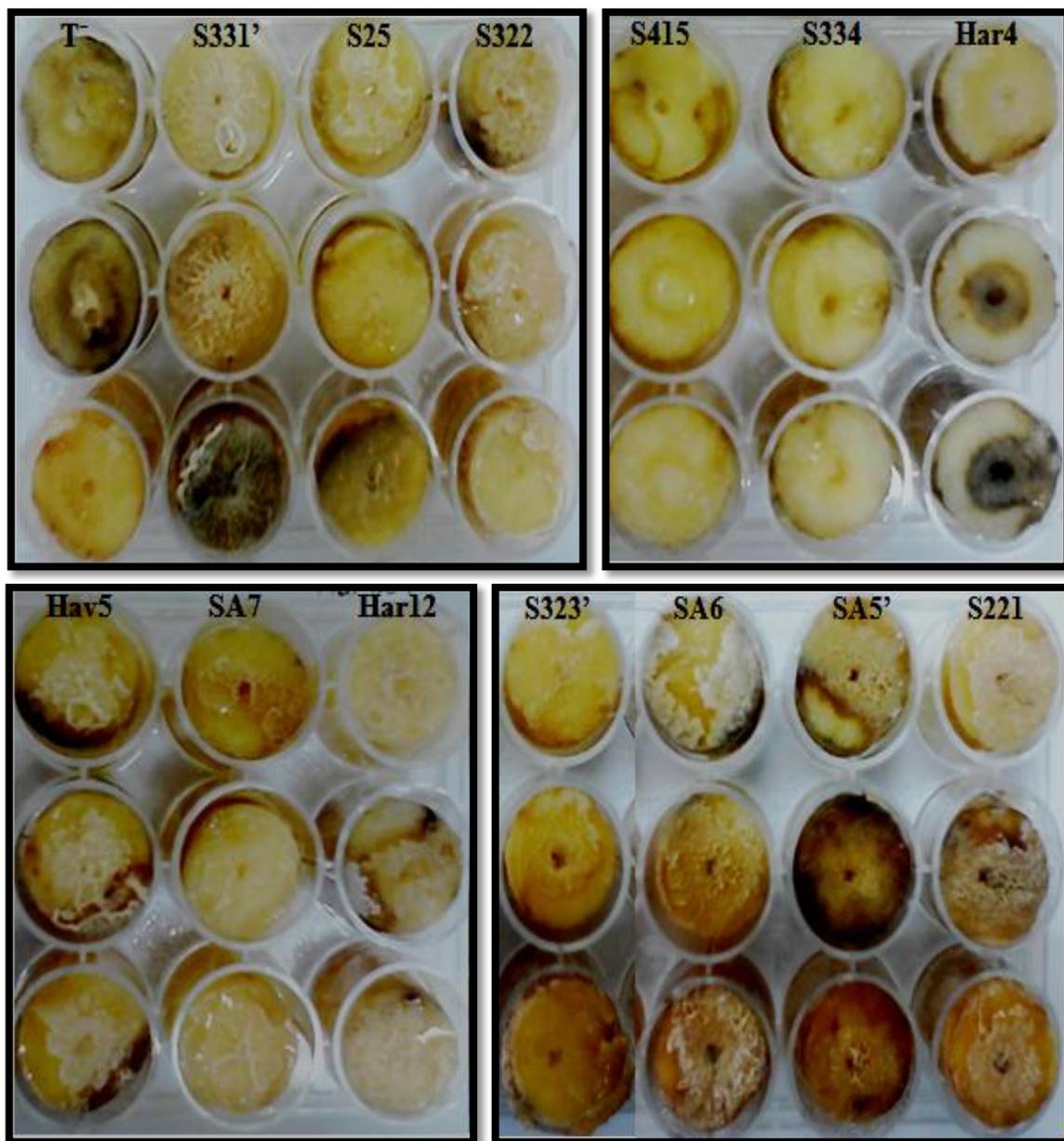


Figure 23 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 28°C et 86% d'humidité relative.

T⁻ : témoin négative (l'eau distillée stérile).

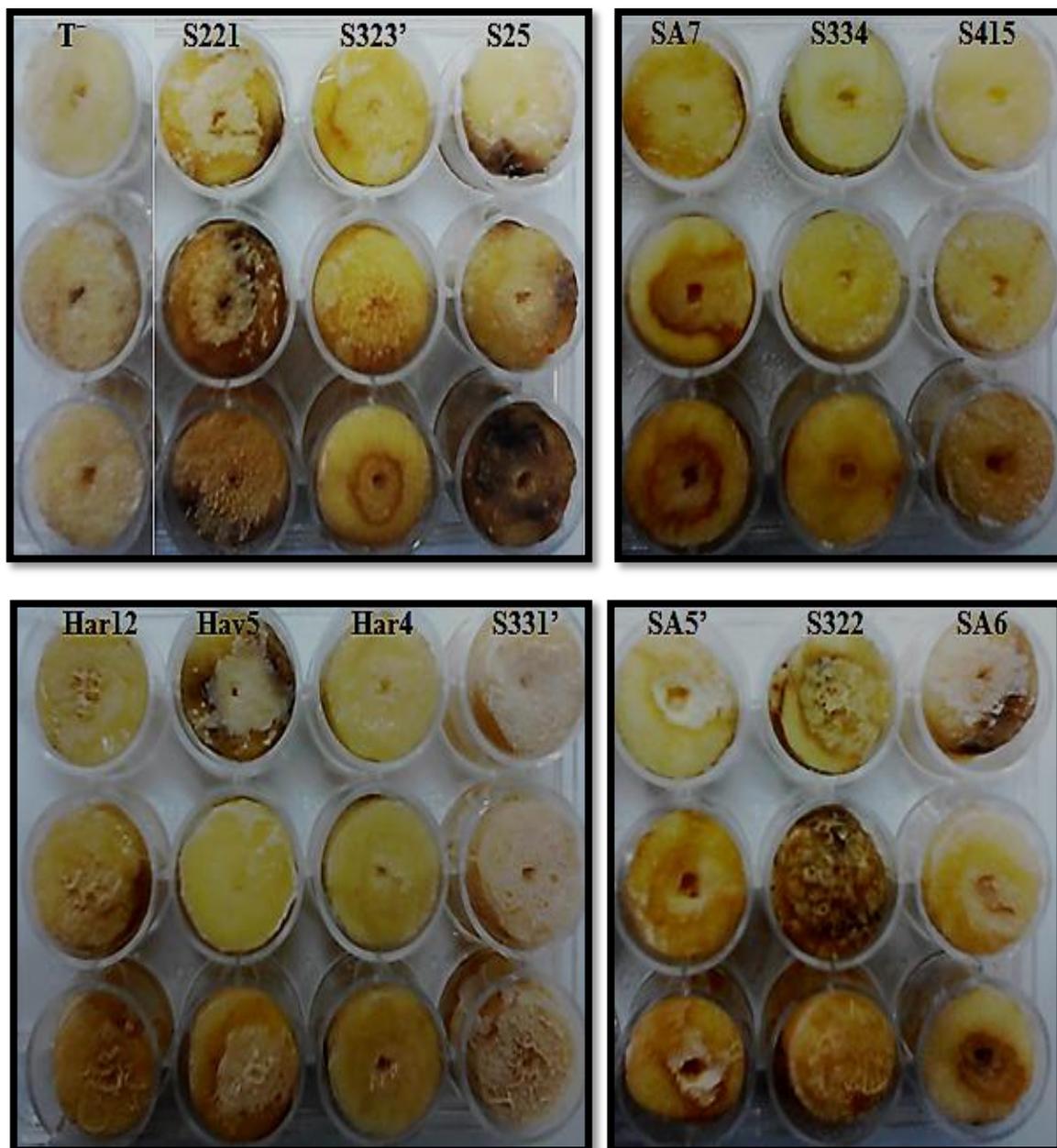


Figure 24 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculée après trois jours d'incubation à 28°C et 100% d'humidité relative.

