



REPUBLIC 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

مخبر حماية و تـمـين المـوارد الـاقـروبيـولوجية
Laboratoire de Protection et de Valorisation des Ressources Agrobiologiques
LPVRAB

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention
Du diplôme de Master 2
Spécialité : Biotechnologie microbienne

Thème

**Etude de l'importance de l'inoculum primaire bactérien dans le
développement de la pourriture molle chez la pomme de terre**

Présenté par :

BENARBIA Meriem

ELMOKREFI Karima

Soutenue devant le jury composé de :

MOHAMED MAHMOUD F.	MCB	USDB1	Présidente de jury
KRIMI Z.	Professeur	USDB1	Promotrice
MAROK-ALIM D.	M.A.A	UDBKM	Co-Promotrice
DJELLOUT H.	Doctorante	USDB1	Examinatrice

Année universitaire

2017/2018

Remerciements

C'est avec beaucoup de reconnaissance et une émotion certaine que nous rédigeons ces quelques lignes. Nous ne saurais citer toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont permis la réalisation de ce travail. Ces remerciements vous sont adressés à tous, et tout particulièrement à :

Professeur **KRIMI** qui a accepté de nous confier ce travail et veiller à son élaboration. Nous garderons toujours les meilleurs souvenirs de votre immense savoir et de votre sens de devoir. C'est avec un grand honneur et une extrême fierté que nous vous adressons nos remerciements au qu'ils nous soient permis de vous exprimer ici notre profond respect et notre intense admiration pour vos qualités humaines exceptionnelles nous vous dédions ce travail.

Nos vifs remerciements et respects s'adressent à nos Co-promotrice **Mme MAROK-ALIM N.** pour nous avoir encadré et orienter pour la finalisation du présent travail ses conseils toujours pertinents, et sa mise à notre disposition.

Nous tenons à remercier **Mme MOHAMED MAHMOUD.F.** de nous avoir honoré en acceptant d'être présidente du jury. Aussi, nous exprimons nos vifs remerciements à **Mme DJELLOUT H.** pour le temps consacré à l'examen ce modeste travail.

Nos remerciements sont également adressés à **Mme AMMAM S.** ingénieur du laboratoire de phytobactériologie pour ses conseils et ses encouragements.

En fin, un remerciement spécial à nos chères collègues de laboratoire pour son soutien moral, sa solidarité et son aide, sans oublier de remercier aussi nos camarades et nos amies de la promotion **Biotechnologie Microbienne** (2017/2018).

Merci



Dédicaces

A mes très chers parents qui ont sacrifié leur vie pour mon instruction, ma réussite et mon bien être aucun mot et aucune dédicace ne peuvent exprimer mon amour, mon respect et mon affection.

Je vous offre ce modeste travail, en témoignage de tous les sacrifices, le soutien et les encouragements que vous m'avez accordé tout au long de mon chemin, Veuillez trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et vos sacrifices.

A ma sœur IMENE qui était toujours là pour moi en tant que sœur mais aussi en tant que ma meilleure amie, Il n'y a pas assez de place pour exprimer ce que je ressens pour toi, sans oublier le petit prince ADEM, l'adorable de la famille et le nouveau né TADJ ELDDINE, tu est né au cours de ces belles moments.

A mes frères MUSTAPHA et MEROUANE, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.

A mes chères amies HOURIA et NOUR EL HOUDA

*A toute ma famille
A tous mes professeurs
A tous mes amies
A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin
Je dédie cet humble travail*

Meriem



Dédicaces

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
L'amour, le respect, la reconnaissance...
Aussi, c'est tout simplement que
Je dédie ce travail*

A mes très chers parents Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours, Votre générosité et votre bonté ont toujours été un exemple pour moi. Trouvez en ce travail le fruit de votre dévouement et l'expression de ma gratitude et mon profond amour. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A mes sœurs tes encouragements et mes conseils m'ont beaucoup aidé, ces quelques lignes ne sauront exprimer toute l'affection et l'amour que je ressens. Puisse Dieu de vous donner la santé, le bonheur, le succès et la prospérité.

A mes frères En témoignage de mon profond amour : Je te souhaite une belle vie.

A mes très chers amis : Je les remercie pour leur soutien. Je leurs souhaite bonheur, réussite et prospérité.

Je dédie ce travail à : toute ma famille et Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Karima

Importance d'inoculum primaire dans le développement de la pourriture molle de la pomme de terre

Résumé

Cette étude a été effectuée afin d'étudier l'importance de la source de l'inoculum dans le développement des maladies liées aux *Pectobacterium* sur les tubercules de la pomme de terre *in vitro* et par la suite évaluer leur pathogénicité *in planta*.

Le test pouvoir pathogène *in vitro* a été effectué pour deux concentrations d'inoculum, la première à 10^2 CFU/ml et la deuxième à 10^6 CFU/ml. Ces deux concentrations bactériennes ont été testé sur des disques de la pomme de terre, les résultats montrent que la totalité des 12 souches sélectionnées ont répondu positivement mais de façon variable, ce qui engendre l'apparition des symptômes de pourriture molle.

le test du pouvoir pathogène *in planta* a été réalisé sur la tomate et quatre variétés de pomme de terre cultivées en Algérie, montre que l'ensemble des variétés ont répondu négativement à la faible concentration d'inoculum de 10^2 CFU/ml.

Cependant, ce même test a été réalisé à une forte concentration d'inoculum de 10^6 CFU/ml présente différents niveaux de réponses, variable selon la variété de pomme de terre inoculée. En effet, sur un totale de 12 souches de *Pectobacterium* like et quatre variétés de pomme de terre testées, nous avons constaté que les variétés Spunta et Bartina ont répondu positivement au test avec des symptômes variables de jaunissement, flétrissements, brunissement et nécroses marginales du feuillage. Tandis que pour les variétés Désiré et Fabula, aucun symptôme n'a été observé.

Concernant le test du pouvoir pathogène sur tomate, la totalité des plants de tomate ont réagis positivement à l'inoculation ce qui induit l'apparition des symptômes de jaunissement, brunissement des feuilles et flétrissement des plants.

La réalisation du test d'hypersensibilité sur le tabac nous a permis de confirmer la virulence de nos souches bactériennes sélectionnées pour les tests antérieurs.

Mots clés : *bactéries pectinolytiques, inoculum bactérien, pouvoir pathogène.*

Importance of primary inoculum in the development of soft rot potato

Abstract

This study was conducted to investigate the importance of the source of the inoculum in the development of *Pectobacterium*-related diseases on potato tubers *in vitro* and subsequently to evaluate their pathogenicity *in planta*.

The test of pathogenicity *in vitro* was performed for two concentrations of inoculum, the first at 10^2 CFU / ml and the second at 10^6 CFU / ml. These two bacterial concentrations were tested on potato disks, the results show that all 12 selected strains responded positively but variably, which causes the appearance of symptoms of soft rot.

The test of pathogenicity *in planta* performed on tomato and four potato varieties grown in Algeria shows that all varieties responded negatively to the low inoculum concentration of 10^2 CFU / ml.

However, this same test carried out at a high concentration of inoculum of 10^6 CFU / ml has different levels of responses, variable according to the variety of inoculated potato. In fact, out of a total of 12 strains of *Pectobacterium like* and four potato varieties tested, we found that the Spunta and Bartina varieties responded positively to the test with variable symptoms of yellowing, wilting, browning and marginal necrosis of the foliage. While for Désiré and Fabula varieties, no symptoms were observed.

Regarding the tomato pathogenicity test, all tomato plants reacted positively to inoculation, which led to the appearance of symptoms of yellowing, browning of leaves and wilting of plants.

The realization of the hypersensitivity test on tobacco allowed us to confirm the virulence of our bacterial strains selected for the previous tests.

Key words: *pectinolytic bacteria, bacterial inoculum, pathogenic ability, potato.*

أهمية اللقاح الأولي في تطوير التعفن اللين للبطاطا

ملخص

أجريت هذه الدراسة للتحقق من أهمية مصدر اللقاح في تطوير الأمراض المرتبطة بـ *Pectobacterium* على درنات البطاطا في المختبر ثم تقييم شراستها في النبات .

تم إجراء اختبار القدرة المرضية في المختبر لتركيزين من اللقاح، الأول 10^2 CFU/ml والثاني 10^6 CFU/ml. تم اختبار هذين التركيزين البكتيريين على أقراص البطاطا ، حيث أظهرت النتائج أن جميع السلالات البكتيرية المختارة الـ 12 قد استجابت بشكل إيجابي ولكن متغير ، مما يسبب ظهور أعراض التعفن اللين.

يبين اختبار القدرة المرضية الذي تم إجراؤه على الطماطم وأربعة أصناف من البطاطا التي نمت في الجزائر أن جميع الأصناف استجابت سلبيا للتركيز المنخفض للقاح (10^2 CFU/ml).

ومع ذلك ، هذا الاختبار نفسه نفذ بتركيز عالي من اللقاح (10^6 CFU/ml) و اظهر مستويات مختلفة من الاستجابات ، متغيرة وفقا لصنف البطاطا المحقونة. في الواقع، من أصل 12 سلالة من *Pectobacterium like* وأربعة أصناف من البطاطا التي تم اختبارها ، وجدنا أن أصناف Spunta و Bartina استجابت بشكل إيجابي للاختبار مع وجود أعراض متغيرة للإصفرار ، الذبول ، التسمم البني والنخر الهامشي للأوراق . بينما بالنسبة للأصناف Désiré و Fabula ، لم تلاحظ أي أعراض.

فيما يتعلق باختبار الطماطم المرضية ، تفاعلت جميع نباتات الطماطم بإيجابية مع التلقيح ، مما أدى إلى ظهور أعراض الإصفرار ،اسمرار الأوراق وذبول النباتات.

سمح لنا اختبار رد فعل فرط الحساسية على التبغ بتأكيد الحدة المرضية لسلالاتنا البكتيرية التي تم اختيارها للاختبارات السابقة.

الكلمات المفتاحية: بكتريا *pectinolytique* ، اللقاح البكتيري ، القدرة التمريضية، البطاطا .

Table des matières

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1	Généralité sur la pomme de terre	3
1.1	La production de pomme de terre	4
1.1.1	A l'échelle internationale.....	4
1.1.2	A l'échelle local.....	4
1.2	Les maladies de la pomme de terre transmises par semence	4
1.2.1	Les maladies bactériennes	4
1.2.2	Les maladies fongiques	5
1.2.3	Les maladies virales.....	6
2	Généralités sur les <i>Pectobacterium</i> et <i>Dickeya</i>	7
2.1	Description.....	7
2.2	Taxonomie	7
2.2.1	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	7
2.2.2	<i>Dickeya dadantii</i>	8
2.3	Maladies associées aux espèces pectinolytiques.....	8
2.3.1	Symptomatologie.....	9
2.4	Epidémiologie des maladies causées par <i>Pectobacterium</i> et <i>Dickeya</i>	10
2.5	Facteurs de développement des maladies	11
2.5.1	Facteurs biotiques	11

2.5.2	Facteurs abiotiques	11
2.6	Sources d'inoculum et facteurs de contamination	12
2.6.1	Sources d'inoculum	12
2.6.2	Les facteurs de contamination	12
2.7	Gamme d'hôtes	14
2.8	Cycle de la maladie	15
2.9	Pouvoir pathogène des <i>Pectobacterium</i>	15
2.9.1	Enzymes pectinolytiques	16
2.9.2	Enzymes non pectinolytiques	17
2.10	Régulation des gènes de virulences chez <i>Pectobacterium</i> sp par le quorum sensing.....	17
2.11	Les déterminants du pouvoir pathogène bactérien	18
2.11.1	Mobilité flagellaire	18
2.11.2	Lipopolysaccharides (LPS)	18
2.11.3	Sidérophores	19
2.11.4	Les Systèmes de sécrétion	19

Chapitre II: Matériels et méthodes

1	Matériels.....	22
1.1	Matériels biologiques.....	22
1.2	Matériel végétal	22
2	Méthodes	24
2.1	La purification des souches bactériennes.....	24
2.2	Concentration de l'inoculum bactérien.....	24
2.3	Calcul de la densité optique correspondant à la quantité d'inoculum	24
2.4	Test du pouvoir pathogène <i>in vitro</i>	25
2.4.1	Désinfection de Matériel végétal.....	25
2.4.2	Dépôt de l'inoculum dans les disques de pomme de terre	26
2.4.3	Quantification des symptômes.....	27
2.4.4	Analyses statistiques des données	29
2.5	Préparation du test <i>in planta</i>	29

2.5.1	Sur la pomme de terre.....	29
2.5.2	Sur la tomate.....	30
2.5.3	Le test d'hypersensibilité.....	31

Chapitre III : Résultats et Interprétations

1	Test du pouvoir pathogène <i>In vitro</i>	32
1.1	Analyse statistiques des résultats	35
1.1.1	Le test de Shapiro et Wilk	35
1.1.2	Les résultats de l'analyse de la Variance.....	35
1.1.3	Test de Newman Keuls (à $\alpha = 5\%$).....	39
1.2	Réponse de la gamme d'hôtes testées	42
1.2.1	Sur Carotte :	43
1.2.2	Sur Fenouil :	43
1.2.3	Sur Oignon :	44
2	Test du pouvoir pathogène <i>In planta</i>	44
2.1	Faible concentration d'inoculum (10^2 CFU/ml):	44
2.2	Forte concentration d'inoculum (10^6 CFU/ml) :	46
2.2.1	Sur la variété Spunta :	46
2.2.2	Sur la variété Bartina :	47
2.2.3	Sur les variétés Désiré et Fabula :	48
2.2.4	Sur la tomate :	49
2.3	Réponse de la réaction d'hypersensibilité.....	50

Chapitre IV : Discussion des résultats

1	Le pouvoir pathogène et virulence des souches	52
1.1	<i>In vitro</i>	52
1.2	<i>In planta</i>	54
2	Réaction d'hypersensibilité	56

Conclusion et perspectives	58
---	----

Liste des références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

3- OC6-HSL	N-3-Oxo-Hexanoyl-L-Homoserine-Lactone
3-OC8-HSL	N-3-Oxo-Octanoyl-L-Homoserine-Lactone
AI-2	Auto-inducteur de type 2
ANOVA	Analysis of variance (Analyse de la variance)
Cel	Cellulases
CFU	Colony forming unit
Cm	Centimètre
D O	Densité optique
<i>E .Chr</i>	<i>Erwinia chrysanthemi</i>
<i>E.C.A</i>	<i>Erwinia carotovora subsp atroseptica</i>
<i>E.C.C</i>	<i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i>
EDS	Eau distillée stérile
<i>Et al</i>	Et les autres ou collaborateur
ExpR1	récepteur d'exoprotéine1
ExpR2	récepteur d'exoprotéine2
Fe²⁺	Fer ferreux
Fe³⁺	Fer ferrique
HR	Hypersensitive Reaction
Hrp	Hypersensitive Reaction And Pathogenicity
LB	Luria Bertani
LPS	Lipopolysaccharides
NAHL	N-Acyl Homoserine Lactone
Nlps	Nep1-Like Proteins
OEPP	Organisation Européenne De La Protection Des Plantes
p	Probabilité
<i>PA</i>	<i>Pectobacterium atrosepticum</i>
<i>PCC</i>	<i>Pectobacterium carotovora subsp carotovora</i>
PCWDE	<i>Plant Cell Wall Degrading Enzymes</i> (Enzymes De Dégradations Des Parois Cellulaire De La Plante)
Peh	Pectate hydrolases

PEL	Pectate lyase
<i>PemA</i>	Pectines méthylestérasés
PH	Potentiel Hydrogène
PL	Pectines Lyases
PLRV	<i>Potato Leaf Roll Virus</i>
PVY	<i>Potato Virus Y</i>
Qcp	Quantité de la chair perdue
Qe	Quantité d'eau Perdue
Qncp	Quantité nette de la chair perdue
QS	Quorum-sensing
RsmA	Regulator of secondary metabolites
SEM	Erreur Standard De La Moyenne
<i>Sp</i>	Sous espèces
<i>Spp</i>	Toutes les espèces
SST3	Type III Secretion System
SSTI	Type I Secretion System
SSTII	Type II Secretion System
<i>Subsp</i>	sous espèces
T	Température
UV	Ultraviolet
VgrG	glycine de Valine répète la Protéine G

Liste des figures

Figure 01 : Description général d'une plante de pomme de terre.....	3
Figure 02 : Symptômes 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.....	9
Figure 03 : Tubercules de pommes de terre infectées par <i>Pectobacterium</i> spp. ou <i>Dickeya</i> spp. après la récolte.....	10
Figure 04 : Symptômes caractéristiques de la maladie de la pourriture molle sur différents végétaux infectés par les <i>Dickeya</i> spp.....	15
Figure 05 : Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne	15
Figure 06 : Structure du Lipopolysaccharides.....	19
Figure 07 : Résumé des systèmes connus de la sécrétion bactérienne.....	21
Figure 08 : Les semences de pomme de terre des quatres variétés utilisées pour les tests <i>in planta</i>	23
Figure 09 : La gamme d'hôtes testées.....	23
Figure 10 : Quelques étapes de purification.....	24
Figure 11 : L'appareil de spectrophotométrie « UV-1601 ».....	25
Figure 12 : Les étapes de désinfection de la pomme de terre, les carottes , l'oignon , le fenouil réalisées sous hotte à flux laminaire.....	26
Figure 13 : Les étapes de dépôt de l'inoculum dans les disques de pomme de terre.....	27
Figure 14 : Les étapes de la pesé des disques de pomme de terre.....	28
Figure 15 : Préparation des disques de carotte, l'oignon, et le fenouil pour le test du pouvoir pathogène <i>in vitro</i>	28
Figure 16 : La réalisation du test du pouvoir pathogène par l' inoculation du plant de pomme de terre.....	30

Figure 17 : La réalisation du test du pouvoir pathogène par inoculation du plant de Tomate.....	30
Figure 18 : La réalisation du test de la réaction d'hypersensibilité.....	31
Figure 19 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre (variété Spunta) inoculée après trois jours d'incubation à 28°C (faible concentration bactérienne 0.1CFU).....	33
Figure 20 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre (variété Spunta) inoculée après trois jours d'incubation à 28°C (forte concentration bactérienne 0.25 CFU).....	34
Figure 21 : La variation de la QNCP en fonction des isolats de <i>Pectobacterium</i> à faible quantité d'inoculum.....	36
Figure 22 : La variation de la QNCP en fonction des isolats de <i>Pectobacterium</i> à forte quantité d'inoculum.....	37
Figure 23 : Comparaison de la variation de la QNCP en fonction des isolats de <i>Pectobacterium</i> deux quantité d'inoculum testés.....	38
Figure 24 : Graphe récapitulatif du test de Newman-Keuls.....	42
Figure 25 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de carotte inoculée après trois jours d'incubation à 28°C.....	43
Figure 26 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de fenouil inoculée après trois jours d'incubation à 28°C.....	43
Figure 27 : Symptômes de pourriture molle sur les disques d'oignon inoculée après trois jours d'incubation à 28°C.....	44
Figure 28 : La réponse des plants de pomme de terre des variétés Spunta(A), Bartina(B), Désiré(C) et Fabula(D) au test du pouvoir pathogène après 15 jours d'observation.....	45
Figure 29 : Les différentes réponses des plants de pomme de terre de la variété Spunta au test du pouvoir pathogène après 15 jours d'inoculation.....	46
Figure 30 : La réponse des plants de la variété de pomme de terre Bartina au test du pouvoir pathogène après 15 jours d'inoculation.....	47

Figure 31 : La réponse des plants des deux variétés de pomme de terre Désiré et Fabula au test du pouvoir pathogène après 15 jours d'inoculation	48
Figure 32 : La réponse des plants de tomates après 15 jours d'inoculation	49
Figure 33 : Les résultats de la réaction d'hypersensibilité causée par les isolats bactériens testés.....	50

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principales maladies bactériennes affectant la pomme de terre aux différents stades de production.....	05
Tableau 02 : Modèle ANOVA appliqué aux isolats de <i>Pectobacterium</i> . sur la quantité nette de la chair perdue des disques de pomme de terre inoculés.....	35
Tableau 03 : Facteur concentration de Test de Newman Keuls à risque d'erreur $\alpha = 5\%$ pour la collection de nos isolats bactériennes.....	39
Tableau 04 : Les groupes de facteur bactérie de Test de Newman Keuls à risque d'erreur $\alpha = 5\%$ pour les souches bactériennes testés.....	40
Tableau 05 : Les groupes de facteur interaction (F. concentration x F. bactérie) de Test de Newman Keuls à risque d'erreur $\alpha = 5\%$ pour l'ensemble des isolats bactériennes testés.....	41
Tableau 06 : Résultats du test du pouvoir pathogène inoculée par les isolats bactériens testés sur la gammes d'hôtes (Spunta, Bartina, Fabula/ Désiré, Tomate) et résultats de la réaction d'hypersensibilité sur tabac (à concentration d'inoculum = 10^6 CFU/ml).....	51

Introduction générale

Introduction

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est cultivée dans de nombreux pays et représente l'une des denrées alimentaires de base et l'un des légumes les plus consommés dans le monde avec une moyenne de 60Kg/ personne/an. Elle est classée, en termes de production, en quatrième position derrière le maïs, le riz et le blé (Bessadat, 2014).

En Algérie, la pomme de terre représente l'une des principales cultures maraîchères. Elle occupe 25 à 30 % des superficies réservées aux maraîchages. Cependant, la filière pomme de terre au niveau national est freinée par la disponibilité des semences (plants) et par leur prix très élevé (Nouad, 2008).

Dans les exploitations maraichères, les règles relatives au calendrier cultural, aux travaux d'entretien qui devraient être appliquées ne sont plus respectées à cause des moyens humains et matériels qui sont limités (Snoussi, 2010). Ceci rend la culture pomme de terre à l'instar des autres végétaux comme objet d'attaques par plusieurs ravageurs tels que les pucerons, les thrips, la teigne et la mineuse et sensible à différents pathogènes bactériens, viraux ou fongiques (Arora et Khurana, 2004).

Les infections bactériennes dues aux bactéries des genres *Pectobacterium* et *Dickeya* causent des dégâts de plus en plus importants au champ et lors de la conservation des tubercules en provoquant la dégradation des tissus végétaux. Ceci est remarquable par l'augmentation des maladies dont ; la pourriture des tiges appelées « jambes noires » et celle des tubercules nommées « pourritures molles ». En effet, les symptômes de la jambe noire varient d'une pourriture sèche à humide des tiges selon les conditions climatiques. Alors que la pourriture molle est considérée comme étant la plus importante maladie bactérienne affectant les tubercules de la pomme de terre en végétation et en conservation à l'échelle mondiale. (Helias, 2008 ; Sharga et Lyon, 1998).

Ces bactéries pectinolytiques causent aussi d'importants dégâts sur d'autres hôtes tels que le concombre, le chou-fleur, la tomate, le brocoli, le piment et les carottes (Ladjouzi, 2007). Ces bactéries sont classées parmi les dix maladies phytopathogènes d'origine bactériennes les plus étudiés et les plus importants sur le plan économique (Mansfield *et al.*, 2012).

Ces bactéries envahissent les espaces intercellulaires de la plante et produisent des enzymes pectinolytiques. Ces dernières, en particulier les pectates lyases jouent un rôle clef dans le catabolisme des pectines, l'apparition des symptômes de macération et la libération du contenu cellulaire conduisant ainsi à une mort des tissus infectés.

Les bactéries pectinolytiques communiquent entre elles en utilisant un signal des molécules chimiques. Cette communication intercellulaire, appelée *quorum sensing* (QS) a été définie comme un mode de régulation de l'expression génique en fonction de la densité cellulaire (Fuqua *et al.*, 1994). Aujourd'hui, les fonctions connues comme régulées par QS sont très diverses : bioluminescence, production d'antibiotiques, formation de biofilms, nodulation, transfert conjugatif de plasmides, virulence. Chez de nombreuses bactéries pathogènes, la communication QS régule l'expression de fonctions liées à la virulence. C'est notamment le cas de *Pectobacterium carotovorum*, pathogène de la pomme de terre, dont la capacité à produire des enzymes de macération est régulée par QS.

Dans le cadre de l'étude de l'importance de la source de l'inoculum dans le développement des maladies liées aux *Pectobacterium*, le présent travail a pour objectif l'étude des points suivants :

- 1) L'étude du pouvoir pathogènes des souches appartenant aux *Pectobacterium* like *in vitro* à deux quantités d'inoculum à savoir 10^2 CFU/ml et 10^6 CFU/ml, sur quatre plantes hôtes, de familles botaniques différentes (*Solanacées*, *Ombellifères* et *liliacées*).
- 2) L'étude du pouvoir pathogène des souches virulentes *in planta* également à deux quantités d'inoculum à savoir 10^2 CFU/ml et 10^6 CFU/ml sur quatre variétés de pomme de terre cultivées en Algérie et une variété de tomate qui constitue aussi une plante hôte.
- 3) Réalisation du test d'hypersensibilité sur tabac, sur les souches testées afin de confirmer leurs pouvoir phytopathogènes ou pathogène.

Chapitre I :
Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1 Généralité sur la pomme de terre

Solanum tuberosum est à l'origine de l'Amérique du Sud appartenant 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 (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 est 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 tuberosum* (Linné., 1753).

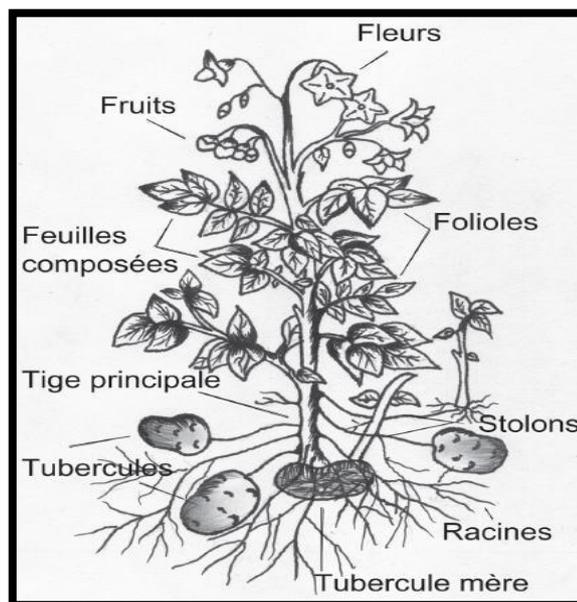


Figure 01 : Description général d'une plante de pomme de terre (Bruno et Bernard., 2009).

1.1 La production de pomme de terre

1.1.1 A l'échelle internationale

La pomme de terre est la 4^{ème} culture mondiale après le blé, le riz et le maïs. La Chine est le premier pays producteur mondial et produit autant que l'Union Européenne à 27 États (environ 20% des 330 millions de tonnes produites dans le monde). Quatre pays dépassent 40 tonnes/ha, à savoir le Pays-Bas, les USA, la France et l'Allemagne, tandis que le rendement moyen en Chine, Inde et Russie reste inférieur à 20 tonnes/ha. La France est le seul pays à dépasser les 2 millions de tonne/an pour une superficie d'environ 165 000 ha se positionnant comme premier exportateur mondial de pommes de terre (FAOSTAT., 2012). Ces statistiques expliquent les raisons pour lesquelles l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) a déclaré l'année 2008 "Année internationale de la pomme de terre (IYP)". En dépit de son importance stratégique dans la sécurité alimentaire et la réduction de la pauvreté, la culture de la pomme de terre demeure sujette à de nombreuses maladies conduisant à des pertes économiques considérables en agriculture.

1.1.2 A l'échelle local

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

1.2 Les maladies de la pomme de terre transmises par semence

1.2.1 Les maladies bactériennes

Les microorganismes et notamment les bactéries sont à l'origine de multiples graves maladies de la pomme de terre induisant ainsi des pertes énormes en cette denrée alimentaire se reflétant remarquablement sur l'économie du monde entier. Le **tableau 01** résume les principales maladies bactériennes affectant la pomme de terre aux différents stades de production (Massaoudi, Y., 2015)..

Tableau 01 : Principales maladies bactériennes affectant la pomme de terre aux différents stades de production (Massaoudi, Y., 2015).

Maladies	Agent phytopathogène causal	Symptômes	Références
Flétrissement bactérien	<i>Clavibacter michiganensis</i> sp. <i>Sepedonicus</i> : -Bactérie gram positif en bâtonnets, non mobile. Sa température optimale de croissance est comprise entre 18-25°C. -Sur gélose, les colonies sont blanches, minces, translucides et luisantes.	-Leur développement dépend des conditions générales de culture, et sont soit à peine visibles ou caractéristiques. -La pourriture des tissus de l'anneau vasculaire du tubercule est un symptôme de la présence de la maladie.	(De Boer, S.H, et Cann., 1989) (Hayward, et Waterston., 1964).
Gale commune	<i>Streptomyces scabies</i> : -Actinomycète vivant dans le sol sous forme végétative ou de spores. C'est un parasite opportuniste qui disparaît dès l'apparition des symptômes.	-C'est une maladie se caractérisant par des lésions rondes, irrégulières et brunes mesurant moins de 1cm de diamètre et apparaissant à la surface des tubercules. L'infection peut se propager jusqu'à recouvrir le tubercule	(Adams, M.J., et Hide, G.A., 1981). (Faucher et al., 1993).
Jambe noire	<i>E. atroseptica</i> : -Bactérie gram négatif en bâtonnets, trouvée soit isolée, en paires ou en chaînettes. -Mobile à flagelles péritriches et anaérobie facultatifs.	-Les 1 ^{ers} signes de la maladie apparaissent à la floraison, lorsque les tiges flétrissent. Ce flétrissement est particulièrement visible en temps très chaud et peut être accompagné d'un jaunissement des feuilles.	(Bradbury, J.F., 1977). (Molina, J.J, et Harrison, M.D., 1980).
Pourriture molle	<i>E.c.c</i> , <i>E.c.a</i> et <i>E.chr</i> : mêmes caractéristiques que <i>E.c.a</i> . Les plus fréquentes sont <i>E.c.c</i> et <i>E.c.a</i> . Sur gélose nutritive la croissance d' <i>E.c.c</i> s'arrête à des T > 36°C.	-Seuls les tubercules montrent des symptômes, ils sont infectés par les lenticelles induisant un affaissement des tissus et une formation de lésions brunes et déprimées pouvant atteindre 1cm de diamètre.	(Bradbury, J.F, 1977). (Elphinstone, J. G, et M.C.M, Pérombelon., 1986).

1.2.2 Les maladies fongiques

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

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

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

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

1.2.3 Les maladies virales

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

Parmi ces virus, les plus connus sur la culture de pomme de terre sont le virus Y de la pomme de terre (PVY ou *Potato virus Y*), les symptômes allant d'une mosaïque légère à sévère avec des nécroses foliaires et finalement la mort des plants infectés (Stevenson et al., 2001). Le virus de l'enroulement de la pomme de terre (*Potato Leaf Roll Virus*), les symptômes de la maladie se traduisent par une chlorose ou un enroulement des folioles, ou alors par un nanisme des plants quand c'est le tubercule qui est infecté. Du point de vue économique, le PLRV est considéré comme l'un des virus les plus dommageables en culture de pomme de terre (Stevenson et al., 2001).

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

2 Généralités sur les *Pectobacterium* et *Dickeya*

Les genres *Pectobacterium* et *Dickeya sp.* (anciennement appelés *Erwiniae* pectinolytiques), regroupent l'ensemble des bactéries, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, phylum des *protobactéries*. Ces espèces sont responsables de pourritures molles, nécrose et flétrissement sur de nombreuses cultures maraichères (Winslow *et al.*, 1917 ; Muraschi *et al.*, 1965 ; Lautier., 2007).

2.1 Description

Les espèces appartenant aux genres *Pectobacterium* et *Dickeya sp.* anciennement appelés *Erwinia sp.* sont des bactéries phytopathogènes à activité pectinolytiques, en forme de bâtonnets. (Hauben et Swings, 2005 ; Czajkowski., 2012).

Les *Erwiniae* sont des bacilles à Gram- d'une taille de l'ordre de 0,5-1µm par 1-3µm, anaérobies facultatifs, non sporogènes, mobiles via des flagelles péritriches (Dickey *et al.*, 1984), achevant une croissance optimale à des températures de 25-30°C selon les espèces (Preombelon et Kelman.,1980). Ces bactéries se propagent amplement dans l'environnement et sont fréquemment présentes dans les lacs, les ruisseaux et les eaux souterraines ainsi que dans le sol (Chatterjee, A et Cui, S., 2002). Ce genre regroupe nombreuses bactéries phytopathogènes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, et renferme deux espèces importantes qui sont *Erwinia chrysanthemi* et *Erwinia carotovora* responsables de la pourriture molle chez les tubercules de pommes de terre. Depuis 2008, *E. chrysanthemi* est reclassifiée comme étant un ensemble d'espèces du genre *Dickeya*.

2.2 Taxonomie

2.2.1 *Pectobacterium carotovorum*

L'entérobactérie *P. carotovorum* est une bactérie opportuniste possédant les mêmes caractéristiques qu'*E. chrysanthemi* et est apte à affecter un large éventail d'hôtes dans de très

vastes aires géographiques, autant dans les zones tropicales que dans celles tempérées. Cette espèce est en fait divisée en deux sous-espèces qui sont:

- a. *Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum* (*Pcc* ; ex *Erwinia carotovora carotovora*) est une bactérie opportuniste qui affecte une gamme d'hôtes très large (légumes, tournesols, tabac, etc.) dans des aires géographiques étendues (régions tropicales et tempérées). Psychotrope, elle est capable de se développer à des températures allant de 20°C à 30°C (Pérombelon., 2002) et elle est souvent isolée à partir des pourritures humides des organes de réserve et des pourritures aériennes des tiges (Toth et al., 2003b).
- b. *Pectobacterium atrosepticum* (*Pa* ; ex *Erwinia carotovora atroseptica*) est une bactérie limitée essentiellement aux pommes de terre. 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).

2.2.2 *Dickeya dadantii*

Dickeya dadantii (anciennement *Erwinia chrysanthemi*) est un organisme de quarantaine (OEPP/EPPO., 1978), C'est l'une des entérobactéries phytopathogènes qui peut causer la pourriture molle dans un large éventail de cultures économiquement importantes (Grenier et al., 2006). Elle s'exprime préférentiellement dans les régions tropicales et subtropicales à des températures optimales assez élevées (35-37°C).

2.3 Maladies associées aux espèces pectinolytiques

Les bactéries pectinolytiques 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, au champ avant la récolte ou pendant le stockage (Corcuff et al., 2011). 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).

2.3.1 Symptomatologie

L'apparition et la nature des symptômes causés par *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. dépendent des conditions environnementales (température et humidité), de la pomme de terre (génotype, âge physiologique des tubercules, en eau, etc.), de la partie du végétal infectée et enfin des interactions avec d'autres agents pathogènes, tels que *Clostridium* spp. *Clavibacter michiganensis*, *Verticillium* spp. (Pérombelon, 1992; Pérombelon, 2002; Charkowski., 2006).

2.3.1.1 Au champ

Pectobacterium spp. et *Dickeya* spp. attaquent la tige du plant de la pomme de terre en cours de végétation provoquant ainsi la jambe noire (ou *Blackleg*). Ces bactéries provoquent des symptômes de macération des tissus, de flétrissement et de jaunissement du feuillage (Hélias et al., 2000a). L'infection induit ensuite une pourriture molle de la tige qui prend une coloration brune foncée à noire, à la base des tiges (**Figure 02 A**), du point d'attache des feuilles sur la tige (**Figure 02 B**), ainsi que des nécroses plus ou moins sèches (**Figure 02 C**).



Figure 02 : Symptômes 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 (Source: Hélias., 2008).

2.3.1.2 En stockage

Lors du stockage, *Pa*, *Pcc* et *Dickeya sp.* peuvent être présents séparément ou simultanément (Perombelon, 2002 ; Toth *et al.*, 2003 ; Van der Wolf et De Boer 2007 ; Helias, 2008) au sein des symptômes de pourriture molle et humide sur tubercules (**figure 03**). En conditions favorables d'humidité, la bactérie dégrade les tissus du tubercule provoquant une macération du parenchyme. La pourriture molle, d'aspect granuleux et de couleur claire, peut brunir jusqu'au noir (**figure 03**). La production de poches gazeuses au sein des tissus pourris est à l'origine d'une odeur nauséabonde très prononcée (Perombelon et Kelman., 1980).

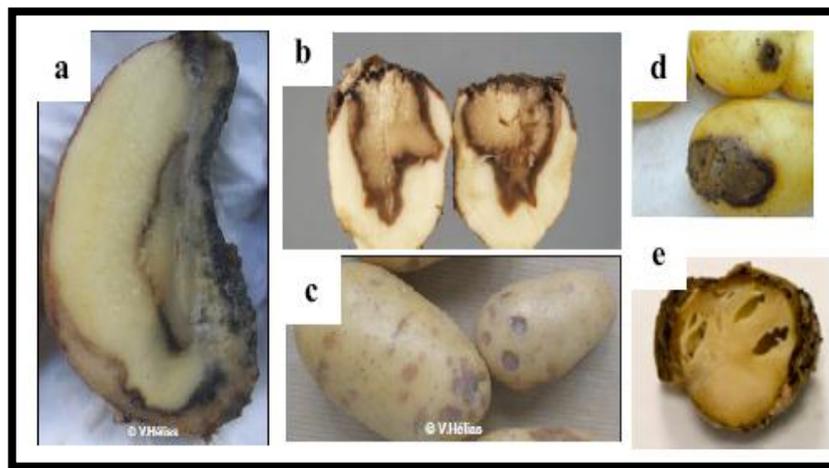


Figure 03 : Tubercules de pommes de terre infectées par *Pectobacterium* spp. ou *Dickeya* spp. après la récolte (a) ou lors du stockage (b, c et d). La pourriture molle, de couleur claire, brunit jusqu'au noir après oxydation des tissus macérés (a, b, d et e). L'autre symptômes qui caractérise cette maladie sont les petites taches diffuses d'aspect graisseux autour des lenticelles (c), une zone de macération autour du talon (point d'attache entre la racine de l'hôte et la descendance) peut se voir si l'infection est faite par l'intermédiaire de la plante hôte (d) et les lésions peuvent devenir creuses, dures et sèches (e). (Hélias, 2008 et Toth *et al.*, 2011).

2.4 Epidémiologie des maladies causées par *Pectobacterium* et *Dickeya*

La contamination des plantes et des tubercules de pomme de terre s'opère à partir de sources d'inoculum variées et sous l'effet des différents facteurs biotiques ou abiotiques. Certains constituent des facteurs de contamination « primaires » (tubercule mère, sol infecté) d'autres constituent plutôt des sources de contamination « secondaires » (contamination par contact avec des plantes ou tubercules infectés, eau, les aérosols, les insectes ou blessures) et apparaissent comme des facteurs de dissémination ou de développement des maladies (Yannick, R., 2015).

2.5 Facteurs de développement des maladies

L'apparition, ainsi que la gravité des dégâts liés à ces maladies sont multifactorielles. Elles dépendent de la réceptivité de la culture, du potentiel infectieux environnemental et des conditions pédoclimatiques tels que la température, l'humidité du sol, les facteurs génétiques et chimiques tel que le contenu minéral du tubercule (Latour *et al.*, 2008 ; Mantsebo., 2014).

2.5.1 Facteurs biotiques

Inoculum

Le tubercule-mère peut assurer lors de la culture suivante, la survie et la transmission des bactéries aux tubercules fils, constitue la source d'inoculum la plus connue. Les tubercules fortement contaminés présentent un risque de développement de la maladie plus important, indépendamment des conditions environnementales (Rousselle *et al.*, 1996 ; Hélias., 2008).

2.5.2 Facteurs abiotiques

2.5.2.1 Humidité

La présence de film d'eau à la surface des tubercules entraîne le maintien des conditions d'anaérobiose favorisant ainsi la multiplication bactérienne et l'initiation de la pourriture (Czajkowski *et al.*, 2011). De plus, les populations bactériennes sont globalement faibles dans les sols secs et élevées en conditions humides ou en sols irrigués (Rouffiange., 2013).

2.5.2.2 Anaérobiose

L'anaérobiose affaiblit le système de résistance de l'hôte par son effet défavorable sur la synthèse des métabolites secondaires, elle inhibe la lignification et la subérification des tissus végétaux et altère les parois cellulaires induisant l'augmentation de la perméabilité membranaire (Pérombelon., 2002).

2.5.2.3 Température

La répartition géographique des *Pectobacterium* est essentiellement liée aux exigences thermiques du milieu. Son développement est optimal entre 15 et 25 °C, tandis que *Pectobacterium carotovorum* possède une gamme de températures plus large : entre 20 et 40 °C. *Dickeya spp* sont issues de climats tropicaux, subtropicaux ou tempérés chauds (Rouffiange *et al.*, 2013).

2.6 Sources d'inoculum et facteurs de contamination

2.6.1 Sources d'inoculum

Les sources d'inoculum sont nombreuses et doivent autant que possible être maîtrisées pour garantir une bonne qualité sanitaire des plantes (plant certifiée). Parmi ces sources, **le tubercule mère** a été décrit dans plusieurs études comme jouant un rôle important dans la conservation et/ou la transmission/dissémination de *Pectobacterium* et *Dickeya* (Perombelon et Kelman, 1980 ; Helias *et al.*, 2000b ; Czajkowski *et al.*, 2009 ; 2010b et 2011). Les bactéries y sont localisées dans le système vasculaire, les lenticelles ou en surface des tubercules (Elphinstone et Perombelon, 1986 ; Perombelon., 2000).

Le sol constitue une autre source d'inoculum important. Les bactéries responsables de la pourriture molle et de la jambe noire auraient une très faible capacité à survivre seule dans le sol (Armon *et al.*, 1995). Les études menées par Van der Wolf *et al.* (2007 et 2014) montrent que les *Dickeya* ne survivent pas plus de trois semaines dans un sol nu mais peuvent survivre plus longtemps sur un sol pourvu de fragments végétaux.

Des résultats rapportés par Mendonca (1979) montrent la survie plus longue de *Pectobacterium* dans les couches inférieures (profondes) du sol (15-30 cm) où les conditions environnementales sont plus stables. Pcc décrite comme ayant une plus grande capacité de survie que Pa, est également plus fréquemment mise en évidence dans la rhizosphère (Perombelon *et al.*, 1989).

Enfin, **l'eau** constitue une autre source d'inoculum connue. La présence de *Pectobacterium* et *Dickeya* a été mise en évidence dans les eaux de rivières (Perombelon *et al.*, 1987 ; Van Vuurde *et al.*, 1994 ; Laurila *et al.*, 2008). Ces eaux sont de potentielles sources d'inoculum *via* l'irrigation (Laurila *et al.*, 2008; Kapsa., 2008).

Il est reconnu que les *Dickeya spp.* peuvent initier des infections à des taux d'inoculum plus bas et ont une plus grande capacité à se propager dans le système vasculaire des plantes (Toth *et al.*, 2011). Pour ces raisons, on considère qu'elles ont une virulence plus grande que les *Pectobacterium spp.* Le taux d'inoculum nécessaire au développement des symptômes (quorum) n'est toutefois pas encore établi dans la littérature.

2.6.2 Les facteurs de contamination

2.6.2.1 Conditions environnementales favorables

La jambe noire est favorisée par des conditions humides et des températures relativement fraîches bien que ceci dépende en grande partie des pathogènes responsables (température optimale de développement variant de quelques degrés entre *Pectobacterium* et *Dickeya*). (Charkowski., 2007).

Le manque de maturité, les gelées, la salinité excessive, la nature du sol, les dégâts causés par d'autres pathogènes sont favorables au développement des symptômes de pourriture molle (Tweddell *et al.*, 2003).

La température influence au champ le développement de l'une ou l'autre des espèces bactériennes selon leur optimum de croissance (Perombelon, 2002 ; Moh *et al.*, 2011 et 2012).

2.6.2.2 Le tubercule mère

Au champ, un tubercule mère infecté peut, suite à sa décomposition, contaminer les plantes voisines *via* le sol. La propagation des agents phytopathogènes peut également s'effectuer verticalement à partir des tubercules vers la tige, en provoquant le symptôme de jambe noire (Perombelon 2002 ; Czajkowski *et al.*, 2010a et b).

2.6.2.3 Le sol et la rhizosphère des plantes

Les propriétés physico-chimiques du sol peuvent également influencer l'expression de la maladie, favoriser la contamination des tubercules ou plantes mais aussi modifier les équilibres microbiologiques. les sols compacts favorisant l'humidité sont propices au développement des bactéries pectinolytiques aux alentours des racines (rhizosphère) et augmentent les risques d'infection (Bain *et al.*, 1990).

2.6.2.4 L'eau et les aérosols

La présence de *Pectobacterium* et *Dickeya* a été mise en évidence dans les eaux de rivière. (Powelson, 1985 ; Jorge et Harrison, 1986 ; Perombelon et Hyman., 1987). D'autre part, ces bactéries ont aussi été retrouvées dans des eaux de nappes phréatiques ou des eaux de drainage (McCarter-Zorner *et al.*, 1984 ; Perombelon *et al.*, 1987), les eaux de pluies

et les aérosols provoqués par ces dernières. La survie des bactéries dans les aérosols est de courte durée, car seulement 50% des bactéries survivent après 5 à 10 minutes (Perombelon., 1992).

2.6.2.5 Transmission par le matériel et les pratiques agricoles

Le passage de machines agricoles contaminées lors de la culture constitue un autre moyen 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 matériels infectés (Van Vuurde *et al.*, 1994).

2.7 Gamme d'hôtes

Pectobacterium spp. infectent une large gamme d'hôtes tels que les fruits, les tomates, le poivron (*Capsicum annuum L.*) (Hadas *et al.*, 2001; El-Hendawy *et al.*, 2002) ; la laitue, l'ail, la patate douce, l'aubergine, la courgette, l'oignon, le chou-fleur, l'arracacha, le melon, le gombo, le chou, le chou de Bruxelles, la carotte, le céleri, le concombre, le navet, la chicorée, la betterave à sucre, la pomme de terre, la couronne impériale (*Fritillaria imperialis L.*), le tabac et la mûre (*Morus spp.*) (Seo *et al.*, 2003; Fiori and Schiaffino 2004, Mahmoudi *et al.*, 2007, Xia *et Mo.*, 2007).

Dickeya spp. a une large gamme d'hôtes (**figure 04**) et peut affecter les œillets, le lys Léopold, le maïs, le tournesol, l'ananas, la pomme de terre et le modèle important hôte, violet africain [*Saintpaulia ionantha (Wendl)*], l'Aloe vera, la carotte et l'oignon (Fraaije *et al.*, 1997 ; Hélias *et al.*, 1998; El-Hendawy *et al.*, 2002, Toth *et al.*, 2003a ; Mandal *et Maiti.*, 2005, Henz *et al.*, 2006 ; Palacio-Bielsa *et al.*, 2007).

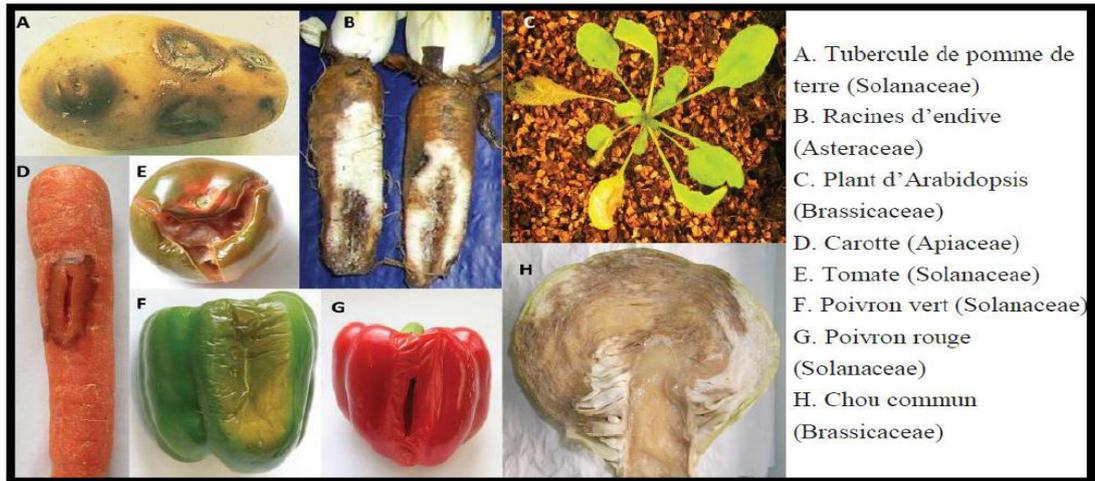


Figure 04 : Symptômes caractéristiques de la maladie de la pourriture molle sur différents Végétaux infectés par les *Dickeya* spp. (Reverchon and Nasser., 2013).

2.8 Cycle de la maladie

En culture, l'infection du tubercule mère favorise la transmission de la maladie aux tubercules fils, lorsque les bactéries sont libérées dans le sol et transportées par l'eau et les insectes qui assurent aussi sa transmission. Ainsi les bactéries envahissent la rhizosphère des plantes et infectent d'autres tubercules. La **figure 05** résume les principales étapes du cycle de développement de la maladie (Alim, D., 2011).

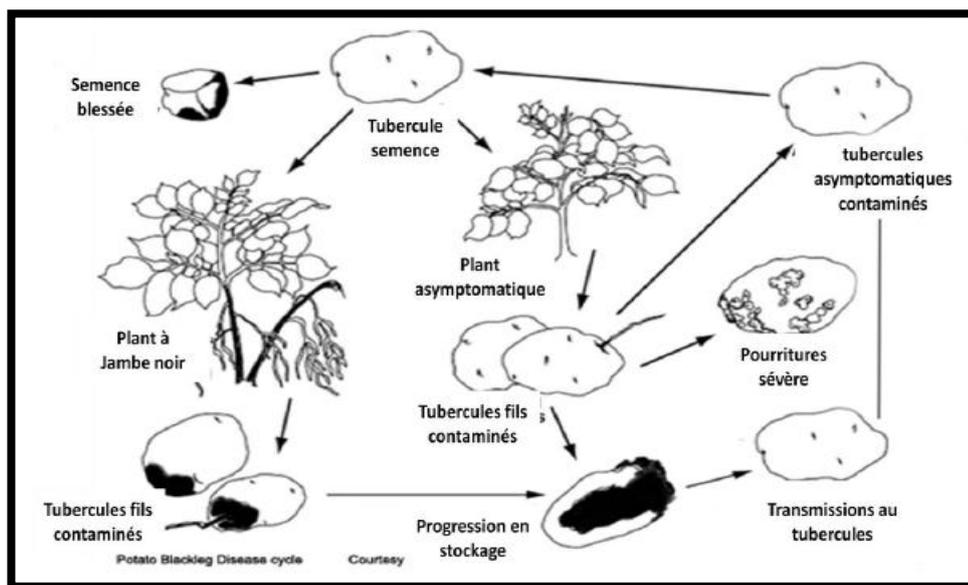


Figure 05 : Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne (Howard, R. J ,et *al.*, 1994).