T⁻ : témoin négative (l'eau distillée stérile).

Les résultats du calcul du pourcentage (%) de la quantité de chair de pomme de terre pourrie (**Qncp**) observés sur les disques de pomme de terre inoculée par les 13 souches sont présentés dans l'histogramme, ce dernier exprime l'effet de l'humidité relative sur le développement de pourriture molle (figure 25).

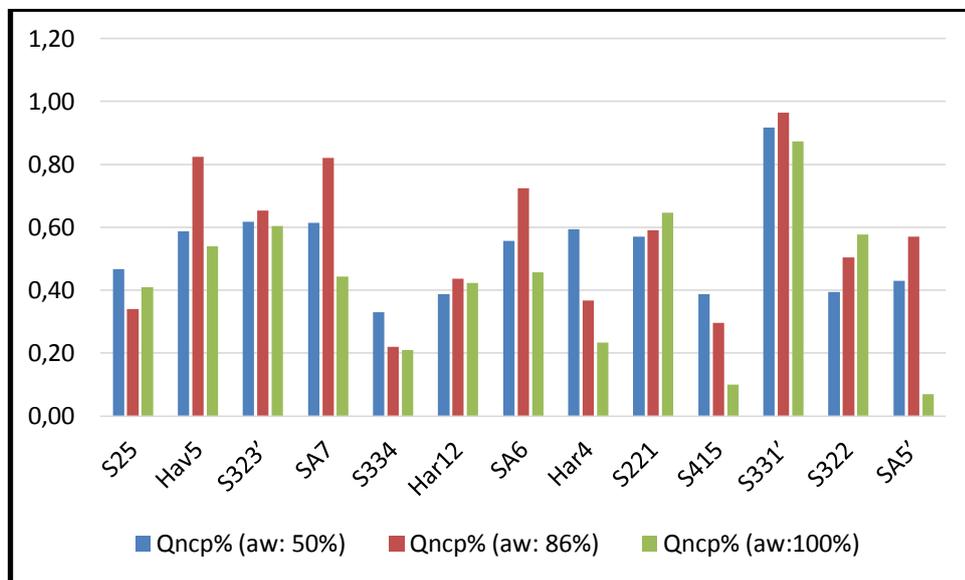


Figure 25 : moyenne de la quantité de chair de pomme de terre pourrie observé sur les disques de pomme de terre inoculé et incubé à 28°C pendant trois jours à différentes valeurs d'humidité relative (50%, 86% et 100%).

Nos résultats indiquent une relation exponentielle entre l'expression des symptômes et l'augmentation des valeurs différentes d'humidité relative pour les isolats bactériens testés *in vitro*.

Pour l' a_w à 50%, nous avons observé les symptômes de pourriture molle sur les disques inoculés par les 13 isolats avec une perte de poids moyenne, à l'exception de la souche S331' qui présente une forte perte de poids 92% du disque.

L'humidité relative à 86% indique une augmentation de perte de poids, sauf pour 4 isolats qui n'ont pas montré une augmentation par rapport au traitement précédant l' a_w de 50%. Les isolats exprimés les symptômes de pourriture molle sur les disques inoculés avec une perte de poids moyennent.

Chapitre 3 : Résultats et Interprétations

Concernant l' a_w à 100%, les résultats ont montré un développement des symptômes sur les disques inoculés avec une perte de poids moyenne, cependant, elle est inférieure à celle du test précédant (l' a_w à 86%) sauf pour les 2 isolats S322 et S221 qui ont manifesté une augmentation de la perte de poids par rapport aux traitements à 50% et à 86%.

Selon l'analyse statistique le pourcentage maximal de quantité de chair de pomme de terre pourrie est observé à l'humidité relative 86%.

Chapitre 4 : Discussion.

Les bactéries pectinolytiques peuvent être à l'origine de plusieurs maladies de la pomme de terre, comme des pourritures de tiges appelées «jambes noires» et des pourritures de tubercules appelées «pourritures molles». Les symptômes de jambe noire induits varient d'une pourriture humide à sèche des tiges selon les conditions climatiques, alors que les tubercules peuvent être atteints de pourritures molles au champ et en conservation (Helias., 2008).

Les bactéries pectinolytiques causent des dégâts importants sur les cultures de nombreux végétaux et lors de la conservation des produits issus des récoltes (Laurent *et al.*, 2001 ; Smadja *et al.*, 2003a). Au cours des dernières années, une augmentation de maladie due à ces bactéries a pu être observée. Les dommages peuvent être considérables, car elle évolue très rapidement. L'impact économique est difficile à chiffrer parce qu'il dépend de l'intensité de l'épidémie et des effets qui peuvent rester pendant plusieurs années (Kettani Halabi., 2014).

Le pouvoir pathogène de ces bactéries repose sur la production et la sécrétion de différents facteurs protéiques tels, des peptides toxiques pour les végétaux appelés harpines, et des enzymes (cellulase, pectate lyase, pectate méthylestérase et protéase) responsables de la macération des parois végétales (Stevenson *et al.*, 2001). La synthèse de ces substances sécrétées est régulée par le QS, ce qui signifie qu'elle est couplée à la densité cellulaire bactérienne, ne se produisant qu'à haute densité. Une fois le quorum atteint, les bactéries se multiplient dans l'espace intracellulaire et libèrent des enzymes pectinolytiques. Ces enzymes vont macérer les cellules. En conséquence, le tubercule se transforme en une masse cellulaire molle pleine d'eau (Stevenson *et al.*, 2001).

Toutefois, il existe d'autres mécanismes importants participant au pouvoir pathogène des *Pectobacterium* sp à savoir : la mobilité, l'acquisition du fer via la production des sidérophores, la formation de biofilm, le chimiotaxisme, etc. (Kettani Halabi., 2014).

L'objectif de notre travail est d'étudier l'influence des facteurs biotiques et abiotiques d'une collection des souches bactériennes sur le développement des symptômes de pourriture molle sur les tranches de pomme de terre.

Pour le test du pouvoir pathogène, considéré comme un test de présélection des souches bactériennes, les résultats obtenus par notre étude montrent que 13 souches seulement (22,03%) ont répondu positivement à l'inoculation en présentant des symptômes de pourriture molle de façon hétérogène, ce test vise à choisir uniquement les isolats qui induit des symptômes de pourritures molle.