2.9 Pouvoir pathogène des *Pectobacterium*

Le déclenchement de la pourriture molle nécessite la production d'enzymes extracellulaires, notamment des pectinases tels que la pectate lyase (Pel), la polygalacturonase (Peh) et de lyase de pectine (PNL), responsables de la dégradation des composants pariétaux cellulaires (Chatterjee., 1995). Il existe d'autres mécanismes importants impliqués dans le pouvoir pathogène à savoir : la mobilité, l'acquisition du fer via la production des sidérophores, la formation de biofilms, le chimiotaxisme, etc (Kettani-Halabi., 2012).

2.9.1 Enzymes pectinolytiques

2.9.1.1 Pectate lyase (PEL)

Les PEL sont les enzymes les plus importantes dans le développement de la maladie (Smadja et *al.*, 2004a). Ils dégradent les substances pectiques des parois des plantes par β -élimination, provoquant la formation de produits insaturés en C4-C5 (Augustin, 2012). D'après Smadja et ses collaborateurs (2004a), la température optimale de la pathogénicité de *Pectobacterium* était plus liée à la température de l'activité des Pels qu'à leur température de croissance. Les PeL jouent aussi un rôle dans l'activation des systèmes de défense par libération d'oligogalacturonides des parois cellulaires (Rodringuez., 2003).

2.9.1.2 Pectine lyases (PL)

Les PL ont comme substrat préférentiel de la pectine. Elles possèdent le même mode d'action que les PEL, elles agissent par clivage interne dans la chaîne d'acide galacturonique méthylé (Hatsch., 2004).

D'autres pectinases sont aussi impliquées dans le pouvoir pathogène des bactéries pectinolytiques. Le nombre et le types de ces enzymes varient d'une espèce à l'autre. On trouve les pectines méthylestérases (*PemA*), les pectines acétylestérases (*PaeX et Y*) (Shevchik and Hugouvieux-Cotte-Pattat, 1997), et les polygalacturonases (*Peh*) avec de multiples formes d'isoenzymes (*PehN, PehV et PehW*).

2.9.1.3 Pectate hydrolases(Pehs)

Nommées aussi polygalacturonases, elles hydrolysent le polygalacturonate au niveau de la liaison α (1-4), à l'intérieur ou aux extrémités de la chaîne. Ces deux formes sont présentes chez *P. carotovora*, elles sont actives à pH 5.5 (Priou., 1992). *P. carotovorum* produit

l'endopolygalacturonase *pehA* qui induit d'intenses symptômes de macération (Pickersgill., 1996).

2.9.2 Enzymes non pectinolytiques

2.9.2.1 Cellulases (Cel)

Les cellulases sont des endohydrolyses de la cellulose. Leur pH optimal est de 7, elles agissent par synergie (Kettani-Halabi, 2012). *D. dadantii* 3937 synthétise 02 cellulases codées par les gènes *celZ* et *celY*. *celZ* représente 97% de l'activité cellulosique (Reverchon., 1994). Ainsi, des mutants *CelV* chez *Pectobacterium carotovorum* ont montré une grande diminution de leur capacité de macération par rapport au type sauvage (Walker., 1993).

2.9.2.2 Protéases

Les espèces et sous-espèces pectinolytiques sécrètent de grandes quantités de protéases qui facilitent la dégradation des parois végétales, des membranes cytoplasmiques et des protéines cytosoliques (Ladjouzi., 2007). Ces enzymes peuvent être produites de façon constitutive ou induites par la présence de peptides dans le milieu, et peuvent ainsi accélérer la macération et la perte de cohésion des tissus (Lagha., 2007).

2.10 Régulation des gènes de virulences chez *Pectobacterium sp* par le quorum sensing

Les bactéries régulent leurs expressions géniques par divers mécanismes. Parmi ces mécanismes le système quorum-sensing (QS).

Le QS est un mode de régulation qui couple chez les bactéries l'expression génique à la densité cellulaire. Il repose sur la synthèse et la perception de molécules signal (auto-inducteurs) par la population bactérienne concernée (Barnard et *al.*, 2007). Lorsque la population devient plus importante, la concentration en auto-inducteur augmente et dépasse un seuil critique qui est alors perçu par les bactéries qui le produisent : le quorum est atteint. L'auto-inducteur va ensuite former un complexe avec un facteur de transcription qui va pouvoir moduler l'expression de gènes de virulence. Parmi les signaux connus, on peut citer les Nacyl Homosérine Lactones (AHLs), les butyro-lactones, ou l'autoinducteur 2 (AI-2). (Kettani Halabi, M., 2014).

Chez les *Pectobacterium* et certains *Dickeya* pectinolytiques synthétisent des molécules signal de la famille des NAcyl Homoserine Lactones (NAHL) et plus particulièrement

les 3-OC6-HSL (N-3-oxo-Hexanoyl-L-Homoserine-Lactone) et 3-OC8-HSL, qui diffusent au travers de la membrane cellulaire (Crepin *et al.*, 2012a et b). Lorsque la multiplication bactérienne atteint un certain seuil (quorum), la concentration des signaux moléculaires NAHL dans le milieu devient suffisamment élevée pour être perçue par les bactéries comme un signal d'activation de la synthèse des PCWDE (Waters et Bassler., 2005 ; Ferluga *et al.*, 2008 ; Charkowski., 2009 ; Barnard *et al.*, 2007).

2.11 Les déterminants du pouvoir pathogène bactérien

2.11.1 Mobilité flagellaire

Les flagelles permettent aux bactéries de chercher des environnements favorables ou d'échapper aux conditions défavorables, ainsi qu'une compétition avec d'autres microorganismes. En outre, le flagelle lui-même constitue certains facteurs de virulence tels que les flagellines qui peuvent induire des réactions de défense chez l'hôte (Hossain *et al.*, 2005).

L'eau libre est essentielle pour le développement optimal de la maladie et peuvent permettre aux cellules d'*Erwinia* de se déplacer plus facilement dans le tissu végétal. La motilité peut jouer un rôle important dans la contamination des tissus des tubercules au niveau des lenticelles dans les sols humides (Perombelon., 2002).

2.11.2 Lipopolysaccharides (LPS)

Les LPS sont des macromolécules de surface majoritaires chez les bactéries Gram négatif (Erbs et Newman., 2012). Ils jouent un rôle dans la fixation des cellules bactériennes aux parois végétales, tout en induisant des réponses défensives chez l'hôte (Newman et Roepenack, 2000 ; Val *et al.*, 2006). Les lipopolysaccharides (LPS) jouent également un rôle dans l'adhérence, notamment chez *Agrobacterium tumefaciens* (Reuhs *et al.*, 1997).

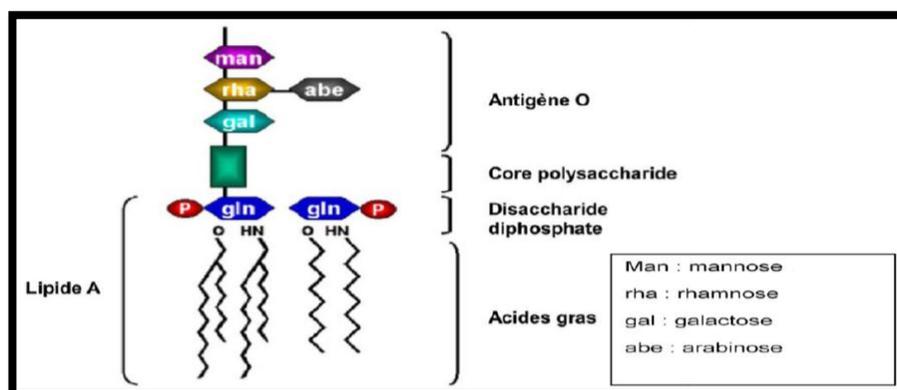


Figure 06 : Structure du Lipopolysaccharides (Lautier et *al.*, 2007).

Chez les *Erwinia* pectinolytiques, les LPS fournissent une protection contre les substances antimicrobiennes de la pomme de terre, mais leur rôle est d'une moindre importance dans la pathogénicité (Perombelon., 2002).. Les mutants *d'EccSCC3193* défectueux de LPS restent virulents, et montrent peu de sensibilité phénotypique au galactose et ils sont avirulents sur tabac (Pirhonen et *al.*, 1991).

2.11.3 Sidérophores

Les bactéries produisent de petites molécules de faible poids, appelées sidérophores qui ont une très forte affinité pour l'ion Fe^{3+} , formant ainsi des complexes sidérophores- Fe^{3+} au sein de l'environnement. Ces derniers jouent un rôle clef dans les mécanismes de transport actif. Une fois dans la cellule, le complexe se dissocie et le fer ferrique (Fe^{3+}) est réduit en fer ferreux (Fe^{2+}). Ce dernier est utilisé par la cellule pour le fonctionnement des enzymes respiratoires, les sidérophores sont alors recyclé par une pompe à efflux vers le milieu extracellulaire (Geoffroy et Moser., 2014).

2.11.4 Les Systèmes de sécrétion

Pour réussir l'infection, il est essentiel que les enzymes dégradant la paroi végétale et les autres facteurs de virulence soient sécrétés efficacement à l'environnement extracellulaire Les protéines sécrétées comprennent à la fois les enzymes impliquées dans l'attaque du tissu végétal et celles impliquées dans des interactions plus subtiles avec la plante hôte (Toth *et al.*, 2003; Pembertonet *al.*, 2004).

Erwinia carotovora subsp. *carotovora* possède au moins trois systèmes de sécrétion (type I-III) qui fonctionnent différemment et qui sont conservés entre les différentes espèces bactériennes. Le SSTI secrète les métalloprotéases par un processus à une seule étape et semble avoir un effet mineur sur la virulence (Delepelaire et *al.*, 1991).

Le SSTII secrète les déterminants de virulence tels que les cellulases, pectinases et les Nep1-like proteins (NLPs) par un mécanisme comprenant deux étapes. Les protéines sont exportées au périplasme par le système sec (qui transporte des protéines contenant une séquence N-terminale clivable du cytoplasme vers l'espace périplasmique) suivi par le transport extracellulaire à travers un canal couvrant le compartiment périplasmique et la membrane externe (Johnson et *al.*, 2006). L'importance du système de sécrétion de type II chez *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* est mise en évidence dans une étude où les mutations affectant le SSTII résultant d'un phénotype avirulent (Wakelin et *al.*, 2004).

Le SSTII est décrit ci-dessous (**figure 07**), récemment basé sur les données génomiques de la souche d'*Eca SCRI1043* il a été montré qu'il contient au moins trois systèmes de sécrétion indépendamment (type IV-VI) (Bell et *al.*, 2004) (**figure 07**). Le SSTIV est utilisé pour la translocation d'ADN et les substrats protéiques, à travers la membrane bactérienne à la cellule cible. Le SSTVI est un nouveau système de sécrétion décrit, supposé impliqué dans la virulence et la conservation de plusieurs pathogènes. Chez *Erwinia carotovora* spp. il a été montré qu'il secrète des protéines effectrices potentielles, telles que Hcp (Hemolysin-coregulated Protein) et VgrG (glycine de Valine répète la protéine G) (Liu et *al.*, 2008).

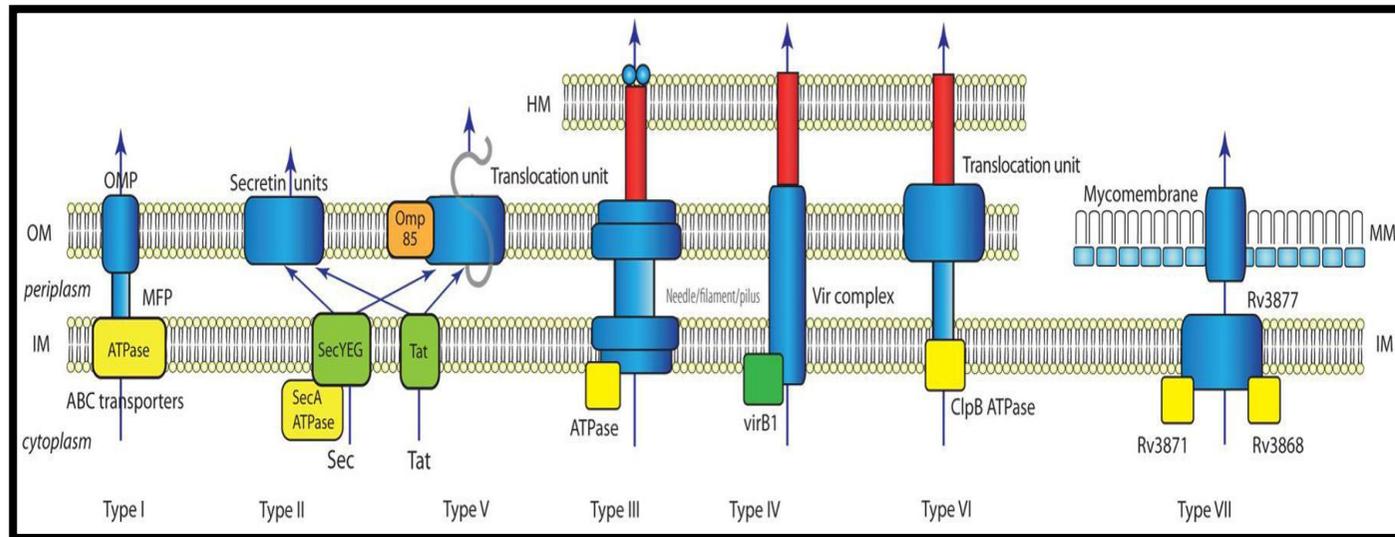


Figure 07 : Résumé des systèmes connus de la sécrétion bactérienne (Tseng *et al.*, 2009)

HM : membrane de l'hôte ; **OM** : membrane externe ; **IM** : membrane interne ; **MM** : mycomembrane ; **OMP** : protéines de la membrane externe ; **MFP** : Protéines membranaires. ATPase et les chaperonnes sont représentés en jaune.

La **Figure 07** résume les principales caractéristiques des systèmes de sécrétion connus. Chez les bactéries Gram-négatives, Certaines protéines sécrétées sont exportés à travers les membranes interne et externe en une seule étape par l'intermédiaire des voies de sécrétions de type I, type III, type IV ou VI. D'autres protéines sont d'abord exportés dans l'espace périplasmique via le system Sec ou le system (Tat), puis transporté à travers la membrane externe via le system de sécrétion de type II, type V ou, moins fréquemment, le type I ou de type IV. Cependant, chez les bactéries Gram-positives, comme les mycobactéries qui ont une couche hydrophobe, la paroi cellulaire est presque imperméable, le système de sécrétion type VII est spécialisé dans la translocation des protéines à travers la membrane et la paroi cellulaire par un canal (encore mal définie), toutefois, les étapes du processus de sécrétions reste imprécise.

Chapitre II:

Matériels et méthodes

Chapitre II: Matériels et méthodes

Notre travail est constitué de trois parties principales : la première concerne le calcul de la densité optique nécessaire pour une quantité d'inoculum de 10^2 CFU/ml et une autre quantité d'inoculum à 10^6 CFU/ml, la deuxième partie consiste à l'étude de l'effet de ces deux concentrations d'inoculum sur le pouvoir pathogène *in vitro* des isolats de *Pectobacterium like* principalement sur les disques de pomme de terre. Une dernière partie concerne l'étude du développement des symptômes suite à l'inoculation in planta de ces isolats présumées virulentes sur quatre variétés de pomme de terre et une variété de tomate.

1 Matériels

1.1 Matériels biologiques

Les essais ont été réalisées sur la base d'une collection de 12 isolats bactériens(MG13, AJ10, AD11, AD7, Aj32, AJ5, AJ31, AJ4, AJ30, ASOL1, AD7, SSP3) qui ont été isolé et identifié par voies biochimique et biologique au niveau du laboratoire de phytobactériologie (Haddane., 2013), ces isolats ont été isolé à partir des tubercules de pomme de terre var *Spunta* et *Désirée* présentant les symptômes de pourriture molle. Les 12 isolats ont été conservées en tube à 4°C et cultivées sur le milieu LB (Lauria et Bertani) en boîte de pétri pendant 48h, ensuite elles ont été repiqué sur des tubes inclinés de milieu LB.

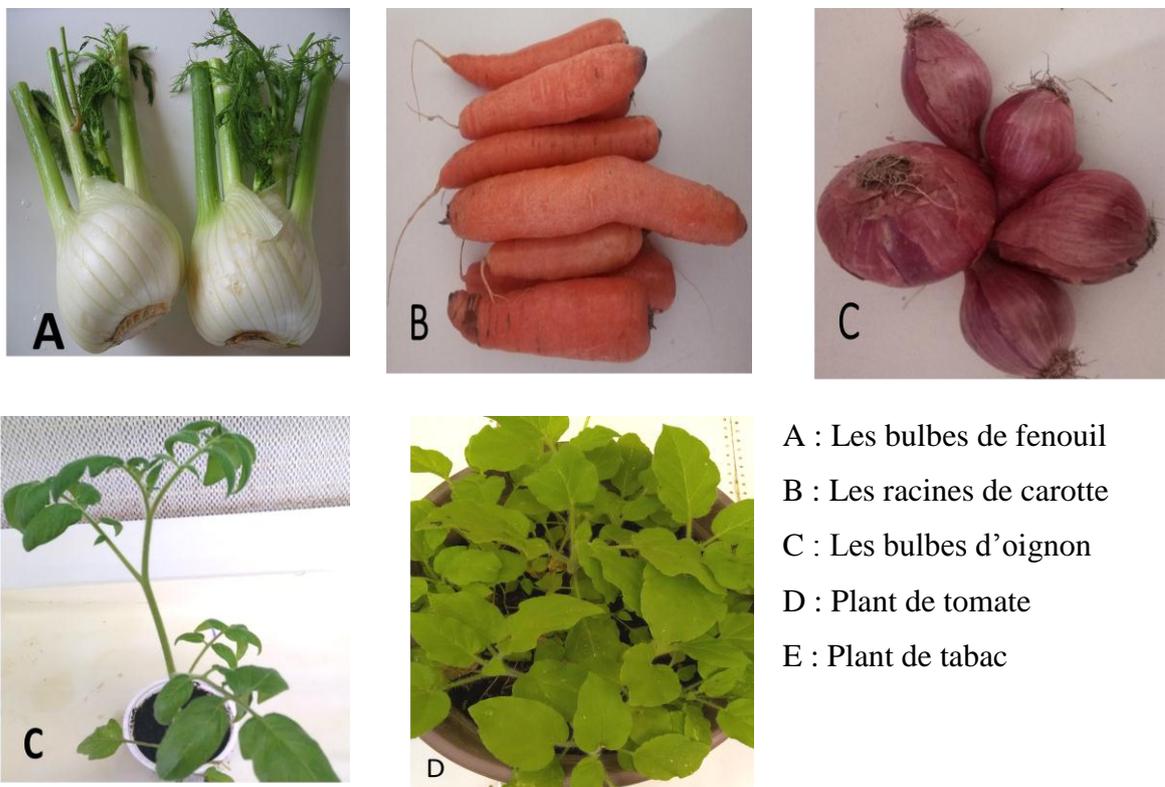
1.2 Matériel végétal

Pour notre expérimentation, nous avons testé une gamme de plantes hôtes susceptibles d'être attaquée par les isolats de *Pectobacterium*. La gamme d'hôte concerne cinq espèces ; la pomme de terre, la tomate, l'oignon, la carotte et le fenouil, appartenant à trois familles botaniques différentes (*Solanacées*, *Ombellifères* et *Liliacées*). Un choix volontaire a été fait sur les espèces choisies, du fait qu'elles constituent les principales plantes hôtes attaquées par la maladie (Pérombelon et Kelman., 1987). et qu'elles constituent aussi des espèces couramment cultivées en Algérie.

Concernant la famille des *Solanacées*, nous avons testé quatre variétés de pomme de terre *Solanum tuberosum L.* var (Spunta ; Désiré, Fabula et Bartina) qui sont saines. Ces variétés nous permettent de comparer les réponses de virulence des isolats testées. Elles nous ont été gracieusement fournies par les agriculteurs producteurs de pomme de terre de consommation.



Figure 08 : Les semences de pomme de terre des quatre variétés utilisées pour les tests *in planta*.



A : Les bulbes de fenouil
B : Les racines de carotte
C : Les bulbes d'oignon
D : Plant de tomate
E : Plant de tabac

Figure 09 : La gamme d'hôtes testés.

2 Méthodes

2.1 La purification des souches bactériennes

Les 12 isolats bactériens sélectionnés font partie de la collection bactérienne du laboratoire de phytopathologie.

Les suspensions des isolats bactériennes à inoculer ont été préparées à partir de cultures préalablement purifiées. La purification est une opération nécessaire afin de s'assurer de la pureté des isolats bactériens 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 LB, suivie d'une étape d'incubation à 28-30°C.



Figure 10: Quelques étapes de purification ; (A) : prélèvement d'une culture bactérienne conservée en tube à essai ; (B) : ensemencement en strie dans une boîte de pétrie.

2.2 Concentration de l'inoculum bactérien

Nous avons préparé des suspensions bactériennes à partir des cultures préalablement purifiées à une densité optique 0.1 et 0.25 à une longueur d'onde de 620 nm ce qui correspond à une densité cellulaire respective de 10^2 CFU/ml (pour déclencher la maladie) et de 10^6 CFU/ml (pour suivre l'agression des bactéries et la maladie), (Alim ; 2011).

2.3 Calcul de la densité optique correspondant à la quantité d'inoculum

De très nombreuses techniques permettent de mesurer la biomasse d'une suspension bactérienne. La mesure de la densité optique est la technique la plus simple, la plus rapide et la

plus utilisée. Elle consiste à mesurer la lumière absorbée par une suspension bactérienne à l'aide d'un spectrophotomètre (**figure 11**) réglé à une longueur d'onde de 600 à 650 nm (longueur d'onde pour laquelle l'absorption de la lumière par les constituants cellulaires est la plus faible). D'une manière générale, l'absorbance est proportionnelle à la concentration cellulaire.

- a. La préparation des suspensions bactériennes : nous avons préparé les solutions mères en raclant à l'aide d'une anse stérile, les cultures bactériennes des isolats âgées de 48h cultivées sur le milieu LB. Par la suite, mises en suspension dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée stérile.
- b. La lecture : la concentration de la suspension bactérienne est déterminée par spectrophotométrie en mesurant l'absorbance ($D_{0.1}$, $D_{0.25}$) de chaque souche. (En travaillant dans des conditions d'asepsie, devant un bec benzène et sur une paillasse désinfectée par une solution d'hypochlorite de sodium puis par de l'alcool à 70°) ainsi chaque souche est testée pour deux concentrations bactériennes. (Alim.,2011).



Figure 11: L'appareil de spectrophotométrie « UV-1601 ».

2.4 Test du pouvoir pathogène *in vitro*

2.4.1 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 aseptiques avec (l'hypochlorite de sodium) à 12° soit une concentration à 4% pendant 1heure(pour la pomme de terre et carotte seulement), suivi d'un rinçage avec de l'eau distillée stérile (**figure 12**).



Figure 12: Les étapes de désinfection de la pomme de terre, les carottes, l'oignon, le fenouil réalisées sous hotte à flux laminaire.

2.4.2 Dépôt de l'inoculum dans les disques de pomme de terre

Le tubercule de pomme de terre est découpé en rondelles d'une hauteur de 15 mm, Ces dernières sont découpées en disques de 25 mm de diamètre à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Les disques sont par la suite déposés dans des microplaques de culture cellulaire stériles (Costar, cell culture cluster dish) renfermant 12 puits (**figure 13**).

Après à l'aide d'un bistouri stérile nous avons réalisé un creux au milieu de chaque rondelle d'environ 05 mm de profondeur, et à travers une micropipette et des embouts stérile (connes jaunes) nous avons prélevé 30 μ l de la suspension et la déposer à la surface de chaque disque. Chaque microplaque est recouverte par du papier aluminium et incubé dans une étuve à 28°C pendant trois jours. Le suivi des résultats est fait chaque 24 h, suivi d'une pesée finale des disques après 72h.



Figure 13 : Les étapes de dépôt de l'inoculum sur les disques de pomme de terre.

2.4.3 Quantification des symptômes

Après trois jours d'incubation deux mesures ont été effectuées. Le taux de chair de pomme de terre pourrie (Q_{cp}) 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).

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

P'₁: poids (g) du disque de pomme de terre non inoculé avant incubation.