- **L'expression des symptômes liés à la virulence :**

13 souches ont été sélectionné afin d'estimer l'influence de la virulence sur le développement des symptômes, l'observation des symptômes de pourriture de façon hétérogène sur les disques de la pomme de terre indique une différence dans la faculté de virulence entre les isolats. Ceci est la conséquence d'une interaction entre l'espèce végétale et la diversité génétiques des souches bactériennes testées.

D'une manière générale le processus d'infection des bactéries pectinolytiques se déroule en 2 phases distinctes : une étape primo-invasive au cours de laquelle la bactérie se multiplie au point d'infection (blessure, lenticelle, etc...), puis une phase lytique marquée par la production massive d'une grande variété d'enzymes extracellulaires (Laurent *et al.*, 2001 ; Smadja *et al.*, 2003a).

Selon Lebercka (2004) le diamètre de la pourriture des tissus de tubercules de pomme de terre est un indicateur de la virulence des souches. Ce qui nous amène à conclure qu'on peut regrouper ces isolats selon le pourcentage de la quantité nette de chair de pomme de terre pourrie.

Les souches peu virulentes et moyennement virulentes sont caractérisées par une étape de multiplication assez longue expliquée probablement par une situation d'incompatibilité entre la souche bactérienne et l'espèce végétale inoculée (Hacker and Kaper., 2000; De Boer., 2003).

D'autre part, l'étape de multiplication est définie comme très longue et est liée à une mauvaise adaptation aux conditions de l'environnement. Par conséquent, l'absence de la production d'enzymes extracellulaires nécessaires pour l'étape invasive est due à un défaut au niveau du seuil du QS, suite à une faible accumulation des molécules signal (Batema *et al.*, 1976).

Les souches virulentes et très virulentes sont caractérisées par une phase de multiplication très rapide, par conséquent, l'accumulation des molécules signal du QS est importante. Ce qui aboutissent à la production massive d'enzymes extracellulaires et pectinolytiques. Ces derniers jouent un rôle capital dans la macération et la dégradation des composants pectiques de la paroi cellulaire et celle de la lamelle moyenne (Batema *et al.*, 1976).

- **Effet de la température :**

Une étude rapportée par Toth *et al.* (2011) a permis de démontrer que la température joue un rôle déterminant dans le développement des symptômes. Nos résultats ont montré une augmentation de perte de poids avec la température d'incubation, pour les 13 isolats bactériens. Des résultats similaires ont été observés avec le développement des symptômes, lorsque la température augmente la quantité de chair de pomme de terre pourrie augmente quelle que soit la virulence des souches. Ces résultats sont en accord avec le rôle de la température dans le développement de la pourriture molle (Pérombelon., 2002; Toth *et al.*, 2003b).

Les *Pectobacterium* produisent de grandes quantités d'enzymes pectinolytiques qui, associées avec d'autres enzymes, provoquent la dégradation des tissus végétaux, à des degrés d'agressivité variable (Whitehead *et al.*, 2001). Parmi ces enzymes, les pectinases jouent un rôle prépondérant dans le développement de la maladie. Quatre types de pectinases sont connus, les plus importantes dans le développement de la maladie sont les pectates lyases (PEL) (Smadja *et al.*, 2004). L'effet différentiel de la température sur la pathogénicité de *Pectobacterium spp* peut être attribué à son effet sur la production des PEL (Smadja *et al.*, 2004).

Des extraits purifiés de PEL provoquent la macération et la mort cellulaire (Liao., 1989). En plus, des souches de *Dickeya spp* dont le gène codant pour les PEL a été inactivé par délétion sont devenues moins virulentes (Jafra *et al.*, 1999).

Smadja et al. (2004) ont montré au cours de leurs travaux que la température optimale de pathogénicité de *Pectobacterium* est liée à la température optimum de l'activité des PEL et non à leur température optimum de croissance. Selon Ahoussi (2012) la température et l'humidité relative ont une grande influence sur l'activité spécifique des PEL des *Pectobacterium*.

Smadja et al. (2004) ont relevé une température optimale pour la production des PEL autour de 15°C et 17°C pour *Pcc*. D'autres auteurs ont révélé au Nord-Ouest de l'Europe une température optimale pour la pathogénicité de *Pcc* de 25°C sur des tubercules de pomme de terre (Priou et Jouan., 1996).

La température optimale pour la pathogénicité des *Pba* estimée à environ 20°C (Pérombelon *et al.*, 1995; Priou et Jouan., 1996), est un bon compromis permettant à la fois une multiplication rapide (optimale à 24°C) et une production efficace des enzymes lytiques, qui est optimale à des températures comprises entre 12°C et 24°C (Smadja *et al.*, 2004). La thermorégulation de la multiplication bactérienne est différente de celle de la production des enzymes.

La température optimale pour la pathogénicité des *Dickeya spp* dépasse 25°C, leur agressivité est dans les températures optimales (21°C) et les niveaux plus élevés de maladies à des températures optimales de 27°C-30°C (Anonyme., 2009). Ces informations explique pourquoi il n'y avait pas eu un grand développement des symptômes (pourcentage de chair de pomme de terre pourrie faible) pour le traitement de température 10°C et pour l'humidité relative à 100% où la température dépassé 36°C.

Le pourcentage de la quantité de chair de disques de pomme de terre pourrie est plus dépendant de la température que de l'humidité relative. Togbé (2007) a observé des résultats similaires avec *Pba* sur des tranches de tubercules de pomme de terre. En outre, le pourcentage de la quantité de chair de tubercules de pomme de terre pourrie maximale due à *Pba* et *Pcc* est observé lorsque la température et l'humidité relative sont les plus élevées (20°C et 100%).

- **Influence de l'humidité sur l'expression des symptômes :**

Les résultats obtenus nous ont indiqué qu'une augmentation de perte de poids dût à l'humidité relative pour les traitements à 50% et à 86%. Ces résultats observés concordent avec l'importance du développement des symptômes de pourriture molle. De sorte que le pourcentage varie avec l'augmentation de l'humidité relative.

Contrairement aux tests précédents, l'humidité relative à 100% n'a pas montré une influence sur l'expression des symptômes probablement dût aux conditions défavorable pour le développement des isolats.

L'étude de l'effet des facteurs abiotiques sur le développement des symptômes a mis en évidence que certains isolats bactériens sont plus agressifs que les autres à des températures élevées. A titre d'exemple, les disques de pomme de terre inoculés avec la souche SA5', étant considéré la moins virulente, développe des symptômes de pourriture molle à une température de 34°C. Il est donc possible qu'à une température élevée, les isolats dégradent plus rapidement les tissus du tubercule de pomme de terre grâce à une activité enzymatique plus intense ou à une multiplication bactérienne plus élevée (Gerardin *et al.*, 2013)

Nos résultats indiquent un effet capital de l'humidité et de la température sur le développement des symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre. Indique aussi que l'effet de température était plus important que celui de l'humidité relative, du fait que la multiplication cellulaire et les activations lytiques sont thermo-régulées (Laurent *et al.*, 2001 ; Smadja *et al.*, 2003a), nos résultats concorde avec le rôle de la température et de l'humidité sur le développement des symptômes de pourriture sur les tubercules de pomme de terre (toth *et al.*, 2011).

Conclusion générale.