P'₂: 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 pourrie (Q_{ncp}) par la formule suivante:

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

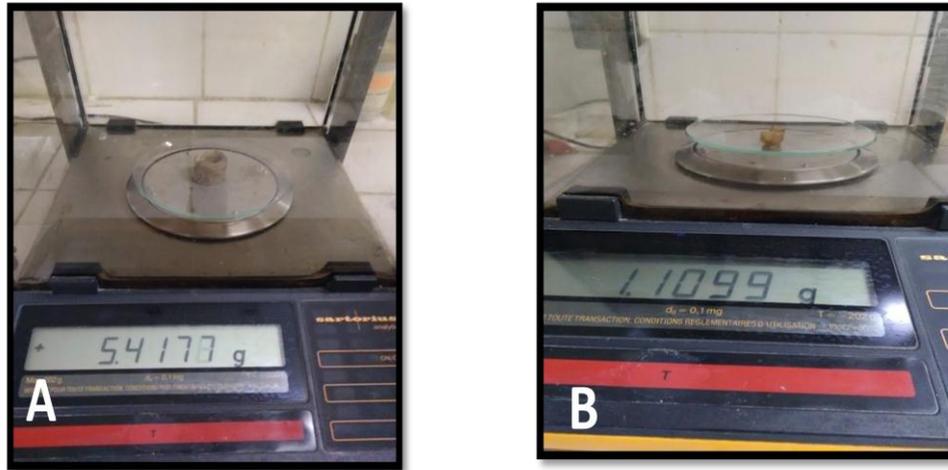


Figure 14 : Les étapes de la pesé des disques de pomme de terre.

A : un disque de pomme de terre avant raclage de la pourriture.

B : un disque de pomme de terre après raclage de la pourriture.

- Concernant le test du pouvoir pathogène sur carotte (*Daucus carota*), oignon (*Allium cepa*) et fenouil (*Foeniculum vulgare*), nous avons suivis le même protocole réalisé sur les disques de pomme de terre afin de confirmer nos résultats et élargir notre gammes d'hôtes (**figure 15**).

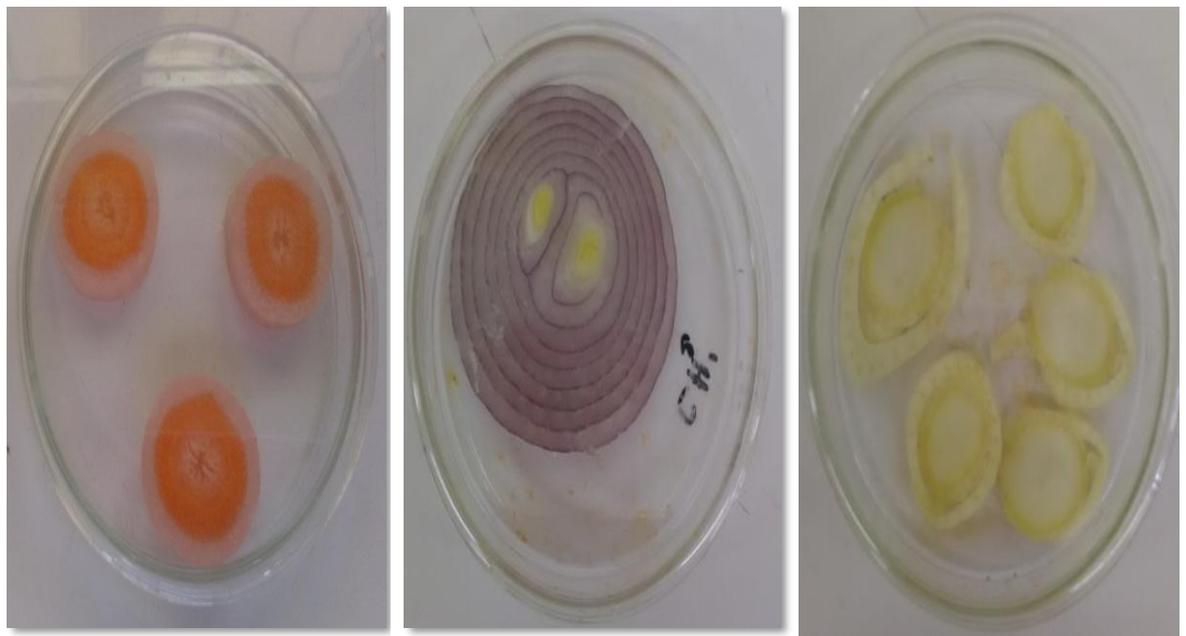


Figure 15 : Préparation des disques de carotte, l'oignon, et le fenouil pour le test du pouvoir pathogène *in vitro*.

2.4.4 Analyses statistiques des données

Les données mesurées sont représentées par des statistiques quantitatives de moyenne (m) et SEM (Erreur Standard de la moyenne), notant que SEM correspond à l'écart-type divisé par la racine du nombre d'individus ayant servi à calculer la moyenne.

La SEM permet d'estimer rapidement la valeur statistique d'un écart entre les moyennes de deux données, car l'intervalle de confiance d'une moyenne correspond à $m \pm t_{\text{student}} \times \text{SEM}$, pour une valeur de $p = 0,95$ réalisé sur un petit échantillon (inférieur à 30 répétitions).

Le test de **Shapiro-Wilk** est utilisé pour tester la normalité des données ainsi que pour confirmer si cette dernière condition est remplie.

Afin de comparer plus de deux moyennes simultanément, on peut utiliser le test d'ANOVA (Analysis of Variance) sur deux critères (ANOVA à deux facteurs) de classification.

Enfin, un test de **Newman-Keuls** est réalisé pour la constitution des groupes homogènes basée sur la plus petite amplitude significative. Chaque moyenne est affectée d'une lettre, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

Tous ces calculs et tests statistiques ont été réalisés sous le logiciel R (www.r-project.org) en utilisant les packages (ADE4, stats, stats4, agricolae).

2.5 Préparation du test *in planta*

2.5.1 Sur la pomme de terre

1. Stérilisation du sol : une première stérilisation à 200°C pendant 1h dans un four pasteur, puis une deuxième stérilisation après 24h.
2. Plantation : sous une serre, les semences saines de pomme de terre des quatre variétés ont été plantées dans des pots stériles contenant du sol stérile mélangé au sable, ensuite arrosé avec l'eau bouillie.
3. Inoculation artificielle : pour le test *in planta*, nous avons utilisé trois plants pour chaque variété de pomme de terre, ce qui constitue trois répétitions par isolat et par variété pour chaque concentration d'inoculum.

Après préparation des suspensions bactériennes des 12 isolats bactériens et pour les deux concentrations d'inoculum à savoir 10^2 CFU/ml et 10^6 CFU/ml. A l'aide des seringues stériles, nous avons injecté 30 μ l de chaque suspension bactérienne dans l'espace entre nœuds (des plantes à stade de cinq feuilles). Pour chaque variété de pomme de terre testée, nous avons réalisé une injection à base d'eau distillée stérile (EDS) qui constitue le témoin négatif.



Figure 16 : La réalisation du test du pouvoir pathogène par l'inoculation des plants de Pomme de terre.

2.5.2 Sur la tomate

Le test du pouvoir pathogène *in planta* a été réalisé aussi sur les plants de tomate *Lycopersicon esculentum* variété Saint Pierre, par inoculation des suspensions bactériennes à forte concentration 10^6 CFU/ml dans les entres nœuds des plants de tomate. (Les résultats ont été suivis pendant 15 jours).



Figure 17 : La réalisation du test du pouvoir pathogène par inoculation du plant de Tomate.

2.5.3 Le test d'hypersensibilité

Le test d'hypersensibilité du tabac met en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie par le dessèchement des zones inoculées sur les feuilles de tabac. Dans un tube de 2 ml d'eau distillée stérile, une suspension bactérienne concentrée de 10^6 CFU/ml correspondant à une densité optique de 0.2 a été préparée à partir d'une culture bactérienne âgée de 24 h (Haddane., 2013). Les feuilles du plant de tabac *Nicotiana tabacum* var. *White burley* au stade 5 feuilles sont infiltrées par injection sous épidermique d'une suspension bactérienne à l'aide d'une seringue stérile de 1 ml. Le témoin négatif consiste à injecter de l'eau distillée stérile au niveau du limbe foliaire. Pour chaque isolat bactérien, une feuille de tabac a été inoculée.

La lecture des résultats est effectuée 24 à 48h après inoculation, un résultat positif se traduit par la présence d'une zone nécrotique mettant en évidence ainsi le pouvoir pathogène de la bactérie testée (Yabuuchi et Smith., 1999).



Figure 18 : La réalisation du test de la réaction d'hypersensibilité.

Chapitre III :

Résultats et Interprétations

Chapitre III : Résultats et Interprétations

1 Test du pouvoir pathogène *In vitro*

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 foncée, dégageant une forte odeur nauséabonde.

Les résultats obtenus nous indiquent 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 différentes réponses entre les isolats bactériens.

Le développement des symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre inoculés à faible concentration (10^2 CFU/ml) se traduit par la macération des tissus inoculés qui deviennent très spongieux avec un aspect très humide plus prononcé qu'à forte concentration (10^6 CFU/ml).

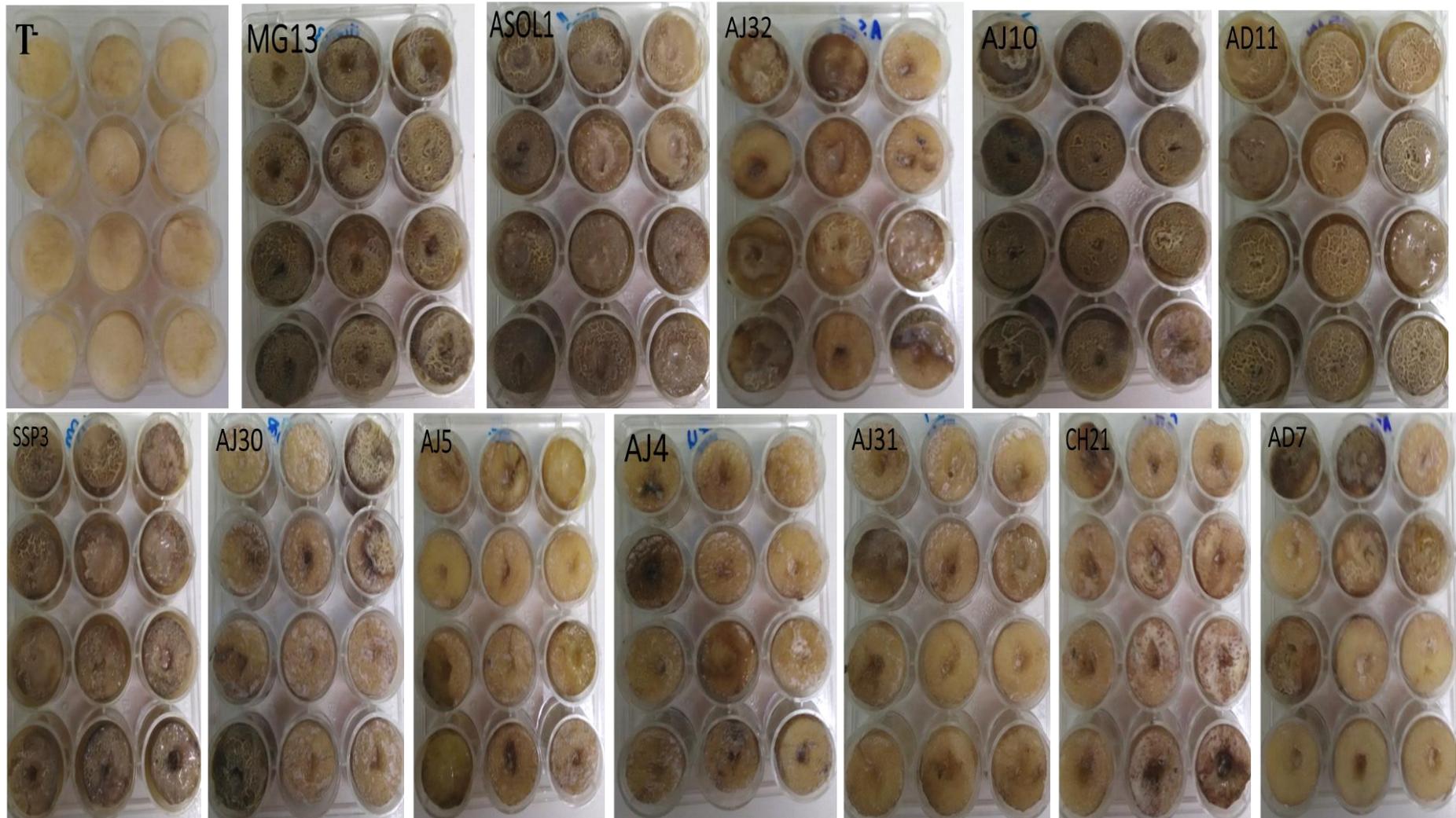


Figure 19: Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre (variété Spunta) inoculée à faible concentration bactérienne 10^2 CFU/ml après trois jours d'incubation à 28°C. **T-** : témoin négatif (l'eau distillée stérile)

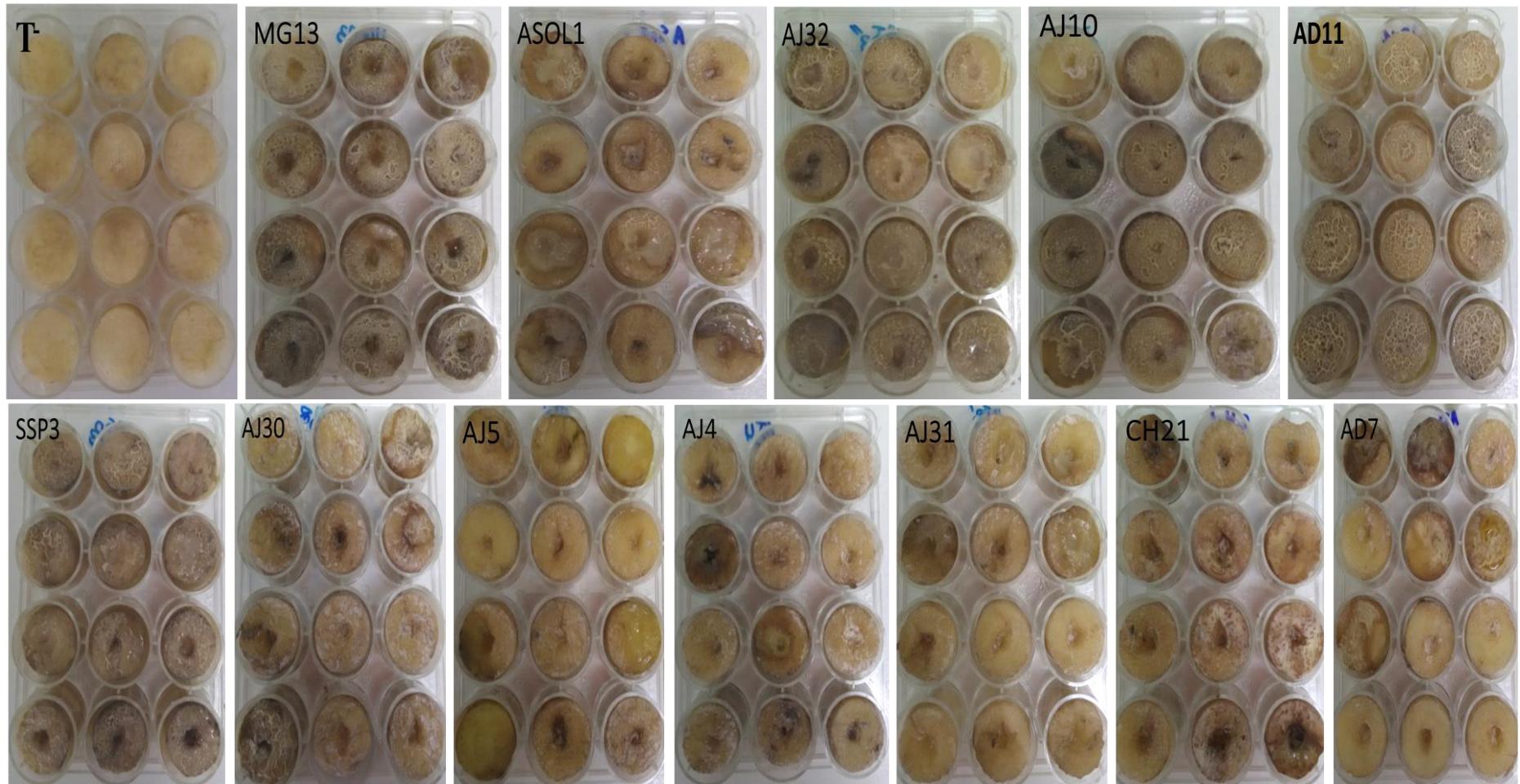


Figure 20: Symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre (variété Spunta) inoculée à forte concentration bactérienne 10^6 CFU/ml après trois jours d'incubation à 28°C. **T-** : témoin négatif (l'eau distillée stérile).

1.1 Analyse statistiques des résultats

1.1.1 Le test de Shapiro et Wilk

Si la valeur de p est supérieure à 0,01, alors l'interaction entre facteur souches et facteur concentration suit la loi normale (annexe **Tableau 9** et **10**).

A. Test de Shapiro et Wilk à faible quantité d'inoculum

Sur la base de ce test, on constate que l'ensemble des traitements respectent la loi normale.

B. Test de Shapiro et Wilk à forte quantité d'inoculum

Sur la base de ce test, on constate que l'ensemble des traitements respectent la loi normale.

1.1.2 Les résultats de l'analyse de la Variance

Une analyse de la variance à l'aide du logiciel statistique « R » est utilisée pour effectuer une analyse globale des résultats. Cette dernière est réalisée sur les douze isolats pectinolytiques testées.

Les résultats de cette analyse indiquent que la variation de la quantité de la chair perdue (Qncp) dépend étroitement des isolats testées ainsi que de la concentration d'inoculum (**tableau 02**).

Tableau 02: Modèle ANOVA appliqué aux souches de *Pectobacterium*. sur la quantité nette de la chair perdue des disques de pomme de terre inoculés.

ANOVA Test	DI	Variance	Carrés moyens	F.ratio	Pr(>F)	
Facteur (F.Concentration)	1	0,201358211	0,201358211	6,820649479	0,009	**
facteur(Bactérie)	11	5,021881343	0,456534668	15,46429585	< 2,2 ⁻¹⁶	***
Facteur (Concentration x Bactérie)	11	4,79992544	0,436356858	14,78080862	< 2,2 ⁻¹⁶	***
Résidus	144	4,25114682	0,029521853			

DI : degré de liberté ; Pr : probabilité

*** : significatif à $p < 0,001$; ** : significatif à $p < 0,01$; * : significatif à $p < 0,05$

Les résultats du calcul du pourcentage (%) de la quantité nette de la chair perdu (**Qncp**) observés sur les disques de pomme de terre inoculés par les 12 isolats sont présentés dans le diagramme en boîte (**boîte à moustache**) 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 21,22**).

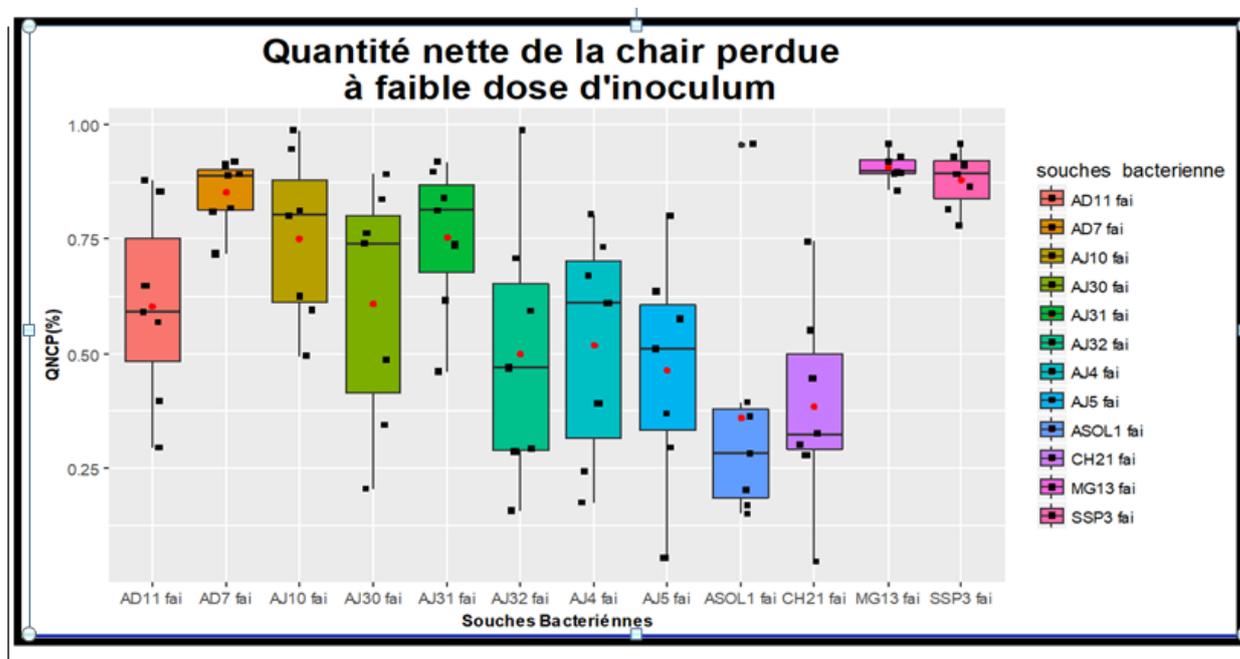


Figure 21 : La variation de la QNCP en fonction des isolats de *Pectobacterium* à faible quantité d'inoculum.

La **figure 21** nous indique que la quantité nette de la chair perdue entre les isolats est remarquablement variable. L'analyse du diagramme a indiqué que les isolats AD7, SSP3 et MG13 testés sont plus virulents que les autres isolats. A titre d'exemple, l'isolat AD7 a entraîné une perte de poids environ deux fois plus élevée que AD11.

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

Les isolats très virulentes sont les isolats MG13, AD7 et SSP3 avec un pourcentage de la quantité de la chair perdue $\geq 97\%$ où la pourriture des disques de pomme de terre inoculés est maximale. C'est-à-dire la totalité du disque est pourrie.

Les isolats AD11, AJ10, AJ30 et AJ31 sont des souches virulentes présentent un pourcentage de la quantité nette de la chair perdue de pomme de terre varie entre $75 \% \leq Q_{ncp} \leq 95\%$ où la pourriture dépasse la moitié des disques de pomme de terre inoculée.

Les isolats AJ32, AJ4, AJ5 et CH21 sont moyennement virulentes et présentent un pourcentage de la quantité nette de la chair perdue de pomme de terre varie entre $50 \% \leq Q_{ncp} \leq 75 \%$. L'isolat ASOL1 considéré comme la moins virulente où la pourriture est minimale ne dépasse pas quelques mm du disque, elle présente un pourcentage de quantité de la chair perdue égale à 40 %.

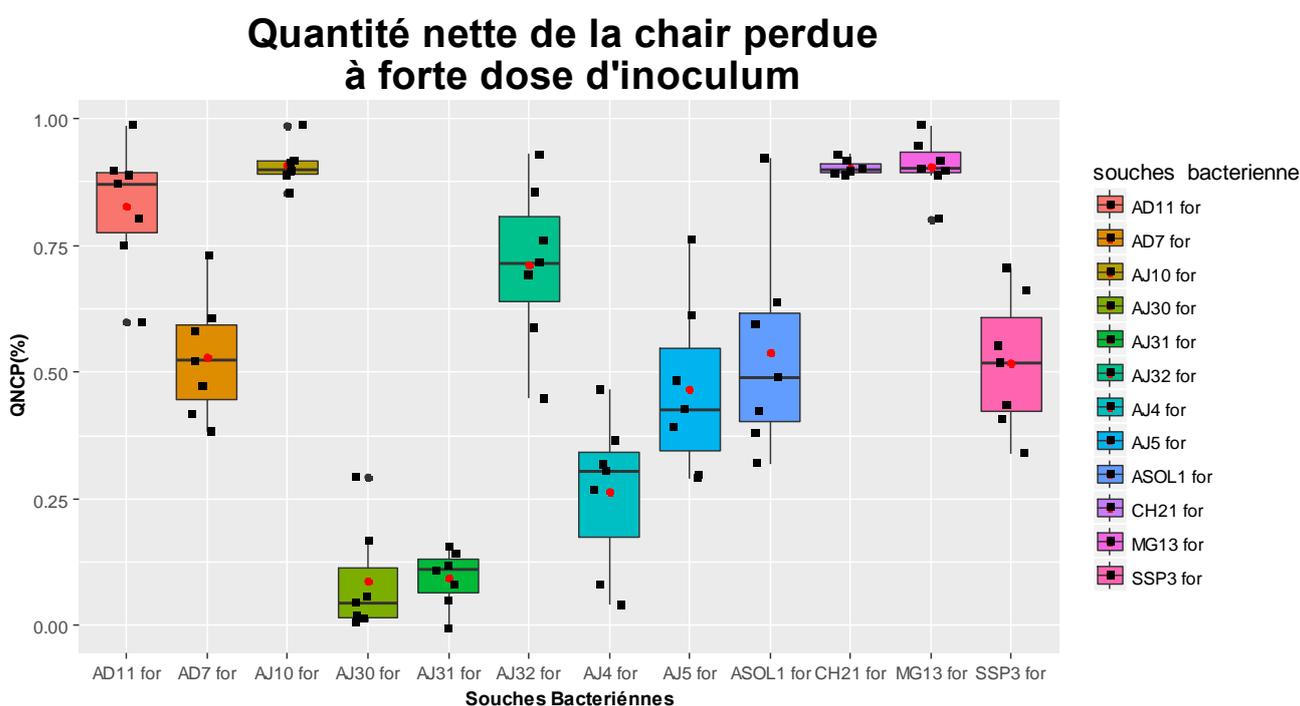


Figure 22 : La variation de la QNCP en fonction des isolats de *Pectobacterium* à forte quantité d'inoculum.

La **figure 22** nous indique que la quantité nette de la chair perdue entre les isolats est différente.

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

Les isolats très virulentes sont les isolats AJ10, MG13 et CH21 avec un pourcentage de la quantité de chair perdue $\geq 95\%$ où la pourriture des disques de pomme de terre inoculés est maximale, c'est-à-dire la totalité du disque est pourrie.

Les isolats AD11 et AJ32 sont des souches virulentes présentés un pourcentage de la quantité nette de la chair perdue de pomme de terre varie entre $83\% \leq Q_{ncp} \leq 95\%$ où la pourriture dépasse la moitié des disques de pomme de terre inoculée.

Les isolats AD7, AJ4, AJ5, ASOL1 et SSP3 sont moyennement virulentes et présentent un pourcentage de la quantité nette de la chair perdue de pomme de terre varie entre $45\% \leq Q_{ncp} \leq 66\%$. Les deux isolats AJ30, AJ31 considérés comme les moins virulents où la pourriture est minimale ne dépassent pas quelques mm du disque, elle présente un pourcentage de quantité de chair perdue égale à 15 %.

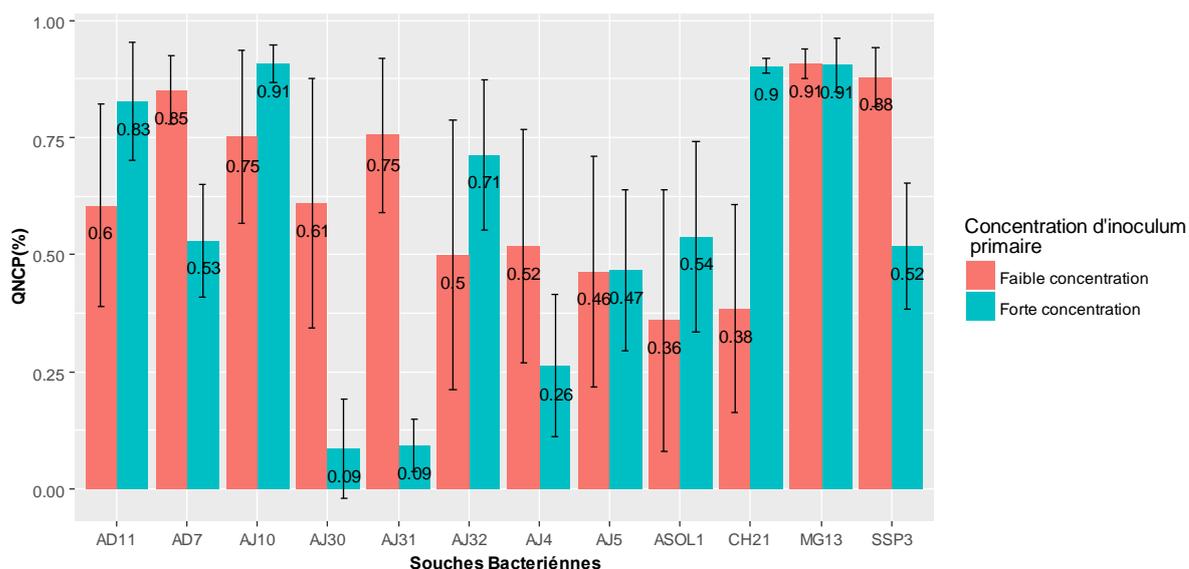


Figure 23 : Comparaison de la variation de la QNCP en fonction des isolats de *Pectobacterium* deux quantités d'inoculum testé.

L'analyse d'histogramme a indiqué que la quantité de la chair perdue est variable entre les deux concentrations. Nous avons observées qu'il y a des isolats sont très virulentes à faible concentration et possèdent une QNCP plus grande qu'à forte concentration car certaines souches à faible densité cellulaire libèrent des molécules signaux (NAHL) qui permet la transcription des gènes responsables à la synthèse des PCWDE et à haute densité cellulaire, de grandes quantités de NAHL sont produites, empêchant la synthèses des PCWDE comme : AD7, AJ30, AJ31, AJ4, MG13, SSP3.

Par contre, il y a des isolats qui sont très virulentes à forte concentration et possèdent une QNCP plus grande qu'à faible concentration ce qui explique que à faible densité cellulaire, une quantité limitée de NAHL donc, la transcription des gènes PCWDE est bloquée. A haute densité cellulaire, de grandes quantités de NAHL sont produites donc, la synthèse des PCWDE est très grande comme le cas des isolats : AD11, AJ10, AJ32, ASOL1, CH21. Concernant certaines souches la virulence reste le même à faible et à forte concentration comme : AJ5.

1.1.3 Test de Newman Keuls (à $\alpha = 5\%$)

A. Facteur concentration

Sur la base du test de Newman Keuls, on constate que les deux facteurs de concentration appartiennent au même groupe homogène (**tableau 03**).

Tableau 03 : Facteur concentration de Test de Newman Keuls à risque d'erreur $\alpha = 5\%$ pour la collection de nos isolats bactériens.

Facteur concentration	QNCP	Groupes
Faible concentration	0.6319075	A
Forte concentration	0.5626671	A

B. Facteur bactérie

Le facteur bactérie nous a révélé la présence de 10 groupes homogènes (**tableau 04**).

Tableau 04 : Les groupes de facteur bactérie de Test de Newman Keuls à risque d'erreur $\alpha = 5\%$ pour les isolats bactériens testés.

Facteur bactérie	QNCP	Groupes
MG13	0.9062242	A
AJ10	0.8295844	Ab
AD11	0.7159372	Abc
SSP3	0.6980703	Abcd
AD7	0.6905000	Abcd
CH21	0.6440552	Abcde
Aj32	0.6058815	Bcdef
AJ5	0.4649943	Cdef
ASOL1	0.4490964	Cdef
AJ31	0.4238389	Def
AJ4	0.3910509	Ef
AJ30	0.3482143	f

C. Facteur interaction (F. concentration x F. bactérie)

L'interaction entre facteur concentration et facteur bactérie est plus significative que le traitement de chaque facteur à part. **Le tableau 05** indique que l'interaction (F. concentration x F. bactérie) combine et diminue le nombre des groupes avec présence seulement de 07 groupes d'interactions. A titre d'exemple les isolats: AJ10 for, MG13 for et fai, CH21 for, SSP3 fai , AD7fai , AD11for, AJ31fai ,AJ10fai ,AJ32 for , AJ30 fai et AD11 appartiennent au même groupe (**a**). Un autre groupe (**b**) renferme les isolats : AJ31fai, AJ10fai, AJ32 for, AJ30 fai et AD11 fai, ces deux dernières isolats appartiennent aussi au groupe (**c**). Donc, ce traitement augmente le degré d'homogénéité entre les groupes et déminu le risque d'erreurs.

Tableau 05 : Les groupes de facteur interaction (F. concentration x F. bactérie) de Test de Newman Keuls à risque d'erreur $\alpha = 5\%$ pour l'ensemble des isolats bactériens testés.

Facteur interaction (F. concentration x F. bactérie)	QNCP	Groupes
AJ10 for	0.90731174	a
MG13 fai	0.90671429	a
MG13 for	0.90573410	a
CH21 for	0.90311031	a
SSP3 fai	0.87860465	a
AD7 fai	0.85057143	a
AD11 for	0.82758861	a
AJ31 fai	0.75471429	ab
AJ10 fai	0.75185714	ab
AJ32 for	0.71247737	ab
AJ30 fai	0.60985714	abc
AD11 fai	0.60428571	abc
ASOL1 for	0.53804990	bcd
AD7 for	0.53042857	bcd
AJ4 fai	0.51828571	bcd
SSP3 for	0.51753588	bcd
AJ32 fai	0.49928571	bcd
AJ5 for	0.46641711	bcd
AJ5 fai	0.46357143	bcd
CH21 fai	0.38500000	cd
ASOL1 fai	0.36014286	cd
AJ4 for	0.26381618	de
AJ31 for	0.09296348	e
AJ30 for	0.08657143	e

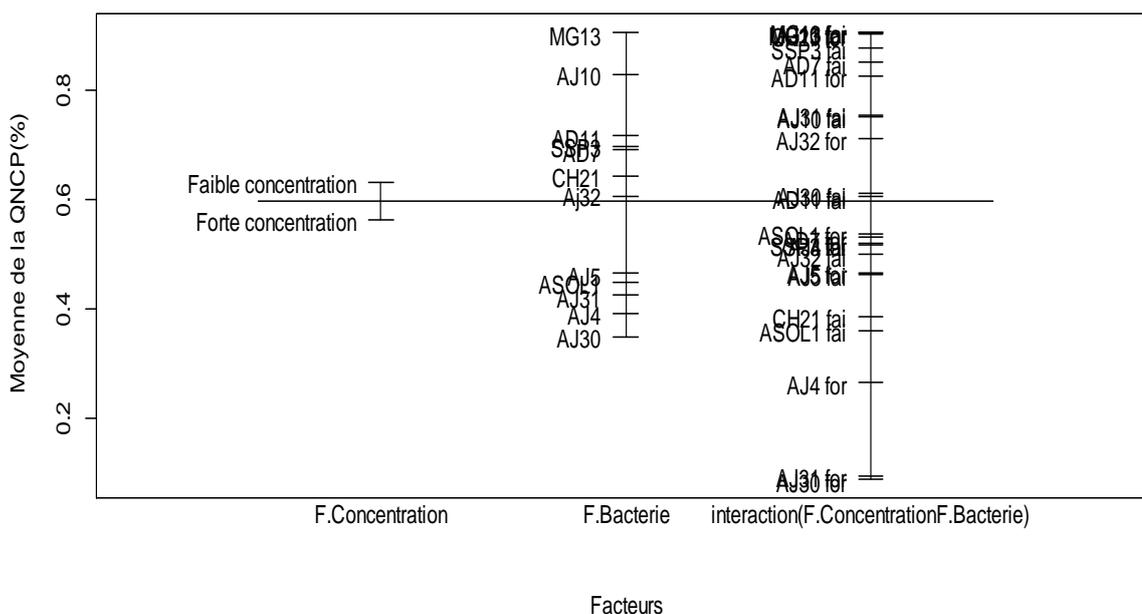


Figure 24 : Graphe récapitulatif du test de Newman-Keuls.

La figure 24 montre la comparaison de la variation de la QNCP en fonction des deux facteurs: le premier facteur "f. concentration" à deux concentrations différentes (faible et forte) et le deuxième facteur "f. bactérie" qui a montré la présence de deux groupes de souches bactériennes, un groupe de 07 isolats qui sont positifs et plus significatif à faible concentration et un autre groupe de 05 isolats moins significatif à forte concentration. Donc il'ya une différence remarquable entre le groupement des bactéries selon le facteur concentration.

La recombinaison entre le traitement des deux facteurs à la fois est plus significatif que le traitement de chaque facteur à part, car nous avons remarqué un groupe de 08 recombinaisons à faible concentration et un groupe de 9 recombinaison à forte concentration. Les groupes sont très proches les une des autres. Ce graphe récapitulatif du test de Newman-Keuls facilite la lecture des résultats avec un risque d'erreur réduit.

1.2 Réponse de la gamme d'hôtes testées

L'ensemble des plantes d'hôtes inoculées que nous avons testé ont répondu positivement se traduisant par l'apparition des symptômes similaire à celles de pomme de terre à savoir un aspect spongieux du disque, avec une couleur crème à brune foncée et une odeur nauséabonde.

1.2.1 Sur Carotte :

Parmi les 12 isolats inoculées, 07 isolats (58.33%) ont répondu positivement à l'inoculation *in vitro* de façon variable, et 05 isolats (41.66%) en plus le témoin n'ont pas présenté des symptômes de pourriture molle (**figure 25**).

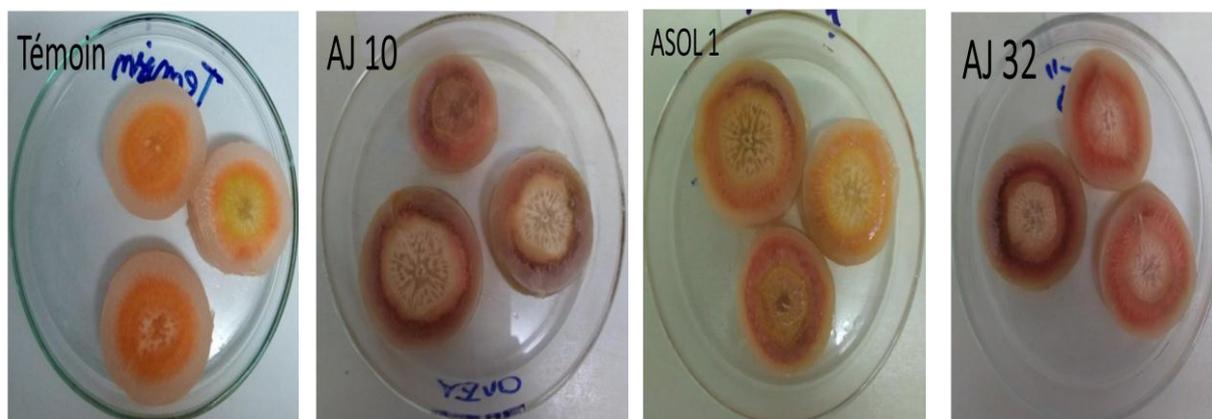


Figure 25 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de carotte inoculée après trois jours d'incubation à 28°C. T- : témoin négatif (l'eau distillée stérile).

1.2.2 Sur Fenouil :

Les 12 isolats inoculées, ont répondu positivement à l'inoculation *in vitro* de façon variable, le témoin n'a pas des symptômes de pourriture molle (**figure26**).

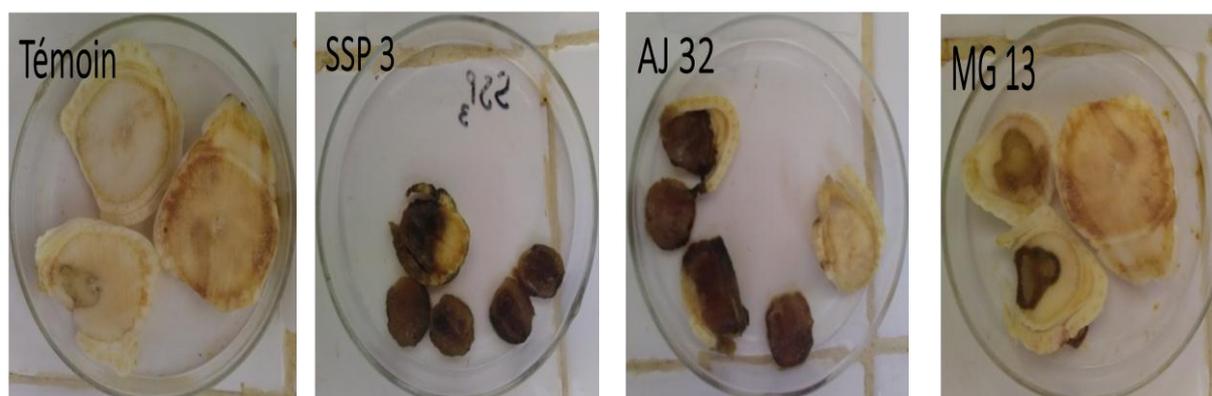


Figure 26 : Symptômes de pourriture molle sur les disques de fenouil inoculée après trois jours d'incubation à 28°C. T- : témoin négatif (l'eau distillée stérile).

1.2.3 Sur Oignon :

Les 12 isolats inoculés, ont répondu positivement à l'inoculation *in vitro* de façon variable, le témoin n'a pas des symptômes de pourriture molle (**figure27**).

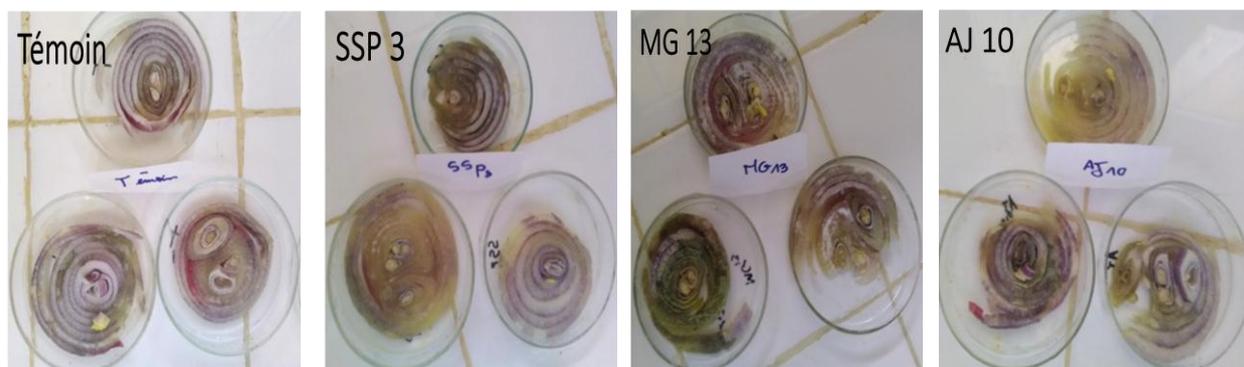


Figure 27 : Symptômes de pourriture molle sur les disques d'oignon inoculés après trois jours d'incubation à 28°C. **T-** : témoin négatif (l'eau distillée stérile).

A une forte concentration d'inoculum (10^6 CFU/ml), les résultats du test de pouvoir pathogène *in vitro* ont indiqué que la totalité des isolats (ASOL1, AD11, AJ10, AJ30, AJ31, AJ32, SSP3, MG13, AJ5, AD7, AJ4, CH21) permettant l'apparition des symptômes de pourriture molle chez la pomme de terre, l'oignon et le fenouil ; donc ces derniers sont sensibles à ces souches. Par contre la carotte a montré une sensibilité à la majorité des isolats (AJ31, CH21, AJ32, ASOL1, AJ10, AD11, AD7) et une résistance aux restes (AJ4, SSP3, MG13, AJ5, AJ30).

2 Test du pouvoir pathogène *In planta*

2.1 Faible concentration d'inoculum (10^2 CFU/ml):

Après inoculation des suspensions bactériennes, après 15 jours d'observation nous n'avons constaté aucun symptôme et ce pour les quatre variétés de pomme de terre testées Spunta, Bartina, Désiré et Fabula (**figure 28**).

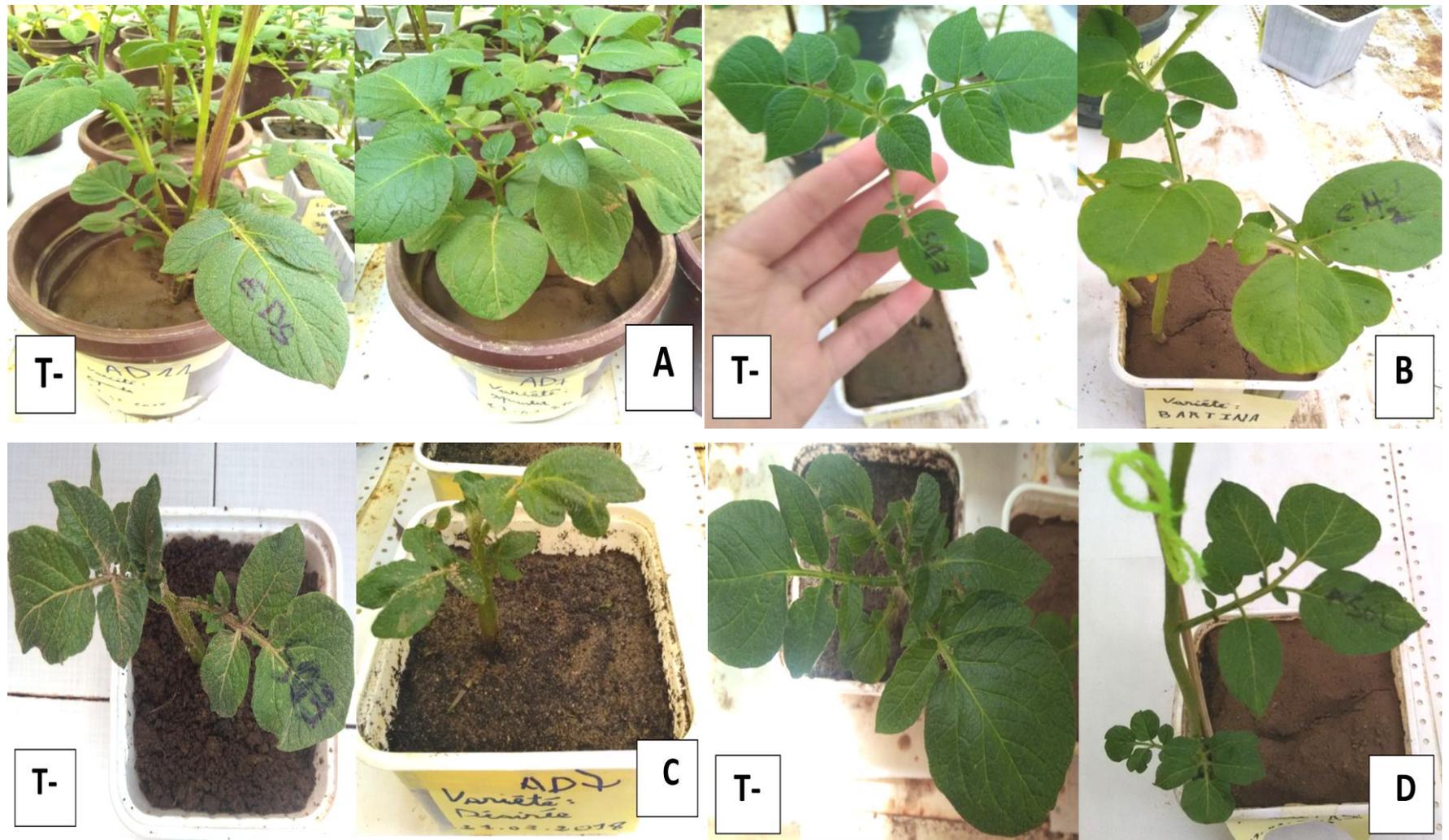


Figure 28 : La réponse des plants de pomme de terre des variétés Spunta(A), Bartina(B), Désiré(C) et Fabula(D) au test du pouvoir pathogène après 15 jours d'observation (Originale, 2018). T- : témoin négatif (l'eau distillée stérile).

2.2 Forte concentration d'inoculum (10^6 CFU/ml) :

Suite à l'inoculation artificielle des suspensions bactériennes et durant 15 jours, nous avons observé que les variétés de pomme de terre Spunta et Bartina répondent à l'inoculation, et expriment des symptômes allant de jaunissement sur les feuilles, de flétrissement et un brunissement et évoluant à des une nécrose marginale, tandis que pour les variétés Désiré et Fabula en plus du témoin négatif aucun symptôme ne s'est manifesté.

2.2.1 Sur la variété Spunta :

Concernant les plants de la variété Spunta testés avec les 12 isolats bactériens, nous avons constaté que 08 plants manifestent des symptômes cités précédemment sur les trois répétitions de chaque plant, ce qui représente 66.66% tandis que les 04 plants restants ont répondu négativement avec une absence de symptômes, soit un taux de 33.33% (**figure 29**).



Figure 29: Les différentes réponses des plants de pomme de terre de la variété Spunta au test du pouvoir pathogène après 15 jours d'inoculation (**Originale, 2018**).

(A) : un plant de la variété Spunta inoculé avec de l'eau distillé stérile (témoin négatif).

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

(C) : une réponse positive montre un jaunissement plus un une nécrose marginale des feuilles.

(D) : une réponse positive montre un brunissement plus un flétrissement des feuilles.

2.2.2 Sur la variété Bartina :

Parmi les plants de la variété Bartina testés avec les 12 isolats bactériens, nous avons observé que 04 plants manifestent des symptômes sur les trois répétitions de chaque plant, ce qui représente 33.33%, tandis que les 08 plants restants ont répondu négativement avec une absence de symptômes, soit un taux de 66.66% (**figure 30**).



Figure 30 : La réponse des plants de pomme de terre de la variété Bartina au test du pouvoir pathogène après 15 jours d'inoculation (**Originale, 2018**).

(A) : un plant de la variété de pomme de terre Spunta inoculé avec de l'eau distillée stérile (témoin négatif).