La pourriture molle de la pomme de terre est une maladie d'importance mondiale, qui occasionne des pertes économiques considérables au stockage. En entrepôt, la température et la formation d'eau libre à la surface des tubercules de pomme de terre jouent un rôle majeur dans l'initiation et le développement de la maladie, provoquée par les deux genres bactériennes *Pectobacterium spp* et *Dickeya spp*. L'expression de la maladie est étroitement liée aux conditions climatiques et en particulier à la température environnementale, notamment parce que la multiplication cellulaire et les activations lytiques sont thermo-régulées (Laurent *et al.*, 2001 ; Smadja *et al.*, 2003a).

La présente étude a pour objectif l'évaluation d'une collection de souches bactérienne phytopathogène constituée de 59 isolats sur le développement de la pourriture molle de pomme de terre, les souches testées sont isolées à partir des tubercules de pomme de terre infectés présentant des symptômes de pourriture sur les tubercules de pomme de terre.

Nous avons entrepris notre expérimentation par la réalisation du test du pouvoir pathogène d'une collection de souches bactériennes sur les cubes de pomme de terre, ce dernier est considéré comme un test de présélection permettant de sélectionner les souches ayant développées des symptômes de pourriture molle. Parmi les 59 souches testées, 13 souches (22,03%) ont répondu positivement à l'inoculation *in vitro*.

L'étude *in vitro* consiste à déterminer l'effet de la virulence, la température et l'humidité relative sur le développement des symptômes des souches sélectionnées. Les résultats obtenus ont montré que les souches répondent de façon hétérogène à l'inoculation bactérienne, qui s'exprime par une dégradation des tissus végétaux. Ces derniers deviennent spongieux, avec une couleur crème à brune foncé, et dégagent une odeur particulièrement nauséabonde.

L'observation de la pourriture molle indique une différence de virulence entre les isolats. L'analyse statistique a montré que certains isolats bactériens sont plus virulents que d'autres. Indiquant ainsi un effet important de la température et de l'humidité relative sur le développement de la pourriture molle à la surface des disques de pomme de terre.

Nous avons constaté un observé une forte influence des facteurs environnementaux (température et humidité relative) sur le développement de la pourriture molle au niveau de disques de pomme de terre. Plus ces deux facteurs augmentent, plus ce risque se maintient. Nous pouvons dire que par rapport à nos conditions expérimentales, la température apparaît comme le facteur le plus important, suivi de l'humidité relative puis de la virulence des souches bactériennes dans le développement des symptômes de pourriture molle.

Les maladies bactériennes dont celles liées aux *Pectobacterium* sont difficiles à contrôler en raison du caractère imprévisible des bactéries qui peuvent demeurer latentes avant de se multiplier et d'infecter rapidement les plantes et/ou les tubercules à la faveur de conditions d'humidité et de température adéquates (Hélias., 2008). De plus, des tests biochimiques et moléculaires ont mis en évidence la présence sur le même plan de différentes souches entraînant les mêmes symptômes rendant plus difficile l'établissement d'une méthode de lutte (Hélias., 2012).

Dans ce cas, les pertes de rendement sont de 15% à 30% et aucune méthode de lutte ne permet de contrôler la maladie (Hélias., 2012), et aucun traitement chimique efficace n'existe (Peters *et al.*, 2007; Evans *et al.*, 2010) et aucune variété cultivée n'est totalement résistante vis-à-vis de la pourriture molle et la jambe noire (Rasche *et al.*, 2006; Czajkowski *et al.*, 2011).

La seule façon de lutter contre ces pathogènes est d'adopter des mesures prophylactiques visant à ralentir le développement de l'inoculum latent au sein des lots. La principale mesure est l'utilisation de semences saines et de réduire les blessures des tubercules dues à la mécanisation de la récolte à la mise conservation. Attendre la maturité des tubercules avant de les récolter. Éviter de récolter en conditions humides permet en outre de réduire les contaminations lors du brassage des tubercules.

Le séchage des tubercules après la récolte ou après leur lavage lors de la commercialisation de tubercules « lavés » permet leur cicatrisation et élimine le film d'eau. Une régulation de la ventilation et de la température en cours de conservation prévient, quant à elle, la formation de condensation sur les tubercules. D'une manière générale, le maintien d'une hygiène stricte de l'exploitation (désinfection régulière du matériel et des

locaux, et de son environnement, élimination des déchets) est indispensable. De la même façon, une décontamination régulière de l'eau utilisée pour laver les tubercules ou son renouvellement permanent a pour objectif de limiter la dissémination des bactéries au sein des lots de tubercules.

Il demeure nécessaire de développer des composés efficaces pour contrôler la pourriture molle. Une alternative intéressante serait l'utilisation des propriétés antimicrobiennes des sels organiques et inorganiques généralement utilisés pour la conservation des aliments et dans des produits pharmaceutiques (Doores., 1993; Gennaro., 1990).

L'existence du signal de *quorum sensing* chez toutes les espèces de *Pectobacterium* macergènes et son importance stratégique dans la maladie (Smadja *et al.*, 2004) désignent ce signal bactérien comme une cible privilégiée pour développer des outils de lutte contre la virulence des *Pectobacterium*. Ces nouvelles méthodes de lutte n'ont pas vocation à éliminer ce pathogène, mais à en atténuer la virulence: ce principe est donc qualifier d'anti-virulence.

Les travaux futurs devraient prendre en considération la grande variation génétique existant au sein du genre *Pectobacterium* (*Pba* et *Pcc*) et, *Dickeya* spp qui ont été isolées au cours des dernières années. En effet, *Pectobacterium* spp et *Dickeya* spp peuvent infecter simultanément les tubercules de pomme de terre en stockage. Mais face aux exigences thermiques plus ou moins différentes de chacune de ces espèces ou sous-espèces de *Pectobacterium* et *Dickeya* il serait recommandé d'évaluer leurs compétences écologiques au niveau des deux étapes clés de la pathogénèse à savoir la multiplication bactérienne et la macération des tissus de l'hôte via la production d'enzymes pectinolytiques.