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

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

(D) : une réponse positive montre un jaunissement plus une nécrose marginale des feuilles.

2.2.3 Sur les variétés Désiré et Fabula :

Concernant les plants des deux variétés Désiré et Fabula testés avec les 12 isolats bactériens, nous avons constaté que les totalités des plants aucune réponse symptomatique n'a été observé (figure 31).



Figure 31 : La réponse des plants des deux variétés de pomme de terre Désiré et Fabula au test du pouvoir pathogène après 15 jours d'inoculation (Originale, 2018).

(A) : un plant de la variété de pomme de terre Désiré inoculé avec de l'eau distillée stérile (témoin négatif).

(B) : une réponse négative montre des feuilles saines de la variété de pomme de terre Désiré.

(C) : un plant de la variété de pomme de terre Fabula inoculé avec de l'eau distillée stérile (témoin négatif).

(D) : une réponse négative montre des feuilles saines de la variété de pomme de terre Fabula.

2.2.4 Sur la tomate :

Après 15 jours d'observation, les plants de tomate expriment des symptômes de jaunissement des feuilles, de flétrissement et une nécrose marginale suite à l'inoculation artificielle avec une forte concentration d'inoculum (10^6 CFU/ml), tandis que le témoin négatif ne manifeste aucun symptôme (**figure 32**).



Figure 32 : La réponse des plants de tomates après 15 jours d'inoculation (Originale, 2018).

- (A) : Un plant de tomate inoculé avec de l'eau distillé stérile (le témoin négatif).
- (B) : Une réponse positive qui montre le symptôme de jaunissement.
- (C) : Une réponse positive qui montre le symptôme de flétrissement total du plant inoculé et jaunissement.
- (D) : Une réponse positive qui montre le symptôme de panachure des feuilles.

2.3 Réponse de la réaction d'hypersensibilité

Après 48 heures d'inoculation, une isolat (AD11) parmi les isolats testés provoque la réaction d'hypersensibilité sur tabac sous forme de nécrose localisée au niveau de la partie infiltré (**figure 33**).



Figure 33 : Les résultats de la réaction d'hypersensibilité causée par les isolats bactériens testés
(Originale, 2018).

(A) : réaction d'hypersensibilité sous forme de nécrose localisé dans de la partie infiltrée.

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

Tableau 06 : Résultats du test du pouvoir pathogène inoculée par les isolats bactériens testés sur la gammes d'hôtes (Spunta, Bartina, Fabula/ Désiré, Tomate) et résultats de la réaction d'hypersensibilité sur tabac (à concentration d'inoculum = 10^6 CFU/ml).

Isolats/variedades	Spunta	Bartina	Fabula et Désiré	Tomate	Tabac
AJ5	+	-	-	+	-
AJ4	+	+	-	+	-
ASOL1	+	-	-	+	-
AJ32	+	-	-	+	-
AJ31	-	+	-	+	-
AD11	-	+	-	+	+
AJ30	+	-	-	+	-
CH21	-	+	-	+	-
SSP3	+	-	-	+	-
AJ10	+	-	-	+	-
MG13	-	-	-	+	-
AD7	+	-	-	+	-

A forte concentration d'inoculum (10^6 CFU/ml), les résultats du test de pouvoir pathogène *in planta* illustrées dans le **tableau 06** ont indiqué que dans l'ensemble de nos plantes hôtes testées, nous avons remarqué que certaines variétés de pomme de terre sont plus sensible à certaines isolats bactériens tandis qu'elles sont résistantes à d'autres, à l'exemple de Spunta qui est sensible à la majorité des isolats (AJ5, AJ4, ASOL1, AJ32, AJ30, SSP3, AJ10, AD7). Par contre, nous avons constaté que la variété Bartina est de moindre sensibilité, du fait qu'elle a exprimé des symptômes qu'envers quatre isolats seulement (AJ4, AJ31, AD11, CH21).

Nous avons remarqué aussi que les variétés Fabula et Désiré sont complètement résistantes à toute les isolas testées.

Chapitre IV :
Discussion des résultats

Chapitre IV : Discussion des résultats

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence le pouvoir pathogène d'une collection de isolats bactériens. Les résultats que nous avons obtenus, nous ont permis de développer les points suivants :

1 Le pouvoir pathogène et virulence des isolats

1.1 *In vitro*

Les bactéries pectinolytiques peuvent être à l'origine de plusieurs maladies de la pomme de terre, comme des pourritures de tiges appelées « jambe noire » et des pourritures de tubercules appelées « pourriture molle ». 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).

Le travail a été réalisé au niveau du laboratoire de phytobactériologie, qui consiste à étudier l'impact de la concentration d'inoculum primaire sur le développement des maladies liées aux *Pectobacterium sp*, les résultats de ce travail ont indiqué que l'ensemble des isolats testés sur les disques de pomme de terre ont répondu positivement en développant des symptômes de pourriture molle ce qui confirme l'aspect très virulent de ces souches testées.

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 système de régulation de l'expression de gènes en fonction de la densité cellulaire fait intervenir un signal qui doit être produit, diffusé et perçu par les bactéries. Le terme d'autoinducteurs a été utilisé pour définir ces molécules signal dont la concentration est directement corrélée à la densité bactérienne (Nealson *et al.*, 1970).

A faible densité cellulaire, la production de signaux QS via les homologues à LuxI se situe à un niveau basal. Dans ces conditions, les protéines ExpR1 et ExpR2 agiraient comme répresseurs de la production d'enzymes de dégradation de la paroi végétale (Cui *et al.*, 2005).

Chapitre IV : Discussion des résultats

A forte densité cellulaire, la formation du complexe ExpR / NAHL empêche ExpR d'activer la transcription de *rsmA*. La répression de l'expression des facteurs de virulence est levée et la production d'exoenzymes augmente considérablement. Le système *rsm* est donc directement en lien avec le système QS de *Pectobacterium*.

12 isolats ont été testés afin d'estimer l'influence de la virulence sur le développement des symptômes, l'observation des symptômes de pourriture a montré que la pourriture sur les disques de la pomme de terre de faible concentration est plus grande que sur les disques de forte concentration).

La progression de la pourriture molle est particulièrement rapide lorsque les températures sont chaudes. La température optimale de croissance de la bactérie est de 28 °C, mais la croissance, bien que lente, peut se poursuivre à des températures aussi basses que 1 à 2°C (Richard et Boivin., 1994).

Les maladies causées par *Erwinia* sont fortement influencées par la présence d'eau libre au site d'infection. Leur survie et reproduction sont favorisées par des surfaces mouillées et la population diminue rapidement lorsque la surface s'assèche. Dans des études aux champs de pomme de terre, Pérombelon (1978) (cité dans Ludy et al., 1997) détecte *E. carotovora* aussi longtemps que la surface demeurait mouillée, mais ne pouvait plus détecter la bactérie que 1 à 2 journées après assèchement de la surface.

Nos résultats indiquent l'effet capital de l'humidité et de la température sur le développement des symptômes de pourriture molle sur les disques de pomme de terre.

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, etc. (Kettani Halabi., 2014).

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 12 isolats qui ont été testé 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.

Les isolats 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 isolats 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).

1.2 *In planta*

La deuxième étape de notre travail consistait à inoculer les isolats bactériens dans des plants : la pomme de terre (Spunta, Désirée, Bartina, Fabula) et la tomate afin de tester le pouvoir pathogène de nos isolats sur ces deux plantes qui sont considérées des plantes hôtes.

Concernant le mode d'inoculation, nous avons utilisé la méthode par injection des tiges qui permette l'apparition des symptômes plus rapidement que celle de l'inoculation au sol. Ceci peut être expliqué par la nature de l'injection qui au niveau des vaisseaux conducteurs permettant au flux de la sève d'entraîner les bactéries par voie systémique dans les étages supérieurs de la plante en un temps court ; tandis que lorsque les bactéries sont inoculées dans le sol, elles

prennent plus de temps pour pénétrer dans la plante et à atteindre les tissus vasculaire (Taffifet, 2008).

Les bactéries colonisent d'abord les vaisseaux du xylème de la plante et se multiplient par la suite dans les espaces intercellulaires de l'hôte en sécrétant une série de pectinases qui dégradent la paroi mitoyenne des cellules et déstabilisent le parenchyme provoquant ainsi la macération des tissus. Ces phénomènes interrompent le transport de l'eau et des éléments minéraux, vers le sommet de la plante, provoquant des symptômes de flétrissement et de jaunissement du feuillage (Hélias et al., 2000a).

Après 15 jours d'observation, 12 plants de pomme de terre (08 plants pour la variété Spunta et 04 plants pour la variété Bartina) et 12 plants de tomate présentent différents symptômes de stress biotique à savoir le jaunissement des feuilles, une nécrose marginale, la chute des feuilles et le flétrissement.

Les végétaux possèdent des défenses dites préformées ou passives qui constituent les premières remparts face aux attaques des phytopathogènes ou ravageurs. Elles comprennent des barrières physiques et d'autres chimiques (Gérard., 2014).

Les mécanismes de résistance de l'hôte contre l'infection pathogène comprennent diverses réponses constitutives et inductives, y compris la réponse hypersensible (désorganisation et granulation du cytoplasme cellulaire au site de l'attaque pathogène), l'augmentation de l'activité de l'oxygène actif et des enzymes oxydatives, la synthèse des phytoalexines, le métabolisme des composés phénoliques (Nicholson et Hammerschmidt., 1992) et des modifications de la paroi cellulaire (Hammerschmidt et Nicholson., 1999).

Les modifications de la paroi cellulaire comprennent l'épaississement et le renforcement de la paroi cellulaire locale, l'encapsulation des pathogènes pénétrants dans les cellules mortes et souvent lignifiées et subérifiées, et même la formation des nouvelles couches de cellules autour du site de tentative d'entrée microbienne (Moerschbacher et Mendgen., 2000).

Une teneur élevée en calcium dans la plante hôte a été associée à la résistance aux maladies dans de nombreuses plantes (Bateman et Lumsden, 1965 ; Bateman et Millar, 1966 ; Forster et Echandi, 1975 ; McGuire et Kelman, 1983 ; 1984). Les plantes cultivées dans des conditions de Ca²⁺ élevées ont montré une résistance à la pourriture molle. Une résistance accrue dans les tissus riches en calcium a été attribuée à une diminution de la macération due au

dépôt de calcium dans la paroi cellulaire sous forme de pectate de calcium, entraînant une amélioration structurale de l'intégrité de la paroi cellulaire (McGuire et Kelea., 1993).

Après 15 jours d'observation, 24 plants de pomme de terre (12 plants pour la variété Désirée et 12 plants pour la variété Fabula) ne présentent aucun symptôme.

Les résultats menés ont permis de démontrer qu'il existe bien des différences de sensibilité variétale au développement des symptômes causés par les bactéries pectinolytiques. En effet, la variété Désirée et Fabula et le tabac ont montré moins sensible à ces pathogènes que les variétés Spunta et Bartina et la tomate.

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

2 Réaction d'hypersensibilité

C'est un mécanisme particulier de résistance mise en place en réponse aux agressions par les agents pathogènes (Bouarab., 2000). La HR présente deux caractéristiques majeures, apparition des lésions nécrotiques au niveau de chaque point d'infection (due à la mort de quelques cellules végétales entourant les cellules infectées) et l'accumulation de molécules antimicrobiennes autour des zones infectées (Greenberg., 1997).

La HR est souvent associée à la synthèse de protéine PR, le renforcement des parois cellulaires ainsi que la production de composés antimicrobiens comme les phytoalexines (Hammond-Kosack et Jones, 1996 ; Ryals et al., 1996). La synthèse d'hormones telles que l'acide salicylique, l'acide jasmonique ou l'éthylène qui est également impliquée dans l'induction et la régulation de la HR (Brodersen et al., 2005; Zhang et al., 2011).

Comme la HR est caractérisée par une plasmolyse finale des cellules (Yu and Choi., 2000). Ce mécanisme de défense est particulièrement efficace pour contrer l'invasion de certains agents pathogènes, notamment les champignons biotrophes. En revanche chez les nécrotrophes, la HR ne suffit pas à restreindre leur colonisation (Glazebrook., 2005).

Nous avons réalisé le test d'hypersensibilité sur le tabac pour le diagnostic biologique des organismes phytopathogènes. Dans notre cas, parmi les 12 isolats testées, une isolat (AD11) provoque la réaction d'hypersensibilité sur le tabac sous forme d'une nécrose localisée sur la face supérieure de la feuille.

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

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

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

11 isolats (91.67%) inoculés sur tabac ne causent pas une réaction d'hypersensibilité, ça peut être expliquer par le fait que certaines bactéries ne déclenchent pas cette réaction sur le tabac. Bien que certaines bactéries phytopathogènes comme dans le cas d'*E. Chrysanthemi* qui possède un arsenal d'enzymes déprédatifs, l'infection est si brutale que la plante n'a pas le temps de mettre en place une réponse hypersensible (Costa et Loper., 1994).

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

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

La culture de pommes de terre est très sensible aux ravageurs, aux maladies et aux problèmes de qualité qui entraînent une augmentation du coût des intrants pour éviter des pertes économiques.

Les bactéries de la pourriture molle causent des pertes énormes dans les cultures agricoles en raison de la dynamique de leur population, de la complexité du groupe de pathogènes, de l'ubiquité, de la virulence, de la variation de l'expression des symptômes et de leur capacité à se multiplier rapidement. Sur le terrain, la plus importante source d'inoculum de bactéries de la pourriture molle est la descendance des tubercules contaminés par la carie des tubercules.

La pathogénicité des pectobactéries de la pourriture molle repose principalement sur la production d'enzymes extracellulaires dégradant les parois des cellules végétales. Pour assurer une infection réussie sans déclencher la résistance de l'hôte, l'expression de ces facteurs de pathogénicité est étroitement contrôlée par la régulation de la densité cellulaire (détection de quorum). Dans les bactéries de pourriture molle, la pathogénicité nécessite également un certain nombre de systèmes de sécrétion de protéines pour transporter des déterminants pathogènes vers l'environnement extracellulaire pour attaquer physiquement les cellules hôtes.

Les résultats du premier test (*in vitro*) nous ont indiqué que la majorité de nos isolats sont virulents, développant ainsi une réaction de pathogénicité sous forme de dégradation des tissus infectés qui deviennent spongieux et mou, avec une couleur crème à brune foncée, dégageant une forte odeur nauséabonde.

Par la suite, la réalisation du test du pouvoir pathogène (*in planta*) a montré que sur un total de 12 souches testées et inoculées aux quatre variétés de pomme de terre (Spunta, Désirée, Fabula, Bartina). A faible concentration (10^2 CFU/ml) : Aucune souche n'a répondu positivement, ce qui correspond probablement à l'étape primo-invasive des bactéries.

A forte concentration (10^6 CFU /ml) : 8 isolats ont répondu pour la variété Spunta et 04 isolats ont répondu positivement pour la variété Bartina provoquant des symptômes de jaunissement, flétrissement, brunissement et nécroses marginales du feuillage.

Concernant les deux autres variétés, aucune isolats n'a répondu positivement donc n'ont pas présenté des symptômes.

De même, le test du pouvoir pathogène sur tomate, montre que la totalité des plants de tomate testées ont réagi positivement à l'inoculation ce qui signifie que 100% des souches provoquent des symptômes de jaunissement, flétrissement et de brunissement des feuilles. Ceux qui nous ont donné une réponse significative sur la totalité de la gamme d'hôtes utilisées appartenant aux différentes familles *Solanacées*, *Ombellifères* et *Liliacées*.

Les résultats du dernier test d'hypersensibilité sur tabac (HR) nous a indiqué que un seul isolat a répondu positivement au test sous forme d'une nécrose localisée sur la partie infiltrée de la feuille de tabac. Tandis que les 11 isolats restants ont répondu négativement malgré leur fort pouvoir pathogène sur les autres plantes testées. Ceci peut être expliquer par le fait que le tabac n'est pas une plante hôte.

Les différentes réponses aux tests réalisés, nous permettent de constater que nos souches bactériennes appartiennent à différents groupes d'agents de pourriture molle.

La concentration d'inoculum est importante dans le développement des maladies, notre étude reflète le rôle essentiel de la concentration d'inoculum bactérien. Particulièrement, dans la pourriture molle chez la pomme de terre, dont d'une part concernant les résultats du premier test (*in vitro*) ont indiqué un développement des symptômes plus grand à faible concentration (10^2 CFU/ml) que à forte concentration (10^6 CFU/ml). D'autre part les résultats du test (*in planta*) ont été totalement le contraire. Cela signifie que les effets de la concentration d'inoculum varie selon plusieurs facteurs tels que l'humidité et la température...etc. *In vitro*, les conditions sont 'contrôlées':pourriture plus prononcée/aux tests *in planta*.

L'inoculum qui déclenche l'épidémie est appelé inoculum primaire et l'infection provoquée par celle-ci est appelée infection primaire (Butt et Royle., 1980). Ce processus est appelé propagation primaire. D'autre part, l'inoculum secondaire et l'infection secondaire se produisent seulement dans les maladies polycycliques. Ce processus est appelé propagation secondaire (A. Bergamin Filho et al.,2015).

La lutte contre les agents pathogènes de la jambe noire et de la pourriture molle est limitée par le manque de moyens et de mécanismes appropriés pour traiter les pathogènes. Les informations sur les stratégies de survie de ces pathogènes dans divers environnements est limitée, mais peut diminuer l'inoculum dans les tubercules :

- Plantez des tubercules certifiés exempts de maladies dans un sol bien drainé à une température inférieure à 10°C.
- Plantez les tubercules de semence dans des conditions favorisant l'émergence rapide.
- Nettoyez et désinfectez les outils et l'équipement utilisés pour couper et planter les semences.
- Évitez de blesser les tubercules pendant la coupe, la plantation et la récolte.
- Utilisez une rotation des cultures de deux ans ou plus avec une culture non hôte.
- Évitez la sur-irrigation.
- Évitez les conditions humides pendant la récolte pour empêcher le sol de coller aux peaux de tubercules.
- Entreposez les lots de pommes de terre contaminés séparément.
- Vérifiez régulièrement les stockages pour l'augmentation de température et les odeurs.
- Séchez les pommes de terre avant de les entreposer ou de les expédier.
- En entrepôt, l'élimination des tubercules montrant de la pourriture permet de diminuer l'inoculum présent. De plus, le maintien d'une température basse et de conditions aussi sèches que possible permet de diminuer le développement de pourriture molle. Un bon contrôle des insectes permet également de diminuer la dissémination des bactéries.

Différents travaux à venir seront nécessaires pour finaliser et confirmer nos conclusions, ceci par des approches systémiques en explorant les différentes réactions liées à cette interaction pathogène. De même, il serait intéressant d'extrapoler notre méthodologie sur d'autres plantes cibles et sur d'autres pathologies végétales.

➤ **Perspectives :**

- Extrapoler notre méthodologie sur d'autres plantes hôtes cibles et pour d'autres pathologies végétales.
- Les différentes réactions liées à cette interaction pathogène sont liées à des facteurs génétiques (plante hôte et le pathogène)...il serait intéressant de les déterminer.
- *Les Pectobacterium et Dickeya spp.-like* utilisées dans cette étude sont basées sur des critères biochimiques et biologiques uniquement, leur identification par voie moléculaire est indispensable.

Liste des références bibliographiques

Liste des références bibliographiques

- **Adams, MJ, et G.A. Hide., 1981.** Effects of common scab (*Streptomyces scabies*) on potatoes. *Ann. Appl. Biol.* 98:211-216.
- **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., 2011.** Antagonisme bactérien sur des souches d'*Erwinia* spp. pectinolytiques agents de la pourriture molle de la pomme de terre. *Memoire.,Magister.,*140 p.
- **Anonyme., 2008a.** FAO *Année internationale de la pomme de terre: Eclairage sur un trésor enfoui.* Compte rendu de fin d'année. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, Rome, ISBN : 978-92-5-306142-7,148 p.
- **Anonyme., 2012.** FAOSTAT: Food and Agriculture Organization Of The United Nations, <http://faostat.fao.org>.
- **Anonyme., 2017.** Jambe noire de la pomme de terre et pourriture molle bactérienne : le point sur *Pectobacterium Sp.* et *Dickeya Sp.*
- **Armon, R., Dosoretz, C., Yoirish, A., Shelef, G., and Neeman, I., 1995.** Survival of the phytopathogen *Erwinia carotovora subsp. carotovora* in sterile and non-sterile soil, sand and their admixture. *J. Appl. Bacteriol.* **79**, 513– 518.
- **Arora, R.K., Khurana, S.M.P., 2004.** Major Fungal and Bacterial Diseases of Potato and their Management. In, Mukerji,K.G. (ed), *Fruit and Vegetable Diseases.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 189–231.
- **Augustin MOH, A., 2012.** Etude des facteurs écologiques influençant la croissance et le développement des *pectobacterium* spp infectant les tubercules de pomme de terre. Thèse de Doctorat en sciences Agronomiques et ingénierie biologique. Université de Liege gembloux agro-bio tech, Belgique, 110 p.
- **Bain, R.A., Perombelon, M.C.M., Tsrer, L., and Nachmias, A., 1990.** Blackleg development and tuber yield in relation to numbers of *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* on seed potatoes. *Plant Pathol.*,**39**, pp.125–133.
- **Barnard, A.M.L., Salmond, G.P.C., 2007.** Quorum sensing in *Erwinia* species. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.*, **38**, pp. 415-423.

- **Bateman, D. F. and Lumsden, R. D., 1965.** Relation of calcium content and nature of the pectic substances in bean hypocotyls of different ages to susceptibility to an isolate of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathol.*, **55**, pp.734 - 738.
- **Bateman, D. F. and Millar, R. L., 1966.** Pectic enzymes in tissue degradation. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **4**, pp. 119 - 139.
- **Bell, K.S., Sebaihia, M., pritchard, L., Holden, M.T., Hyman, L.J., Holeva, M.C., Thomson, N.R., Bentley, S.D., Churcher, L.J., Mungall, K., Atkin, R., Bason, N., Brooks, K., Chillingworth, T., Clark, K., Doggett, J., Fraser, A., Hance, Z., Hauser, H., Jagels, K., Moule, S., Norbertczak, H., ormond, D., Price, C., Quail, M.A., Sanders, M., Walker, D., whitehead, S., Salmond, G.P., Birch, P.R., Parkhill, J., Toth, I.K., 2004.** Genome sequence of the enterobacterial phytopathogen *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* and characterization of virulence factors. *Proc Natl Acad Sci USA*. **101**: 05-10.
- **Bergamin Filho, A., Inoue-Nagata, A. K. Bassanezi, R. B., Belasque Jr, J., Amorim , L. Macedo, M. A., Barbosa, J. C., Willocquet, L. et Savary, S., 2015.** The importance of primary inoculum and area-wide disease management to crop health and food security.
- **Bessadat, N., 2014.** Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsable de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Université d'Oran ES-SENIA, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 213p. Biotechnologie et signalisation cellulaire, UMR 7242, Equipe (transports membranaires bactériens).
- **Bouarab, K., 2000.** Bases biochimiques et cellulaires des interactions plante-pathogène dans le système *Chondrus crispus*–*Acrochaete operculata*. Université de Paris VI. France, 163p.
- **Boucher, C.A., Gough C.L., Arlat, M., 1992.** Molecular genetics of pathogenicity determinants of *Pseudomonas solanacearum* with special emphasis on *hrp* genes. *Annu Rev Phytopathol.*, **30**, pp 443-461.
- **Bradbury, J.F., 1977.** *Erwinia carotovora var. atroseptica*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonw. Mycol. Inst., Kew. Surrey, Angleterre. 2 pp.
- **Brodersen, P., Malinovsky, F.G., Hematy, K., Newman, M.A., and Mundy, J., 2005.** The role of salicylic acid in the induction of cell death in *Arabidopsis acd11*. *Plant Physiology.*, **138**, pp1037-1045.
- **Bruno, J. Bernard., 2009.** Guide technique de la culture de la pomme de terre en Afrique de l'ouest.