Liste des Références Bibliographiques

- Aharoni Y., E. Fallik, A. Copel, M. Gil, S. Grinberg, et J. D. Klein. 1997.** Sodium bicarbonate reduces postharvest decay development on melons. *Post harvest Biol. Technol.* **10**: 201-206.
- Ahoussi Augustin Moh., 2012.** Etude des facteurs écologiques influençant la croissance et le développement des *Pectobacterium* spp. Infectant les tubercules de pomme de terre, communauté française de Belgique académie universitaire wallonie-europe université de liège, Gembloux agro-bio tech, grade de docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique.
- Alim D., 2009.** Analyse du pouvoir pathogène de souches d'*Erwinia carotovora* isolées de semences de pomme de terre.
- Amy O, C. 2009.** Decaying signals: will understanding bacterial–plant communications lead to control of soft rot? *Current Opinion in Biotechnology* **20**: 178-184.
- Anonyme. 2009.** *Dickeya* spp (*Erwinia chrysanthemi*): What it is...and what you can do. First published 2007; republished April 2009 and November 2009 [http://potatoes.ahdb.org.uk/sites/default/files/publication_upload/GrowersEAdviceDickeyaAWhatitisandwhatyoucando\(revised2009\).pdf](http://potatoes.ahdb.org.uk/sites/default/files/publication_upload/GrowersEAdviceDickeyaAWhatitisandwhatyoucando(revised2009).pdf) Consulter le 05/08/2016.
- Anonyme. 2012.** FAOSTAT: Food and Agriculture Organization Of The United Nations, <http://faostat.fao.org>.
- Axelrood, P.E., Rella, M., and Schroth, M.N. 1988.** Role of antibiosis in competition of *Erwinia* strains in potato infection courts. *Applied and Environmental Microbiology* **54**: 1222-1229.
- Bain R.A., Pérombelon M.C.M., Tsor L., Nachmias A. 1990.** Blackleg development and tuber yield in relation to numbers of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on seed potatoes. *Plant Pathology* **39**: 125–33.
- Bainton, N.J., Stead, P., Chhabra, S.R., Bycroft, B.W., Salmond, G.P.C., Stewart, G., and Williams, P. 1992.** N-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone regulates carbapenem antibiotic production in *Erwinia carotovora*. *Biochemical Journal* **288**: 997-1004.
- Barnard A.M.L., Bowden S.D., Burr T., Coulthurst S.J., Monson R.E., Salmond G.P.C. 2007.** Quorum sensing, virulence and secondary metabolite production in plant

softrotting bacteria. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **362**: 1165–1183.

Barnard, A.M.L., and Salmond, G.P.C. 2007. Quorum sensing in *Erwinia* species. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **387**: 415-423.

Bartz J et Kelman A., 1985. Infiltration of lenticels of potato-tubers by *Erwinia carotovora* pv *carotovora* under hydrostatic pressure in relation to bacterial soft rot. *Plant Disease* **69**: 69–74.

Bettina Stäubli, R.W., Susanne Wymann von Dach. 2008. Pommes de terre et changement climatique, Info resources . Focus 1:08.

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.

Boucher C., Genin S., Arlat M. 2001. Concepts actuels sur la pathogénie chez les bactéries phytopathogènes. *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie / Life Sciences* **324**: 915–922.

Boyd, C., and Keen, N.T. 1993. Characterization of the *prtA* and *prtB* genes of *Erwinia chrysanthemi* EC16. *Gene* **133**: 115-118.

Bruno, J. Bernard., Octobre 2009. Guide technique de la culture de la pomme de terre en Afrique de l'ouest.

Campos E, Maher EA, Kelman A. 1982. Relationship of pectolytic clostridia and *Erwinia carotovora* strains to decay of potato tubers in storage. *Plant Dis* 1982; **66**: 543-6.

Carlier A., Uroz S., Smadja B., Fray R., Latour X., Dessaux Y., Faure D. 2003. The Ti plasmid of *Agrobacterium tumefaciens* harbors an *attM* paralogous gene, *aiiB*, also encoding *N*-acyl homoserine lactonase activity. *Applied Environmental Microbiology* **69**: 4989-4993.

Charkowski A.O. 2006. The Soft Rot *Erwinia*. In: Samuel S. Gnanamanickam (Ed.). *Plant-Associated Bacteria* : 423-505.

Chibane, A. 1999. Techniques de Production de la pomme de terre au Maroc. Transfert de technologie en agriculture, PNTTA, Bull. Transfert de technologie: **52**: 1-4.

Christ, B.C., Christ, B., and Schultz, O.E. 1998. Identifying potato diseases in Pennsylvania. PENNSTATE, The Pennsylvania State University, Book: 1-26.

Cirou A., Uroz S., Chapelle E., Latour X., Orange N., Faure D., Dessaux Y. 2009. Quorum Sensing as a Target for Novel Biocontrol Strategies Directed at

Pectobacterium. In: U. Gisi et al. (eds.). *Recent Developments in Management of Plant Diseases*, vol. XV: 121-131.

- Colyer P. D., et M. S. Mount. 1984.** Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on postharvest soft rot diseases. *Plant Disease*. **68**: 703-706.
- 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.
- Czajkowski R., Grabe G.J., van der Wolf J.M. 2009.** Distribution of *Dickeya* spp. And *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in naturally infected seed potatoes. *European Journal of Plant Pathology* **125**: 263–275.
- Czajkowski, R., Perombelon, M.C.M., van Veen, J.A., and 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.
- De Boer S. H., Li X. & Ward L. J., 2012.** *Pectobacterium* spp. associated with bacterial stem rot syndrome of potato in Canada. *Phytopathology* **102 (10)**: 937–947.
- 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.
- De Boer, S.H. 2003.** Characterization of pectolytic *erwinias* as highly sophisticated pathogens of plants. *Eur J Plant Pathology* **109**: 893-899.
- De Haan E.G., Dekker-Nooren T.C.E.M., van den Bovenkamp G.W., Speksnijder A.G.C.L., van der Zouwen P.S., van der Wolf J.M. 2008.** *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* can cause potato blackleg in temperate climates. *European Journal of Plant Pathology* **122**: 561–569.
- De Werra. P, Bussereau. F, Kellenberger. I, Dupuis. B, Schaerer. S, Keiser. A. 2015.** Pomme de terre: l'Empire *Pectobacterium* contre-attaque. *Recherche Agronomique Suisse* **6 (6)**: 256-263, 2015
- Dickey, R.S.; Victoria, J.I. 1980.** Taxonomy and emended description of strains of *Erwinia* isolated from *Musa paradisiaca* Linnaeus. *International Journal of Systematic Bacteriology* **30**: 129-134.
- Dickey, R.S., H.Z., C., and K.U., J. 1984.** *Erwinia chrysanthemi*: Serological relationships among strain from several hosts. *Phytopathology* **11**: 1388-1394.
- Doores, S. 1993.** Organic acids. Pp. 95-136. In Davidson M. and A. L. Branen (ed). *Antimicrobials in foods*. 2nd ed. Marcel Decker Inc. New York, N.Y.

- Duarte V., De Boer S. H., Ward L. & Oliveira A. 2004.** Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of Applied Microbiology* **96** (3) : 535–545.
- Dupuis. B, Michelante. D, Garcia-Albeniz. N, Nimal. C. 2005.** Le point sur les infections par *Erwinia Spp* en plant de pomme de terre. Section Systèmes agricoles, Libramont.
- Elphinstone J.G. 1987.** Soft rot and blackleg of potato; *Erwinia spp.* *Technical Information ulletin* **21**. International Potato Center, Lima, Peru.
- Elphinstone J.G., Pérombelon M.C.M. 1986.** Contamination of potatoes by *Erwinia carotovora* during grading. *Plant Pathology* **35**: 25-33.
- Evans T.J., Trauner A., Komitopoulou E., Salmond G.P.C. 2010.** Exploitation of a new flagella tropic phage of *Erwinia* for positive selection of bacterial mutants attenuated in plant virulence: towards phage therapy. *Journal of Applied Microbiology* **108**: 676–685.
- Fan, J., Qian, G., Yang, X., Gu, C., Kang, Y., Ma, Y., Hu, B., and Liu, F. 2011.** Biocontrol of bacterial soft rot of calla lily by elicitor HarpinXoo and N-acyl homoserine lactonase (AttM). *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **27**: 401-410.
- Ferguson, A.D., and Deisenhofer, J. 2002.** TonB-dependent receptors – structural perspectives. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 1565: 318-332.
- Ferluga S., Steindler L., Venturi V. 2008.** N-Acyl Homoserine Lactone Quorum Sensing in Gram-Negative *Rhizobacteria*. In: P. Karlovsky (ed.). *Secondary Metabolites in Soil Ecology. Soil Biology* **14**: 69-90.
- Franza, T., Mahé, B., and Expert, D. 2005.** *Erwinia chrysanthemi* requires a second iron transport route dependent of the siderophore achromobactin for extracellular growth and plant infection. *Molecular Microbiology* **55**: 261-275.
- Franza, T., Michaud-Soret, I., Piquerel, P., and Expert, D. 2002.** Coupling of iron assimilation and pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **15**: 1181-1191.
- Gennaro A. R. 1990.** Remington's pharmaceutical sciences. 18e éd. Mack Publishing Company. Easton, Pennsylvania 18042: 10 pages.
- Gerardin, D., Rouffiange, J., Kellenberger, I., Schaerer, S., Dupuis, B. 2013.** Sensibilité de la pomme de terre à la pourriture molle provoquée par *Dickeya spp.* *Recherche Agronomique Suisse* **4** (6): 288–295, 2013.

- Goto M., Matsumoto K. 1987.** *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae* subsp. nov. Isolated from diseased rhizomes and fibrous roots of Japanese horseradish (*Eutrema wasabi* Maxim.). *International journal of systematic bacteriology* **37 (2)**: 130–135.
- 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.
- Hacker, J., and Kaper, J.B. 2000.** Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu Rev Microbiol* **54**: 641-679.
- Hadas R., Kritzman G., Gefen T., Manulis S. 2001.** Detection, quantification and characterization of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* contaminating pepper seeds. *Plant pathology* **50**: 117-123.
- 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: 670-679.
- Helias, V., Le Roux, A.C., Bertheau, Y., Andrivon, D., Gauthier, J.P., and Jouan, B. 1998.** Characterisation of *Erwinia carotovora* subspecies and detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in potato plants, soil and water extracts with PCR-based methods. *European journal of plant pathology / European Foundation for Plant Pathology* **104**: 685-699.
- Hélias V., Andrivon D., Jouan B. 2000.** Internal colonisation pathways of potato plants by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Plant Pathology* **49**: 33-42.
- Hélia, 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. Cahiers Agricultures vol. 17, n° 4, juillet-août 2008.
- Hélias, V. 2012.** Jambe noire : évolution des souches et risques associés.
- Hilderbrand, D. C, Schroth, M.N, D. C. 1988.** Pseudomonas, In laboratory guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. PP.60-80, Schaad NW (ed), APS, ST. Paul Minnesota.
- Holland, I.B., Schmitt, L., and Young, J. 2005.** Type 1 protein secretion in bacteria, the A B C transporter dependent pathway (Review). *Molecular Membrane Biology* **22**: 29-39.

- 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.
- Horton, D.E. 1987.** Potatoes in the Third World. *The Courier* **101**: 82 - 84.
- Howard, R.J., Garland, J.A., and Seaman, W.L. 1994.** Diseases and pests of vegetable crops in Canada. An illustrated compendium. The Canadian Phytopathological Society and Entomological Society of Canada, Ottawa.e-book: 1-554.
- Jafra S., Figura I., Hugouvieux-Cotte-Pattat N., Lojkowska E. 1999.** Expression of the *Erwinia chrysanthemi* pectinase genes *pelI*, *pelL* and *pelZ* during infection of potato tubers. *Molecular Plant–Microbe Interactions* **12**: 845–51.
- Kado C.I. 2006.** *Erwinia* and Related Genera. In: *The Prokaryotes, A Handbook of the Biology of Bacteria, Proteobacteria, Gamma Subclass*. 3rd Edition. Springer Verlag, Heidelberg: 443–450.
- Kamysz W., Krolicka A., Bogucka K., Ossowski T., Lukasiak J., Lojkowska E. 2005.** Antibacterial activity of synthetic peptides against plant pathogenic *Pectobacterium* species. *Journal of Phytopathology* **153**: 313-7.
- Kapsa J.S. 2008.** Important Threats in Potato Production and Integrated Pathogen/Pest Management. *Potato Research* **51**: 385–401.
- Kettani Halabi. M. 2014 :** Etude de la diversité de *Pectobacterium spp* et des effets induits par les lipopolysaccharides chez les plantes. Sciences agricoles. Université Paris Sud - Paris XI, 2012. Français.
- 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.
- Laurent, P., Buchon, L., Burini, J.F., and Orange, N. 2001.** Low pH and cold temperature combine to limit growth and pectate lyase production by psychrotrophic bacterium *Erwinia carotovora ssp. carotovora* MFCL0. *Biotechnology Letters* **23**: 753-756.
- Lautier, T., et Nasser, W. 2007.** The DNA nucleoid-associated protein Fis coordinates the expression on the main virulence genes in phytopathogenic bacterium *Erwinia chrysanthemi*. *Mol microbiol* in press.

- Lebecka, R. 2004.** Pathogenicity of *Erwinia carotovora* to potato tubers. Plant Breeding and Acclimatization Institute (IHAR), Młochów, Poland.
- Liao C.H. 1989.** Analysis of pectate lyases produced by soft rot bacteria associated with spoilage of vegetables. *Applied and Environmental Microbiology* **55**: 1677–83.
- Ma B., Hibbing M. E., Kim H.-S., Reedy R. M., Yedidia I., Breuer J., Breuer J., Glasner J. D., Perna N. T., Kelman A. & Charkowski A. O., 2007.** Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology* **97** (9): 1150–1163.
- Mahmoudi, E., Tabatabaei, B.E.S., and Venturi, V. 2011a.** Virulence Attenuation of *Pectobacterium carotovorum* Using N-Acyl-homoserine Lactone Degrading Bacteria Isolated from Potato Rhizosphere. *Plant Pathol. J.* **27**: 242-248.
- Mahmoudi, E., Ahmadi, A., Sayed-Tabatabaei, B.E., Ghobadi, C., Akhavan, A., Hasanzadeh, N., and Venturi, V. 2011b.** A novel AHL-degrading *rhizobacterium* quenches the virulence of *Pectobacterium atrosepticum* on potato plant. *Journal of Plant Pathology* **93**: 587-594.
- Marty, P. 1992.** La pomme de terre. BDPA-SCETAGRI, Paris, France : 18.
- McCarter-Zorner N.J., Harrison M.D., Franc G.D., Quinn C.E., Sells I.A., Graham D.C. 1985.** Soft rot *Erwinia* bacteria in the rhizosphere of weeds and crop plants in Colorado, United States and Scotland. *Journal of Applied Microbiology* **59**, 357-68.
- 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.
- Miller, S. I., Ernst, R. K., and Bader, M. W. 2005.** LPS, TLR4 and infectious disease diversity. *Nature Rev* **3**: 36-46.
- Moreau M., Feuilleley M.G.J., Orange N., Brisset J.L. 2005.** Lethal effect of the gliding arc discharges on *Erwinia* spp. *Journal of Applied Microbiology* **98**: 1039-46.
- Nachin L., Barras F. 2000.** External pH: An Environmental Signal That Helps to Rationalize pel Gene Duplication in *Erwinia chrysanthemi*. *Molecular Plant–Microbe Interactions* **13**: 882–886.
- Nunes Leite L., de Haan E., Krijger M., Kastelein P., van der Zouwen P., van den Bovenkamp G., Tebaldi N. & van der Wolf J. M. 2014.** First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in the Netherlands. *New Disease Reports* **29** : 24.