- **Butt, D. J., & Royle, D. J., (1980).** The importance of terms and definitions for a conceptually unified epidemiology. In: **Palti, J. and Kranz, J.**(Eds.), Comparative epidemiology. A tool for better disease management (pp. 29–49). Wageningen: Pudoc
The importance of primary inoculum and... (PDF Download Available).
- **Charkowski, A.O., 2006.** The Soft Rot Erwinias. In: **Samuel, S.G.** (Ed.). Plant-Associated Bacteria, pp. 423-505.
- **Charkowski, A.O., 2007.** The Soft Rot *Erwinia*. In: Plant-associated bacteria, (Springer), pp 423-505.
- **Charkowski, A.O., 2009.** Decaying signals: will understanding bacterial–plant communications lead to control of soft rot, *Curr. Opin. Biotechnol.* **20**, 178–184.
- **Chatterjee, A., Cui, Y., and Chatterjee, A.K., 2002.** Regulation of *Erwinia carotovora* hrpLEcc (sigma-LEcc), which encodes an extracytoplasmic function subfamily of sigma factor required for expression of the HRP regulon. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **15**, pp 971-80.
- **Chatterjee, A., Liu, Y., Chatterjee, A.K., 1995.** Nucleotide sequence of a pectate lyase structural gene, pel1 of *Erwinia carotovora subsp. carotovora* strain 71 and structural relationship of pel1 with other pel genes of *Erwinia species*. *Molecular Plant-Microbe Interactions.*, **8**, pp 92-95.
- **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**,pp 220-227.
- **Cornelis GR, Van Gijsegem F., 2000.** Assembly and function of type III secretory systems. *Annual Review of Microbiology* **54**:735-774.
- **Costa JM et Loper JE., 1994.** Characterization of siderophore production by the biological-control agent *Enterobacter cloacae*. *Mol Plant Microbe Interact* **7**: 440-448.
- **Crepin, A., Barbey, C., Beury-Cirou, A., Helias, V., Taupin, L., Reverchon, S., Nasser, W., Faure, D., Dufour, A., Orange, N., et al., 2012a.** Quorum Sensing Signaling Molecules Produced by Reference and Emerging Soft-Rot Bacteria (*Dickeya* and *Pectobacterium spp.*). *PLoS ONE* **7**, e35176.
- **Crepin, A., Beury-Cirou, A., Barbey, C., Farmer, C., Helias, V., Burini, J.-F., Faure, D., Latour, X., 2012b.**N-Acyl Homoserine Lactones in Diverse *Pectobacterium* and *Dickeya* Plant Pathogens: Diversity, Abundance, and Involvement in Virulence. *Sensors* **12**, 3484–3497.

- **Cui, Y.Y., Chatterjee, A., Hasegawa, H., Dixit, V., Leigh, N., and Chatterjee, A.K. (2005)** ExpR, a LuxR homolog of *Erwinia carotovora* subsp *carotovora*, activates transcription of *rsmA*, which specifies a global regulatory RNA-binding protein. *Journal of Bacteriology* **187**: 4792-4803.
- **Czajkowski, R., De Boer, W., Van Veen, J., Van der Wolf, J., 2012.** Characterization of bacterial isolates from rotting potato tuber tissue showing antagonism to *Dickeya* sp. biovar 3 in vitro and in planta. *Plant Pathology.*, **61**, pp 169-182.
- **Czajkowski, R., De Boer, W.J., Velvis, H., and Van er Wolf, J.M., 2010b.** Systemic colonization of potato plants by a soilborne, green fluorescent protein-tagged strain of *Dickeya* sp. biovar 3. *Phytopathology* ., **100**, pp 134–142.
- **Czajkowski, R., Grabe, G.J., and van der Wolf, J.M. 2009.** Distribution of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in naturally infected seed potatoes. *Eur. J. Plant Pathol.*, **125**, pp 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.
- **Dallaire, C., 2008.** Les agents pathogènes (*Streptomyces* et *Spongospora*) responsables des gales que l'on retrouve chez la pomme de terre. Laboratoire de diagnostic en phytoprotection, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), Canada, pp 8.
- **De Boer, S.H., 1994.** Prospects for control of potato diseases caused by pectolytic *Erwinia*e. *Advances in Potato Pest Biology and Management*, APS Press., pp136-148.
- **Delepelaire, P., Wandersman, C., 1991.** Characterization, localization and transmembrane organization of the three proteins PrtD, PrtE and PrtF necessary for protease secretion by the gram-negative bacterium *Erwinia chrysanthemi*. *Mol Microbiol.*, **5**:2427-34.
- **Dickey, R.S., H.Z., C., and K.U., J. 1984.** *Erwinia chrysanthemi*: Serological relationships among strain from several hosts. *Phytopathology* **11**: 1388-1394.
- **El-Hendawy, H. H., Osman, M. E. & Ramadan, H. A., 2002.** Pectic enzymes produced *in vitro* and *in vivo* by *Erwinia* spp. isolated from carrot and pepper in Egypt. *Journal Phytopathology.*, **150**: 431 – 438.
- **Elphinstone, J., and Perombelon, M.C.M., 1986.** Contamination of Progeny tubers of potato plants by seed- and leaf-borne *Erwinia carotovora*. *Potato Res.*, **29**, 77–93.

- **Erbs, G., NEWMAN, M.A., 2012.** The role of lipopolysaccharide and peptidoglycan, two glycosylated bacterial microbe-associated molecular patterns (MAMPs), in plant innate immunity. *Molecular plant pathology.*, **13**, 95-104.
- **FAOSTAT., 2012.** Food And Agriculture Organization Of The United Nations.
- **Faucher, E., Otrysko, B., Paradis, E., Hodge, N.C., Stail, R.E, et Beaulieu, C., 1993.** Characterization of streptomycetes causing russet scab in Québec. *Plant Dis.* **77**:1217-1220.
- **Ferluga, S., Steindler, L., Venturi, V. 2008.** N-Acyl Homoserine Lactone Quorum Sensing in Gramnegative Rhizobacteria. In *Soil Biology, Secondary Metabolites in soil ecology*, (Springer), pp 69-90.
- **Fiori, M. & Schiaffino, A. 2004.** Bacterial stem rot in greenhouse pepper (*Capsicum annuum* L.) in Sardinia (Italy): Occurrence of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *Journal of Phytopathology.*, **152**: 28 – 33.
- **Forster R. L. and Echandi, E. 1975.** Influence of calcium nutrition on bacterial canker of resistant and susceptible *Lycopersicon* spp. *Phytopathol.*, **65**: 84 - 85.
- **Fraaije, B.A., Appels, M., De Boer, S.H., Van Vuurde, J.W. L. & Van den Bulk, R.W. 1997.** Detection of soft rot *Erwinia* spp. on seed potatoes: conductimetry in comparison with dilution plating, PCR and serological assays. *European Journal of Plant Pathology.*, **103**: 183 – 193.
- **Fuqua, W.C., Winans, S.C., Greenberg, E.P., 1994.** Quorum sensing in bacteria: the LuxRLuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *Journal of bacteriology* **176**, 269.
- **Galán, J.E, Collmer, A., 1999.** Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. *Science* **284**:1322-1328.
- **Geoffroy, V., Moser, M. A., 2014.** Fiche irebs, Institut de recherche de l'école de Biotechnologie et signalisation cellulaire, UMR 7242, Equipe (transports membranaires
- **Gerard, C.M., 2014.** Caractérisation d'inhibiteurs de protéases lors de l'interaction entre la vigne et *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat en Biologie et pathologie végétale. Université de Reims Champagne- Andrenne, France.
- **Glazebrook, J., 2005.** Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology.*, **43**: 205-227.
- **Greenberg, J.T., 1997.** Programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Annual review of plant biology* **48**, 525-545.

- **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. and Manulis, S., 2001.** Detection, quantification and characterization of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* contaminating pepper seeds. *Plant Patholog.*, **50**: 117-123.
- **Haddad, S et Moualek, F., 2016.** Isolement et identification de bactéries pectinolytiques à partir de pomme de terre.
- **Haddane, R., 2013.** Détection et identification des principaux genres bactériens isolés de quelques variétés de pomme de terre dans différentes régions de l'Algérie. Université de Blidam.Memoire.,Magister.,80 p.
- **Hammond,K et Jones, J.D.G., 1996.** Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Celle.*,**8**:1773-1791.
- **Harkabi, H., 2016.** Evaluation des facteurs favorisant le développement des *Pectobacteria* sur la pomme de terre. Université Blida 1.53 p.
- **Hatsch, D., 2004.** Interaction hôte/pathogène: étude du modèle *Humulus lupulus/Fusarium graminearum*: Identification, génomique et transcriptomique du pathogène. Strasbourg 1.
- **Hauben, L., Swings, J., 2005.** Genus XIII. *Erwinia*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.*, **2**, 670-679.
- **Hayward, A. C., 1991.** Biology and epidemiology of bacteria wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytoathol.* 29pp. 65-87. **Hélias, V., 2008.** *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp.de la pomme de terre : nouvelle nomenclature pour *Erwinia* spp., symptomatologie, épidémiologie et prophylaxie, *C.Agricultures*, **4**:349-354.
- **Hélias, V., Andrivon, D., Jouan B., 2000.** Internal colonization pathways of potato plants by *Erwinia carotovora* ssp. *Atroseptica*. *Plant Pathology.* **49**, 33-42.
- **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. *Eur. J. Plant Pathol.* **104**, pp 685–699.
- **Henz, G. P., Reifschneider, F.J.B. and Duarte, V., 2006.** *Erwinia chrysanthemi*: pectolytic bacterium causing soft rot outbreaks of arracacha in Brazil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* **41**: 1567 – 1571.

- **Hérault, E., 2013.** Régulation de la synthèse des facteurs de virulence par la température chez la bactérie phytopathogène *Dickeya dadantii*.
- **Herlache, Kzhanghs, Ridecl, Carlesa, Zhengd, Basaranap, Thekerm, Burrat, B uur TJ., 2001.** Mutation that affect *Agrobacterium vitis* induced grape necrosis also after its ability to cause a hypersensitive response on the tobacco, phtopathology **91**, 966-972p.
- **Hossain, M.M., Shibata, S., Aizawa, S.-I., Tsuyumu, S., 2005.** Motility is an important determinant for pathogenesis of *Erwinia carotovora subsp. carotovora*. Physiological and molecular plant pathology .**66**, pp 134-143.
- **Howard, R.J., Garland, J.A., 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: pp 1-554. <http://faostat.fao.org>.
- **Jean, C., 2000.** Maladies, insectes nuisibles et utiles de la pomme de terre : Guide d'identification. Institut de Recherche et de Développement en Agroenvironnement (IRDA). Sainte-foy, Quebec, 32p.
- **Johnson, T.L., Abendroth, J., Hol, W.G., Sandkvist, M., 2006.** Type II secretion: from structure to function. FEMS Microbiol Lett. **255**:175-86.
- **Jorge, P.E., and Harrison, M.D., 1986.** The association of *Erwinia carotovora* with surface water in Northeastern Colorado. I. The presence and population of the bacterium in relation to location, season and water temperature. Am. Potato J. **63**, 517–531.
- **Kapsa, J.S., 2008.** Important Threats in Potato Production and Integrated Pathogen/Pest Management. Potato Res. **51**, 385–401.
- **Kettani Halabi, M., 2012.** Etude de la diversité de *Pectobacterium* spp et des effets induits par les lipopolysaccharides chez les plantes. Thèse de doctorat, Université Paris sud, France, 218p.
- **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.
- **Khay, S., 2015.** Génomique comparative des bactéries *Dickeya solani* et *Pectobacterium wasabiae*, pathogènes émergentschez *Solanum tuberosum* .Université Paris Sud,France,146p.
- **Khimoum, M., Meddouri, A., 2016.** Extraction et dosage de la phénylalanine ammonialyase (PAL) des végétaux infectés par *Pectobacterium / Dickeya* sp. Université A. MIRA – Bejaia,37p.

- **Ladjouzi, R., 2007.** Recherche et identification des *Pectobacterium*, agents de la pourriture molle sur différentes plantes hôtes: pomme de terre, tomates et carottes. Mémoire de Magister Université Abderrahmane Mira de Béjaia. p1.
- **Lagha, S., 2007.** Effet des extraits de plantes (*Pistacia lentiscus* L. et *Olea europaeasativa*) et d'un co-produit (grignon d'olive) sur la croissance de *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* sur *Solanum tuberosum* L. Mémoire magister, Université de Bejaia, Algérie 72p.
- **Lapwood, D.H., Adam, M.J., 1975.** Mechanisms of control of common scab by irrigation. pp 123-129 dans G.W. Bruehl, ed, Biology and control of Soil-borne Plant.
- **Latour, X., Faure, D., Diallo, S., Cirou, A., Smadjia, B., Dessaux, Y., Orange, N., 2008.** Control of bacterial diseases of potato caused by *Pectobacterium* spp. (*E. carotovora*). Cahiers Agric 17:355–360.
- **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.
- **Laurila, J., Ahola, V., Lehtinen, A., Joutsjoki, T., Hannukkala, A., Rahkonen, A., and Pirhonen, M., 2008.** Characterization of *Dickeya* strains isolated from potato and river water samples in Finland. Eur. J. Plant Pathol. 122, 213–225.
- **Lautier, T., 2007.** Rôle de la protéine associée au nucléoïde Fis dans le contrôle de la virulence chez la bactérie phytopathogène *Erwinia chrysanthemi*. INSA de Lyon.
- **Lebeau, A., 2010.** Resistance de la tomate, l'aubergine et le piment à *Ralstonia solanacearum* : interactions entre les géniteurs de résistance et la diversité bactérienne, caractérisation et cartographie des facteurs génétiques impliqués chez l'aubergine. Docteur : Université de la Réunion.
- **Lebecka, R., 2004.** Pathogenicity of *Erwinia carotovora* to potato tubers. Plant Breeding and Acclimatization Institute (IHAR), Młochów, Poland.
- **Liu, H., Coulthurst, S.J., Pritchard, L., Hedley, P.E., Ravensdale, M., Humphris, S., Burr, T., Takle, G., Brurberg, M.B., Birch, P.R., Salmond, G.P., Toth, I.K., 2008.** Quorum sensing coordinates brute force and stealth modes of infection in the plant pathogen *Pectobacterium atrosepticum*. PLoS Pathog. 4:e1000093.
- **Mahmoudi, E. Soleiman, M.J. and Taghavi, M., 2007.** Detection of bacterial soft-rot of crown imperial caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* using specific PCR primers. *Phytopathologia Mediterranea* 46: 168 -176.

- **Mandal, K., Maiti, S., 2005.** Bacterial soft rot of aloe caused by *Pectobacterium chrysanthemi*: A new report from India. *Plant Pathology* 54: 573.
- **Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M., Verdier, V., Beer, S.V., Machado, M.A., et al., 2012.** Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology: Top 10 plant pathogenic bacteria. *Mol. Plant Pathol.* **13**, pp 614–629.
- **Marchoux, G., Gognalons, P., Sélassié K.G., 2008.** *Virus des Solanacées. Du génome viral à la protection des cultures.* Paris, France: Quae.
- **Massaoudi, Y., 2015.** Contribution à la recherche et l'isolement de *Dickeya* sp. (*Erwinia chrysanthemi*) et à la caractérisation des bactéries productrices d'enzymes hydrolytiques et à effet antagoniste de *Dickeya* sp. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, 79p.
- **McCarter-Zorner, N.J., Franc, G.D., Harrison, M.D., Michaud, J.E., Quinn, C.E., Sells, I., and Graham, D.C., 1984.** Soft rot *Erwinia* bacteria in surface and underground waters in southern Scotland and in Colorado, United States. *J. Appl. Bacteriol.* **57**, 95–105.
- **McGuire, R. G. and Kelman, A., 1983.** Relationship between calcium levels in potato tubers and *Erwinia* soft rot. *Phytopathol.* **72**: 1138 (abstract).
- **McGuire, R. G. and Kelman, A., 1984.** Reduced severity of *Erwinia* soft rot in potato tubers with increased calcium content. *Phytopathol.* **74**: 1250 - 1256.
- **McGuire, R. G. and Kelman, A., 1986.** Calcium in potato tuber cell walls in relation to tissue maceration by *Eca*. *Phytopathol.* **76**: 401 - 406.
- **Mélanie, T., 2012.** Interruption de la communication bactérienne dans la rhizosphère par la dégradation enzymatique des signaux *quorum sensing*.
- **Mendonca, M., 1979.** Endemic and Soilborne Nature of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*, a Pathogen of Mature Sugar Beets. *Phytopathology* **69**: 1096.
- **Moerschbacher, B., Mendgen, K., 2000.** Structural aspects of defense. In 'Mechanisms of Resistance to Plant Diseases'. (Eds AJ Slusarenko, RSS Fraser and LC van Loon). (Kluwer Academic Publishers).
- **Moh, A.A., Massart, S., Jijakli, M.H., and Lepoivre, P., 2012.** Models to predict the combined effects of temperature and relative humidity on *Pectobacterium atrosepticum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* population density and soft rot disease development at the surface of wounded potato tubers. *J. Plant Pathol.* **94**, 181–191.

- **Moh, A.A., Massart, S., Lahlali, R., Jijakli, M.H., Lepoivre, P., and others., 2011.** Predictive modelling of the combined effect of temperature and water activity on the in vitro growth of *Erwinia spp.* infecting potato tubers in Belgium. *Biotechnol Agron Soc Env.* **15**, 379–386.
- **Molina, J.J., Harrison, M.D., 1980.** The role of *Erwinia carotovora* in the epidemiology of potato blackleg. II. The effect of soil temperature on disease severity.
- **Mphariseni, L. M., 2013.** Characterisation of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Brasiliense* isolates causing blackleg and soft rot diseases of potato in South Africa.
- **Muraschi, T.F., Friend, M., Bolles, D., 1965.** *Erwinia-like* microorganisms isolated from animal and human hosts. *Applied microbiology* **13**, 128-131.
- **Nealson, K.H., Platt, T., and Hastings, J.W. (1970)** Cellular control of synthesis and activity of bacterial luminescent system. *Journal of Bacteriology* **104**: 313-319.
- **Newman, M. A., Roenpenak, E. V., 2000.** The induction of plant defense responses by bacterial lipopolysaccharide. *Annual Review of Pathology*, **1**: 25-31.
- **OEPP/EPPO., 1978.** Data sheet on quarantine organisme No. 58, *Pseudomonas solanacearum*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 8 (2).
- **Ouahrani, H et Rachef, O., 2015.** Quantification des enzymes Pectate lyases et des Phytoalexines à partir de pomme de terre infectée par *Pectobacterium /Dickeya*.
- **Ould khaoua, S., 2016.** Pouvoir pathogène de souches bactériennes isolées de tubercules de pomme de terre. Université de Blida 1,Algerie,41p.
- **Palacio-Bielsa, A., Cambra, M.A. and López, M.M., 2007.** First report of bacterial soft rot on onion caused by *Dickeya* sp. (ex *Pectobacterium chrysanthemi*) in Spain. *Plant Pathology* **56**: 722 pp.
- **Pemberton, C., Salmond, G. P. C., 2004.** The Nep1-like proteins - a growing family of microbial elicitors of plant necrosis. *Mol Plant Pathology* **5**: 353–359.
- **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.
- **Perombelon, M.C., Kelman, A., 1980.** Ecology of the soft rot *Erwinias*. Annual review of phytopathology **18**, 361-387.
- **Pérombelon, M.C.M., 1992.** Potato blackleg: epidemiology, host-pathogen interaction and control. *Neth. J. Plant Pathol.* **98**: 135–146.

- **Perombelon, M.C.M., 2000.** Blackleg risk potential of seed potatoes determined by quantification of tuber contamination by the causal agent and *Erwinia carotovora subsp. atroseptica*: a critical review. EPPO Bull. **30**, 413–420.
- **Perombelon, M.C.M., 2002.** Potato diseases caused by soft rot Erwinias: an overview of pathogenesis. Plant Pathology **51**:1-12.
- **Perombelon, M.C.M., Lumb, V.M., and Hyman, L.J., 1987.** A rapid method to identify and quantify soft rot Erwinias on seed potato tubers. EPPO Bull. **17**, 25–35.
- **Perombelon, M.C.M., Lumb, V.M., Zutra, D., Hyman, L.J., and Burnett, E.M., 1989.** Factors Affecting Potato Blackleg Development. In Vascular Wilt Diseases of Plants, E.C. Tjamos, and C.H. Beckman, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), pp. 421–431.
- **Pirhonen, M., Saarilahti, H., Karlsson, M.B., Palva, E.T., 1991.** Identification of potatoes. Ann. Appl. Biol. **98**:211-216.
- **Powelson, M.L., 1985.** Potato early dying disease in the Pacific Northwest caused by *Erwinia carotovora pv. carotovora* and *carotovora pv. atroseptica*. Am. Potato J. **62**, 173–176.
- **Priou, S., 1992.** Variabilité phénotypique et génétique et caractérisation des sous-espèces d'*Erwinia carotovora* en relation avec leur pouvoir pathogène sur pomme de terre. Ph. D. thesis. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, Rennes, France.
- **Reuhs, B.L., Kim, J.S., Matthyse, A.G., 1997.** Attachment of *Agrobacterium tumefaciens* to carrot cells and Arabidopsis wound sites is correlated with the presence of a cell-associated, acidic polysaccharide. Journal of Bacteriology **179**:5372-5379.
- **Reverchon, S., Nasser, W., 2013.** *Dickeya* ecology, environment sensing and regulation of virulence programme. Environ. Microbiol. Reports **5**: 622-636.
- **Richard, C et Boivin, G., 1994.** Maladies et ravageurs des cultures légumières au Canada.
- **Rodriguez, M.C, Orchard, J and Seymour, G.B. (2003).** Pectate lyase, cell wall degradation and fruit softening. *Journal of Experimental Botany* **53**, 2115-2119.
- **Rouffiange, J., Gerardin, D., Kellenberger, I., Schaerer, S., and Dupuis, B. 2013.** Sensibilité de la pomme de terre aux pourritures de tiges provoquées par *Dickeya spp.* Rech. Agron. Suisse **4**, 424–431.
- **Rousselle, P., Robert, Y., Crosnier, J.-C., 1996.** La pomme de terre. coll. « Mieux comprendre » Paris, ebook, INRA, ISBN 2-7380-0676-0.

- **Ryals J.A; Neuenschwander U.H, Willits M.G; Molina A, Steiner H.y. and Hunt M.D., 1996.** Systemic acquired resistance. *The Plant Cell* **8**: 1809- 1819.
- **Schaad, N.W., 2001.**laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria.Third Edition.Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria.N.W. Schaad, J.B.Jones and W.chun,APS Press,3340 Pilot Knab Road ,St.Paul, MN,55121-2097,USA:i-xii; 1-373.
- **Seo, S. T., Furuya, N., Lim, C. K., Takanami, Y. and Tsuchiya, K., 2003.** Phenotypic and genetic characterization of *Erwinia carotovora* from mulberry (*Morus* spp.). *Plant Pathology* **52**: 140 -146.
- **Sharga, B.M, Lyon GD., 1998.** Bacillus subtilis BS 107 as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria. *Can J Microbiol* **44**:777–783.
- **Shevchik, V.E., Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., 1997.** Identification of a bacterial pectin acetyl esterase in *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Molecular Microbiology* **24**:1285-1301.
- **Smadja B., Latour X., Trigui S., Burini J-F., Chevalier S., Orange N., 2004a.** Thermodependence of growth and enzymatic activities implicated in pathogenicity of two *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium carotovorum*) subspecies. *Canadian Journal of Microbiology*.
- **Snoussi, S.M., 2010.** Etude de base sur la Tomate en Algérie. Rapport de mission: Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. Rome. 52p.
- **Spooner, D. M. and Knapp, S., 2013.** *Solanum tuberosum* - (anglais seulement). [12 December 2014].
- **Stevenson, W. A., Loria, R., Franc, G. D et Weingartner, D. P., 2001.** Compendium of potato diseases. American Phytopathological Society. 2e éd. St-Paul, Minnesota. 106p.
- **Taffifet, L., 2008.** Pouvoir pathogène d'une population de *Ralstonia solanacearum* isolée de semences de pomme de terre. Thèse ing. Université de Blidda. 59p.
- **Toth, I.K., Bell, K.S., Holeva, M.C., Birch, P.R., 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., 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 , Van Der Wolf, J., Saddler, G., Lojkowska, E., Hélias, V., Pirhonen, M., Elphinstone, J., 2011.** Dickeya species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology* **60**, 385-399.

- **Tseng, T .T., Brett, M. T., João, C. Setubal., 2009.** Protein secretion systems in bacterial-host associations, and their description in the Gene Ontology. *BMC Microbiol*, **9**(Suppl 1):S2.
- **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 Biol. Technol.* **28**, 445–454.
- **VAL, F., Barzic, M.R., Desender, S., Hamelin, G., Andrivon, D., 2006.** Stockage des pommes de terre: Un lipopolysaccharide bactérien... anti-bactérien? *Phytoma-La Défense des végétaux*, 33-36.
- **Van Der Merwe, J. J., 2009.** Etiology of Soft Rot and Blackleg on Potatoes in South Africa. *Scientae (Agriculturae)*, University of Pretoria, 138p.
- **Van Der Wolf, J.M., H.De Boer, S., 2007.** Bacterial pathogens of potato. In *Potato Biology and Biotechnology*, (Elsevier), pp. 595–617.
- **Van Der Wolf, J.M., Nijhuis, E.H., Kowalewska, M.J., Saddler, G.S., Parkinson, N., Elphinstone, J.G., Pritchard, L., Toth, I.K., Lojkowska, E., Potrykus, M., et al., 2014.** *Dickeya solani* sp. nov., a pectinolytic plantpathogenic bacterium isolated from potato (*Solanum tuberosum*). In: *J. Syst. Evol. Microbiol.* **64**, 768–774.
- **Van Vuurde, J.W.L., De Vries, P.H.M., 1994.** Population dynamics of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on the surface of intact and wounded seed potatoes during storage. *J. Appl. Bacteriol.* **76**, 568–575.
- **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, J.G., eds. *Proceedings of the 8th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Paris* (Abstract).
- **Wakelin, S., Warren, R., Harvey, P., Ryder, M., 2004.** Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Bio Fert Soils* **40**: 36–43.
- **Walker, D.S., Reeves, P.J., Salmond, G., 1994.** The major secreted cellulase, CelV of *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora* is an important soft rot virulence factor.
- *Molecular Plant Microbe Interactions* **.7**, 425-431.
- **Waters, C. M., Bassler, B.L., 2005.** Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol* **21**, 319–346.
- **Wei, Z. M., Laby, R. J., Zumoff, C. H., Bauer, D. W., He, S. Y., Collmer, A., Beer S. V., 1992.** Harpin, elicitor of hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. *Science* **257**: 85-88.