- OEPP/EPPO. 1982.** Fiches informatives sur les organismes de quarantaine No. 53, *Erwinia chrysanthemi*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **12** (1).
- Olivier C., D. E. Halseth, E. S. G. Mizubuti, et R. Loria. 1998.** Post-harvest application of organic and inorganic salts for suppression of silver scurf on potato tubers. *Plant Dis.* **82**: 213-217.
- Onwueme, I.C. 1978.** The Tropical Tuber Crops. Chichester, United Kingdom: 234.
- Palmer, A.G., Streng, E., and Blackwell, H.E. 2011.** Attenuation of Virulence in Pathogenic Bacteria Using Synthetic Quorum-Sensing Modulators under Native Conditions on Plant Hosts. *Acs Chemical Biology* **6**: 1348-1356.
- Pérombelon M.C.M. 1973.** Sites of contamination and numbers of *Erwinia carotovora* present in store seed potato stocks in Scotland. *Annals of Applied Biology* **74**: 59-65.
- Pérombelon M.C.M. 1992.** Potato blackleg epidemiology, host-pathogen interaction and control. *Netherlands Journal of Plant Pathology* **98**: 135-46.
- Pérombelon M.C.M. 2000.** Blackleg risk potential of seed potatoes determined by quantification by the causal agent and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*: a critical review. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **30**: 413-420.
- Pérombelon M.C.M., Hyman L.J. 1989.** Survival of soft rot coliforms, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *E. carotovora* subsp. *atroseptica* in soil in Scotland. *Journal of Applied Bacteriology* **66**: 95-106.
- 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 M.C.M., Salmond G. 1995.** Bacterial soft rot. In : Singh U.S., Singh R.P., et Kohmoto K., eds. Pathogenesis and host specificity in plant diseases. Histopathological, biochemical, genetic and molecular basis, Pergamon, United Kingdom **1**: 1-20.
- 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., and Kelman, A. 1980.** Ecology of the Soft Rot *Erwinias*. *Annual Review of Phytopathology* **18**: 361-387.
- Peters J., Sledz W., Bergervoet J.H.W., van der Wolf J.M. 2007.** An enrichment microsphere immunoassay for the detection of *Pectobacterium atrosepticum* and *Dickeya dianthicola* in potato tuber extracts. *European Journal of Plant Pathology* **117**: 97-107.

- Pitman A. R., Wright P. J., Galbraith M. D. & Harrow S. A., 2008.** Biochemical and genetic diversity of pectolytic enterobacteria causing soft rot disease of potatoes in New Zealand. *Australasian Plant Pathology* **37 (6)** : 559.
- Priou S., Jouan B. 1996.** Les maladies provoquées par les bactéries pathogènes du genre *Erwinia*. In: Rousselle P., Robert Y., Crosnier J.C. (eds.). *La pomme de terre. Institut National de la Recherche Agronomique*, Paris, France : 260–265.
- 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.
- Rensink, W., Hart, A., Liu, J., Ouyang, S., Zismann, V., and Buell, C.R. 2005.** Analyzing the potato abiotic stress transcriptome using expressed sequence tags. *Genome* **48**: 598- 605.
- Reverchon. S., and Nasser. W. 2013.** *Dickeya* ecology, environemet sensing and regulation of virulence programme. *Environ. Microbiol. Reports* **5**: 622-636.
- 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 : 344.
- Sandkvist, M. 2001.** Type II Secretion and Pathogenesis. *Infection and Immunity* **69**: 3523-3535.
- Sharga B. M., et G. D. Lyon. 1998.** *Bacillus subtilis* BS 107 as an antagonist of potato black leg and soft rot bacteria. *Can. J. Microbiol.* **44**: 777-783.
- Smadja B., Latour X., Trigui S., Burini J-F., Chevalier S., Orange N. 2003a.** Thermodependence of growth and enzymatic activities implicated in pathogenicity of two *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium carotovorum*) subspecies. *Canadian Journal of Microbiology*.
- Smadja B., Latour X., Faure D., Chevalier S., Dessaux Y., Orange N. 2003b.** Involvement of Nacylhomoserine lactones during the plant infection cycle by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Pectobacterium atrosepticum*). *Molecular Plant-Microbe Interactions*.
- Smadja, B., Latour, X., Faure, D., Chevalier, S., Dessaux, Y., and Orange, N. 2004** Involvement of N-acylhomoserine lactones throughout plant infection by *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* (*Pectobacterium atrosepticum*). *Molecular Plant-Microbe Interactions* **17**: 1269-1278.

- Spooner, D. M. and Knapp, S. 2013.** *Solanum tuberosum* - (anglais seulement). [12 December 2014].
- Spooner, D. M. and Salas, A. 2006.** Structure, biosystematics, and genetic resources: 1-39 in J. Gopal, S. M. P. Khurana, eds. Handbook of potato production, improvement and postharvest management. Food Products Press, Binghamton, NY.
- Stead D. 1999.** Bacterial diseases of potato: relevance to in vitro potato seed production. *Potato Research* **42**: 449-456.
- Stevenson W.A., Loria R., Franc G.D., Weingartner D.P. 2001.** Compendium of potato diseases. American Phytopathological Society. 2e éd. St-Paul, Minnesota: 106.
- Storey R. J. M et H. V. Davies., 1992.** Tuber quality: 507- 569. The potato Crop. Paul Harris (éd). Chapman and Hall. Londres.
- Struik, P. C. 2007.** Above-ground and below-ground plant development: 219-236 in D. Vreugdenhil, J. Bradshaw, C. Gebhardt, F. Govers, D. K. L. Mackerron, M. A. Taylor, H. A. Ross, eds. Potato biology and biotechnology: Advances and perspectives. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Terta M., Kettani-Halabi M., Ibenyassine K., Tran D., Meimoun P., M'Hand R.A., El-Maarouf-Bouteau H., Val F., Ennaji M.M., Bouteau F. 2010.** Arabidopsis thaliana cells: a model to evaluate the virulence of *P. carotovorum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **23** : 139–143.
- Togbé C.E. 2007.** Etude des facteurs écologiques (température, humidité relative) influençant le développement de la pourriture molle sur tubercule de pomme de terre. Mémoire : Master Complémentaire International en Protection des Cultures Tropicales et Subtropicales. Université catholique de Louvain (Belgique) : 61.
- Toth, I.K., Bell, K.S., Holeva, M.C., and Birch, P.R.J. 2003a.** Soft rot *Erwinia*: from genes to genomes. *Molecular Plant Pathology* **4**: 17-30.
- Toth, I.K., Sullivan, L., Brierley, J.L., Avrova, A.O., Hyman, L.J., Holeva, M., Broadfoot, L., Perombelon, M.C.M., and McNicol, J. 2003b.** Relationship between potato seed tuber contamination by *Erwinia carotovora* ssp *atroseptica*, blackleg disease development and progeny tuber contamination. *Plant Pathology* **52**: 119-126.
- Toth, I.K., and Birch, P.R.J. 2005.** Rotting softly and stealthily. *Current Opinion in Plant Biology* **8**: 424-429.

- Toth I.K., van der Wolf J.M., Saddler G., Lojkowska E., Hélias V., Pirhonen M., Tsrör (Lahkim) L., Elphinstone J.G. 2011.** *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology* **60**: 385–399.
- Tweddell R.J., Boulanger R., Arul J. 2003.** Effect of chlorine atmospheres on sprouting and development of dry rot, soft rot and silver scurf on potato tubers. *Postharvest Biology and Technology* **28**: 445-454.
- Van der Merwe J. J., Coutinho T. A., Korsten L. & van der Waals J. E., 2010.** *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg on potatoes in South Africa. *European Journal of Plant Pathology* **126 (2)**: 175–185.
- Van der Wolf J., Speksnijder A., Velvis H., Van der Haar J., Van Doorn J. 2007.** Why is *Erwinia chrysanthemi* (*Dickeya* sp.) taking over?—The ecology of a blackleg pathogen. In: Hannukkala A, Segerstedt M (eds) *New and old pathogens of potato in changing climate. MTT Agrifood Research Working papers*: 30.
- Van der Wolf J.M., De Boer S.H. 2007.** Bacterial pathogens of potato. In: Vreugdenhil D (Ed.), *Potato biology and biotechnology. Advances and Perspectives*: 595-619.
- Van Vuurde J.W.L., De Vries P.H.M., Roozen N.J.M. 1994.** Application of immunofluorescence colonystaining (IFC) for monitoring populations of *Erwinia* spp. on potato tubers, in surface water and in cattle manure slurry. In: Lemattre M, Freigoun S, Rudolph K, Swings JG, eds. *Proceedings of the 8th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Paris* (Abstract).
- Waleron M., Waleron K., Lojkowska E., 2013.** Occurrence of *Pectobacterium wasabiae* in potato field samples. *European Journal of Plant Pathology* **137 (1)**: 149–158.
- Whitehead, N.A., Barnard, A.M.L., Slater, H., Simpson, N.J.L., and Salmond, G.P.C. 2001.** Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* **25**:365- 404.
- Yaganza E.S., Rioux D., Simard M., Arul J., Tweddell R.J. 2004.** Ultrastructural alterations of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* caused by treatment with aluminum chloride and sodium metabisulfite. *Applied and Environmental Microbiology* **70**: 6800-8.
- 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, F. Université Laval, **3**:56-63.

Annexes

Milieu LPGA : Extrait de levure-peptone bactériologique-glucose-agar (Hildebrand *et al.*, 1988).

Extrait de levure	5g/l
Bactopeptone	5g/l
Glucose	10g/l
Agar	15g/l
H ₂ O distillée	1l

pH=7-7,2

Le milieu est stérilisé à l'autoclave à une température de 120°C pendant 20 minutes.

Tableau 2: Réponse des cubes de pomme de terre à l'inoculation *in vitro* des souches après trois jours d'incubation à 28°C.

	+	-
Les isolats bactériens	Hav5, S25, S415, S323', SA6, SA5', SA7, Har12, Har4, S221, S331', S334, S322.	SA3, SA4, S21, S22, S223, S325, S327', S332, S411, S413, S414, S421, S426, SA2, SA22, SA5, SA8, SA41, SA62, S22M, S224, S312, S31M, S3122, S314, S32M, S326, S326', S327, S333, S337, S338, S412, S423, SA2', S224, S312, S423, SA2, S23, S312', S324, S331, S332', S336, S422.

(-) : réponse négative.

(+) : réponse positive (l'apparition et le développement des symptômes de pourriture molle).

Tableau 3: Le pourcentage (%) de la quantité de chair de pomme de terre pourrie (**Qncp**) observés sur les disques de pomme de terre inoculée par les 13 souches après trois jours d'incubation à 28°C.

Isolats	Qncp ₁ (%)	Qncp ₂ (%)	Qncp ₃ (%)	Qncp _m (%)
S25	0,23	0,35	0,28	0,29
Hav5	0,74	0,79	0,86	0,80
S323'	0,99	0,99	0,99	0,99
SA7	0,99	0,71	0,81	0,84
S334	0,24	0,41	0,62	0,42
Har12	0,75	0,89	0,52	0,72
SA6	0,99	0,99	0,99	0,99
Har4	0,99	0,99	0,99	0,99
S221	0,84	0,9	0,9	0,88
S415	0,35	0,56	0	0,30
S331'	0,96	0,99	0,99	0,98
S322	0,59	0,82	0,58	0,66
SA5'	0	0	0,25	0,08

Exemple de calcul : $Qncp (\%) = Qcp - Qe$

$$Qcp_1(\%) = \frac{P_1 - P_2}{P_1} = \frac{5,56 - 4,20}{5,56} = 0,24\%$$

$$Qe_1(\%) = \frac{P'_1 - P'_2}{P'_1} = \frac{5,65 - 5,55}{5,65} = 0,01\%$$

Qncp₁ = 0,24 - 0,01 = 0,23%. (Le pourcentage de la quantité de chair de pomme de terre pourrie de la répétition 1)

Tableau 4: Le pourcentage (%) de la quantité de chair de pomme de terre pourrie (**Qncp**) observés sur les disques de pomme de terre inoculée et incubé à trois températures différents (10, 22 et 34°C).

Isolats	Qncp% (T= 10°C)	Qncp%(T =22°C)	Qncp%(T= 34°C)
S25	0	0,07	0,93
Hav5	0,07	0,40	0,95
S323'	0	0,07	0,90
SA7	0,07	0,38	0,98
S334	0	0	0,65
Har12	0,04	0,44	0,94
SA6	0,13	0,15	0,98
Har4	0	0,15	0,97
S221	0,03	0,46	0,98
S415	0	0,03	0,57
S331'	0,17	0,53	0,98
S322	0,10	0,37	0,94
SA5'	0	0	0,98

Tableau 5 : Le pourcentage (%) de la quantité de chair de pomme de terre pourrie (**Qncp**) observés sur les disques de pomme de terre inoculée par les 13 souches et incubé à 28°C pendant trois jours aux différentes humidités relatives (50, 86 et 100%).

Isolats	Qncp% (aw: 50%)	Qncp% (aw:86%)	Qncp%(aw:100%)
S25	0,47	0,34	0,41
Hav5	0,59	0,82	0,54
S323'	0,62	0,65	0,60
SA7	0,61	0,82	0,44
S334	0,33	0,22	0,21
Har12	0,39	0,44	0,42
SA6	0,56	0,72	0,46
Har4	0,59	0,37	0,23
S221	0,57	0,59	0,65
S415	0,39	0,30	0,10
S331'	0,92	0,96	0,87
S322	0,39	0,50	0,58
SA5'	0,43	0,57	0,07