- **Winslow, C. E., Broadhurst, J., Buchanan, R., Krumwiede Jr, C., Rogers, L., Smith, G.H., 1917.** The families and genera of the bacteria: preliminary report of the committee of the society of american bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. *Journal of bacteriology* 2, 505.
- **Xia, Z. Y., Mo, H., 2007.** Occurrence of blackleg disease of tobacco caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in China. *Plant Pathology* **56**: 348.
- **Yabuuchi, E et Smith, J., 1999.** La lutte contre *Ralstonia solanacearum*, 1-34pp.
- **Yannick, R.D.E., 2015.** Pathogénie de *Dickeya dianthicola* et *Dickeya solani* chez *Solanum tuberosum*, développement et évaluation de stratégies de lutte biologique. Chimie thérapeutique, Université Paris Sud - Paris XI, France, 153p.
- **Yu, S.P., Choi, D.W., 2000.** Ions, cell volume, and apoptosis. *P Natl Acad Sci USA* 97:9360-9362.
- **Zhang, L., Jia, C., Liu, L., Zhang, Z., Li, C., and Wang, Q., 2011.** The involvement of jasmonates and ethylene in *Alternaria alternata* f. sp *lycopersici* toxin-induced tomato cell death. *Journal of Experimental Botany* **62**:5405-5418.

Annexes

Annexes

Milieu LB : Lauria et Bertani (Schaad, N.W., 2001).

Extrait de levure	5g/l
Bactotryptone	10g/l
Glucose	10g/l
Agar	20g/l
NaCl	5g/l
H ₂ O distillée	1l

pH= 7,2

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

La totalité des isolat testées dans le travail : (ASOL1, AD11, AJ10, AJ30,AJ31, AJ32, SSP3, MG13, AJ5, AD7, AJ4, CH21).

Tableau 07 (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L) : Le pourcentage (%) de la quantité de chair de pomme de terre pourrie (**Qncp**) observés sur les disques de pomme de terre inoculée par les 12 isolats avec une faible concentration d'inoculum 10² CFU/ml après trois jours d'incubation à 28°C.

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.

Qcp : La quantité de chair de pomme de terre pourrie. par la formule suivante:

$$\text{Qcp (\%)} = \frac{P_1 - P_2}{P_1}$$

P'1: poids (g) du disque de pomme de terre non inoculé avant incubation.

P'2: poids (g) du disque de pomme de terre non inoculé après trois jours d'incubation.

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

Qncp : la quantité nette de chair pourrie.

$$\text{Qncp (\%)} = \text{Qcp} - \text{Qe (Ahoussi., 2012)}$$

Tableau A :

			AD7				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,32	4,74	0,77	4,68	0,82	0,01	0,81
2	4,78	5,28	4,06	5	0,15	0,05	0,10
3	4,95	5,12	4,89	4,9	0,01	0,04	-0,03
4	5,31	5,32	0	4,85	1,00	0,09	0,91
5	5,59	5,25	4,75	4,79	0,15	0,09	0,06
6	5,65	5,45	1,98	4,91	0,65	0,10	0,55
7	4,08	5,6	0	4,97	1,00	0,11	0,89
8	4,31	5,53	0	4,93	1,00	0,11	0,89
9	5,58	5,45	0,44	4,88	0,92	0,10	0,82
10	4,56	5,25	0	4,82	1,00	0,08	0,92
11	5,51	5,3	2,79	4,76	0,49	0,10	0,39
12	6,13	5,16	1,3	4,8	0,79	0,07	0,72
Moyenne	5,064	5,288	1,748	4,858	0,67	0,08	0,59

Tableau B :

			AJ30				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,41	4,74	3,45	4,68	0,22	0,01	0,21
2	5,14	5,28	1,06	5	0,79	0,05	0,74
3	5,52	5,12	5,17	4,9	0,06	0,04	0,02
4	4,6	5,32	2,27	4,85	0,51	0,09	0,42
5	4,29	5,25	1,83	4,79	0,57	0,09	0,49
6	4,25	5,45	3,88	4,91	0,09	0,10	-0,01
7	4,51	5,6	4,29	4,97	0,05	0,11	-0,06
8	4,49	5,53	0	4,93	1,00	0,11	0,89
9	4,44	5,45	2,45	4,88	0,45	0,10	0,34
10	4,69	5,25	0	4,82	1,00	0,08	0,92
11	4,04	5,3	0,54	4,76	0,87	0,10	0,76
12	4,17	5,16	0,39	4,8	0,91	0,07	0,84
Moyenne	4,546	5,288	2,111	4,858	0,54	0,08	0,46

Tableau C :

			AJ32				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	3,78	4,74	0	4,68	1,00	0,01	0,99
2	3,71	5,28	0,65	5	0,82	0,05	0,77
3	4,48	5,12	1,63	4,9	0,64	0,04	0,59
4	3,95	5,32	0,8	4,85	0,80	0,09	0,71
5	4,13	5,25	0,55	4,79	0,87	0,09	0,78
6	4,44	5,45	1,46	4,91	0,67	0,10	0,57
7	5,59	5,6	3,36	4,97	0,40	0,11	0,29
8	5,35	5,53	0,93	4,93	0,83	0,11	0,72
9	4,72	5,45	1,65	4,88	0,65	0,10	0,55
10	4,97	5,25	2,23	4,82	0,55	0,08	0,47
11	4,97	5,3	3,68	4,76	0,26	0,10	0,16
12	4,99	5,16	3,18	4,8	0,36	0,07	0,29
Moyenne	4,590	5,288	1,677	4,858	5,94	0,08	0,57

Tableau D:

			CH21				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,32	4,74	3,06	4,68	0,29	0,01	0,28
2	5,27	5,28	3,85	5	0,27	0,05	0,22
3	4,04	5,12	3,81	4,9	0,06	0,04	0,01
4	6,08	5,32	5,25	4,85	0,14	0,09	0,05
5	5,66	5,25	5,63	4,79	0,01	0,09	-0,082
6	4,3	5,45	0,58	4,91	0,87	0,10	0,77
7	4,94	5,6	2,18	4,97	0,56	0,11	0,45
8	4,94	5,53	1,68	4,93	0,66	0,11	0,55
9	5,77	5,45	5,73	4,88	0,01	0,10	-0,10
10	4,77	5,25	2,94	4,82	0,38	0,08	0,30
11	4,73	5,3	0,73	4,76	0,85	0,10	0,74
12	4,89	5,16	2,96	4,8	0,39	0,07	0,32
Moyenne	4,976	5,288	3,200	4,858	5,66	0,08	0,29

Tableau E :

			MG13				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,48	4,74	3,07	4,68	0,31	0,01	0,30
2	4,69	5,28	4,5	5	0,04	0,05	-0,01
3	4,07	5,12	0	4,9	1,00	0,04	0,96
4	4,52	5,32	1,14	4,85	0,75	0,09	0,66
5	4,51	5,25	1,38	4,79	0,69	0,09	0,61
6	5,19	5,45	4,98	4,91	0,04	0,10	-0,06
7	4,28	5,6	0,13	4,97	0,97	0,11	0,86
8	3,72	5,53	0	4,93	1,00	0,11	0,89
9	4	5,45	0	4,88	1,00	0,10	0,90
10	4,91	5,25	0	4,82	1,00	0,08	0,92
11	3,64	5,3	0	4,76	1,00	0,10	0,90
12	5,04	5,16	0	4,8	1,00	0,07	0,93
Moyenne	4,421	5,288	1,267	4,858	6,02	0,08	0,65

Tableau F :

			AD11				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,41	4,74	0,48	4,68	0,89	0,01	0,88
2	4,99	5,28	2,75	5	0,45	0,05	0,40
3	4,11	5,12	3,61	4,9	0,12	0,04	0,08
4	4,62	5,32	2,85	4,85	0,38	0,09	0,29
5	4,74	5,25	1,63	4,79	0,66	0,09	0,57
6	4,08	5,45	1,03	4,91	0,75	0,10	0,65
7	3,9	5,6	0,24	4,97	0,94	0,11	0,83
8	3,89	5,53	0,29	4,93	0,93	0,11	0,82
9	3,68	5,45	0,11	4,88	0,97	0,10	0,87
10	3,83	5,25	0,26	4,82	0,93	0,08	0,85
11	4,56	5,3	0,2	4,76	0,96	0,10	0,85
12	4,71	5,16	1,6	4,8	0,66	0,07	0,59
Moyenne	4,293	5,288	1,254	4,858	6,01	0,08	0,64

Tableau G :

			AJ4				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	5,05	4,74	1,9	4,68	0,62	0,01	0,61
2	5,91	5,28	5,15	5	0,13	0,05	0,08
3	5,24	5,12	1,17	4,9	0,78	0,04	0,73
4	5,78	5,32	5,69	4,85	0,02	0,09	-0,07
5	5,9	5,25	5,87	4,79	0,01	0,09	-0,08
6	4,44	5,45	0,5	4,91	0,89	0,10	0,79
7	5,25	5,6	3,38	4,97	0,36	0,11	0,24
8	5,52	5,53	5,5	4,93	0,00	0,11	-0,10
9	4,88	5,45	1,1	4,88	0,77	0,10	0,67
10	4,67	5,25	2,46	4,82	0,47	0,08	0,39
11	5,7	5,3	4,12	4,76	0,28	0,10	0,18
12	5,49	5,16	0,7	4,8	0,87	0,07	0,80
Moyenne	5,319	5,288	3,128	4,858	5,72	0,08	0,35

Tableau H :

			AJ5				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	5,89	4,74	5,9	4,68	0,00	0,01	-0,01
2	4,33	5,28	2,5	5	0,42	0,05	0,37
3	4,18	5,12	3,77	4,9	0,10	0,04	0,06
4	4,27	5,32	2,63	4,85	0,38	0,09	0,30
5	5,38	5,25	5,38	4,79	0,00	0,09	-0,09
6	5,52	5,45	2,16	4,91	0,61	0,10	0,51
7	4,18	5,6	4,18	4,97	0,00	0,11	-0,11
8	3,71	5,53	1,17	4,93	0,68	0,11	0,58
9	4,35	5,45	3,71	4,88	0,15	0,10	0,04
10	5,6	5,25	1,58	4,82	0,72	0,08	0,64
11	5,03	5,3	0	4,76	1,00	0,10	0,90
12	4,91	5,16	0,63	4,8	0,87	0,07	0,80
Moyenne	4,779	5,288	2,801	4,858	5,70	0,08	0,33

Tableau I :

			ASOL 1				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,25	4,74	3,48	4,68	0,18	0,01	0,17
2	5,1	5,28	2,82	5	0,45	0,05	0,39
3	5,1	5,12	0	4,9	1,00	0,04	0,96
4	4,83	5,32	4,53	4,85	0,06	0,09	-0,03
5	4,02	5,25	3,66	4,79	0,09	0,09	0,00
6	4,93	5,45	3,61	4,91	0,27	0,10	0,17
7	4,56	5,6	3,12	4,97	0,32	0,11	0,20
8	5,29	5,53	4,88	4,93	0,08	0,11	-0,03
9	4,75	5,45	2,91	4,88	0,39	0,10	0,28
10	5,06	5,25	4,62	4,82	0,09	0,08	0,01
11	5,58	5,3	2,98	4,76	0,47	0,10	0,36
12	5,38	5,16	4,19	4,8	0,22	0,07	0,15
Moyenne	4,904	5,288	3,400	4,858	5,59	0,08	0,22

Tableau J :

			SSP3				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,88	4,74	0,6	4,68	0,88	0,01	0,86
2	4,85	5,28	0,81	5	0,83	0,05	0,78
3	4,78	5,12	0	4,9	1,00	0,04	0,96
4	4,63	5,32	0	4,85	1,00	0,09	0,91
5	4,66	5,25	0,4	4,79	0,91	0,09	0,83
6	3,93	5,45	0	4,91	1,00	0,10	0,90
7	5,65	5,6	2,68	4,97	0,53	0,11	0,41
8	4,8	5,53	0	4,93	1,00	0,11	0,89
9	5,12	5,45	0,41	4,88	0,92	0,10	0,82
10	4,45	5,25	0	4,82	1,00	0,08	0,92
11	4,85	5,3	0	4,76	1,00	0,10	0,90
12	5,06	5,16	0	4,8	1,00	0,07	0,93
Moyenne	4,805	5,288	0,408	4,858	6,21	0,08	0,84

Tableau K:

			AJ31				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,73	4,74	0,7	4,68	0,85	0,01	0,84
2	4,42	5,28	0,93	5	0,79	0,05	0,74
3	4,3	5,12	3,61	4,9	0,16	0,04	0,12
4	3,59	5,32	0	4,85	1,00	0,09	0,91
5	4	5,25	0	4,79	1,00	0,09	0,91
6	3,82	5,45	0,42	4,91	0,89	0,10	0,79
7	4,14	5,6	0,84	4,97	0,80	0,11	0,68
8	4,37	5,53	1,2	4,93	0,73	0,11	0,62
9	4,6	5,45	0,38	4,88	0,92	0,10	0,81
10	4,26	5,25	0	4,82	1,00	0,08	0,92
11	4,64	5,3	0	4,76	1,00	0,10	0,90
12	4,33	5,16	2,03	4,8	0,53	0,07	0,46
Moyenne	4,267	5,288	0,843	4,858	6,09	0,08	0,73

Tableau L :

			AJ10				
répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,19	4,74	0	4,68	1,00	0,01	0,99
2	2,7	5,28	0	5	1,00	0,05	0,95
3	4,65	5,12	0,29	4,9	0,94	0,04	0,89
4	4,25	5,32	1,22	4,85	0,71	0,09	0,62
5	4,69	5,25	0,47	4,79	0,90	0,09	0,81
6	4,85	5,45	0,48	4,91	0,90	0,10	0,80
7	4,18	5,6	0,82	4,97	0,80	0,11	0,69
8	4,47	5,53	4,14	4,93	0,07	0,11	-0,03
9	4,66	5,45	1,4	4,88	0,70	0,10	0,59
10	3,62	5,25	1,53	4,82	0,58	0,08	0,50
11	3,97	5,3	3,95	4,76	0,01	0,10	-0,10
12	4,06	5,16	0,52	4,8	0,87	0,07	0,80
Moyenne	4,191	5,288	1,235	4,858	5,99	0,08	0,63

Tableau 08 (M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W , X) : Le pourcentage (%) de la quantité de chair de pomme de terre pourrie (**Qncp**) observés sur les disques de pomme de terre inoculée par les 12 isolats avec une forte concentration d'inoculum 10^6 CFU/ml après trois jours d'incubation à 28°C.

Tableau M :

			CH21				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	5,52	4,74	5,3	4,68	0,04	0,01	0,03
2	4,9	5,28	4,09	5	0,17	0,05	0,11
3	5,16	5,12	3,43	4,9	0,34	0,04	0,29
4	5,99	5,32	0	4,85	1,00	0,09	0,91
5	5,81	5,25	1,08	4,79	0,81	0,09	0,73
6	5,07	5,45	0	4,91	1,00	0,10	0,90
7	5,59	5,6	0	4,97	1,00	0,11	0,89
8	6,13	5,53	0	4,93	1,00	0,11	0,89
9	6,06	5,45	0	4,88	1,00	0,10	0,90
10	5,63	5,25	0	4,82	1,00	0,08	0,92
11	5,86	5,3	0	4,76	1,00	0,10	0,90
12	5,49	5,16	0	4,8	1,00	0,07	0,93
Moyenne	5,601	5,288	1,158	4,858	0,78	0,08	0,70

Tableau N :

			MG13				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	3,78	4,74	0	4,68	1,00	0,01	0,99
2	4,94	5,28	0	5	1,00	0,05	0,95
3	4,65	5,12	0	4,9	1,00	0,04	0,96
4	4,32	5,32	0	4,85	1,00	0,09	0,91
5	4,57	5,25	0	4,79	1,00	0,09	0,91
6	4,97	5,45	0	4,91	1,00	0,10	0,90
7	5,31	5,6	0	4,97	1,00	0,11	0,89
8	4,92	5,53	0	4,93	1,00	0,11	0,89
9	5,22	5,45	0,49	4,88	0,91	0,10	0,80
10	5,49	5,25	0	4,82	1,00	0,08	0,92
11	5,28	5,3	0	4,76	1,00	0,10	0,90
12	5,65	5,16	2,35	4,8	0,58	0,07	0,51
Moyenne	4,925	5,288	0,237	4,858	0,96	0,08	0,88

Tableau O :

			SSP3				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,02	4,74	2,33	4,68	0,42	0,01	0,41
2	4,89	5,28	1,28	5	0,74	0,05	0,69
3	4,82	5,12	2,29	4,9	0,52	0,04	0,48
4	4,95	5,32	2,3	4,85	0,54	0,09	0,45
5	4,95	5,25	1,24	4,79	0,75	0,09	0,66
6	5,18	5,45	1,01	4,91	0,81	0,10	0,71
7	4,87	5,6	1,8	4,97	0,63	0,11	0,52
8	4,96	5,53	2,26	4,93	0,54	0,11	0,44
9	5,09	5,45	1,91	4,88	0,62	0,10	0,52
10	4,7	5,25	2,19	4,82	0,53	0,08	0,45
11	5,01	5,3	1,73	4,76	0,65	0,10	0,55
12	5,12	5,16	3,02	4,8	0,41	0,07	0,34
Moyenne	4,880	5,288	1,947	4,858	0,60	0,08	0,52

Tableau P :

			AJ31				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,39	4,74	3,85	4,68	0,12	0,01	0,11
2	5,15	5,28	4,07	5	0,21	0,05	0,16
3	5,76	5,12	5,05	4,9	0,12	0,04	0,08
4	5,76	5,32	4,97	4,85	0,14	0,09	0,05
5	5,64	5,25	5,07	4,79	0,10	0,09	0,01
6	5,76	5,45	5,08	4,91	0,12	0,10	0,02
7	5,86	5,6	5,12	4,97	0,13	0,11	0,01
8	5,76	5,53	5,1	4,93	0,11	0,11	0,01
9	5,66	5,45	4,97	4,88	0,12	0,10	0,02
10	5,19	5,25	4,79	4,82	0,08	0,08	0,00
11	4,79	5,3	3,74	4,76	0,22	0,10	0,12
12	4,9	5,16	3,86	4,8	0,21	0,07	0,14
Moyenne	5,385	5,288	4,639	4,858	0,14	0,08	0,06

Tableau Q :

			AJ10				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	5,77	4,74	0	4,68	1,00	0,01	0,99
2	5,38	5,28	0	5	1,00	0,05	0,95
3	5,72	5,12	0	4,9	1,00	0,04	0,96
4	5,15	5,32	1,87	4,85	0,64	0,09	0,55
5	4,99	5,25	0	4,79	1,00	0,09	0,91
6	5,39	5,45	0,26	4,91	0,95	0,10	0,85
7	5,44	5,6	0	4,97	1,00	0,11	0,89
8	4,71	5,53	0	4,93	1,00	0,11	0,89
9	5,98	5,45	0	4,88	1,00	0,10	0,90
10	4,83	5,25	0	4,82	1,00	0,08	0,92
11	5,63	5,3	0	4,76	1,00	0,10	0,90
12	5,72	5,16	4,9	4,8	0,14	0,07	0,07
Moyenne	5,393	5,288	0,586	4,858	0,89	0,08	0,81

Tableau R :

			AD11				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	5,16	4,74	0	4,68	1,00	0,01	0,99
2	5,27	5,28	0	5	1,00	0,05	0,95
3	5,25	5,12	0	4,9	1,00	0,04	0,96
4	5,55	5,32	0,61	4,85	0,89	0,09	0,80
5	5,37	5,25	0,87	4,79	0,84	0,09	0,75
6	5,67	5,45	1,72	4,91	0,70	0,10	0,60
7	5,28	5,6	0	4,97	1,00	0,11	0,89
8	5,05	5,53	0	4,93	1,00	0,11	0,89
9	5,24	5,45	0,32	4,88	0,94	0,10	0,83
10	5,14	5,25	0,18	4,82	0,96	0,08	0,88
11	5,1	5,3	0	4,76	1,00	0,10	0,90
12	5,05	5,16	0,3	4,8	0,94	0,07	0,87
Moyenne	5,261	5,288	0,333	4,858	0,94	0,08	0,86

Tableau S:

			ASOL1				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	5,53	4,74	0,36	4,68	0,93	0,01	0,92
2	4,81	5,28	0	5	1,00	0,05	0,95
3	4,32	5,12	0	4,9	1,00	0,04	0,96
4	5,36	5,32	2,85	4,85	0,47	0,09	0,38
5	4,94	5,25	4,08	4,79	0,17	0,09	0,09
6	5,83	5,45	3,39	4,91	0,42	0,10	0,32
7	6,03	5,6	5,23	4,97	0,13	0,11	0,02
8	5,3	5,53	2,13	4,93	0,60	0,11	0,49
9	5,88	5,45	2,46	4,88	0,58	0,10	0,48
10	4,87	5,25	1,58	4,82	0,68	0,08	0,59
11	5,11	5,3	2,42	4,76	0,53	0,10	0,42
12	5,05	5,16	1,48	4,8	0,71	0,07	0,64
Moyenne	5,253	5,288	2,165	4,858	0,60	0,08	0,52

Tableau T :

			AJ32				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,96	4,74	1,47	4,68	0,70	0,01	0,69
2	5,05	5,28	0,95	5	0,81	0,05	0,76
3	4,92	5,12	2,5	4,9	0,49	0,04	0,45
4	4,95	5,32	0,86	4,85	0,83	0,09	0,74
5	5,16	5,25	1,09	4,79	0,79	0,09	0,70
6	5,48	5,45	0,18	4,91	0,97	0,10	0,87
7	4,93	5,6	1,48	4,97	0,70	0,11	0,59
8	5,73	5,53	1,01	4,93	0,82	0,11	0,72
9	5,24	5,45	1,47	4,88	0,72	0,10	0,61
10	5,46	5,25	0,34	4,82	0,94	0,08	0,86
11	5,37	5,3	0,96	4,76	0,82	0,10	0,72
12	5,14	5,16	0	4,8	1,00	0,07	0,93
Moyenne	5,199	5,288	1,026	4,858	0,80	0,08	0,72

Tableau U :

			AJ4				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	5,15	4,74	3,44	4,68	0,33	0,01	0,32
2	5,17	5,28	3,32	5	0,36	0,05	0,30
3	5,61	5,12	3,86	4,9	0,31	0,04	0,27
4	5,08	5,32	4,42	4,85	0,13	0,09	0,04
5	5,28	5,25	4,6	4,79	0,13	0,09	0,04
6	5,84	5,45	5,14	4,91	0,12	0,10	0,02
7	5,74	5,6	4,97	4,97	0,13	0,11	0,02
8	5,38	5,53	4,36	4,93	0,19	0,11	0,08
9	4,96	5,45	4,33	4,88	0,13	0,10	0,02
10	4,86	5,25	4,21	4,82	0,13	0,08	0,05
11	5,79	5,3	2,5	4,76	0,57	0,10	0,47
12	5,36	5,16	3,03	4,8	0,43	0,07	0,36
Moyenne	5,352	5,288	4,015	4,858	0,25	0,08	0,17

Tableau V :

			AD7				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	5,76	4,74	2,96	4,68	0,49	0,01	0,47
2	5,46	5,28	2	5	0,63	0,05	0,58
3	5,31	5,12	2,91	4,9	0,45	0,04	0,41
4	5,47	5,32	1,68	4,85	0,69	0,09	0,60
5	5,55	5,25	2,74	4,79	0,51	0,09	0,42
6	5,4	5,45	3,19	4,91	0,41	0,10	0,31
7	5,12	5,6	2,59	4,97	0,49	0,11	0,38
8	5,41	5,53	0,83	4,93	0,85	0,11	0,74
9	5,35	5,45	1,99	4,88	0,63	0,10	0,52
10	5,09	5,25	0,94	4,82	0,82	0,08	0,73
11	4,23	5,3	0,3	4,76	0,93	0,10	0,83
12	5,69	5,16	1,14	4,8	0,80	0,07	0,73
Moyenne	5,320	5,288	1,939	4,858	0,64	0,08	0,56

Tableau W :

			AJ5				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	5,93	4,74	3,53	4,68	0,40	0,01	0,39
2	6,4	5,28	4,16	5	0,35	0,05	0,30
3	4,99	5,12	2,65	4,9	0,47	0,04	0,43
4	6	5,32	4,13	4,85	0,31	0,09	0,22
5	6,12	5,25	3,67	4,79	0,40	0,09	0,31
6	5,35	5,45	3,38	4,91	0,37	0,10	0,27
7	5,63	5,6	3,36	4,97	0,40	0,11	0,29
8	5,88	5,53	3,87	4,93	0,34	0,11	0,23
9	5,96	5,45	3,98	4,88	0,33	0,10	0,23
10	5,44	5,25	1,66	4,82	0,69	0,08	0,61
11	5,69	5,3	2,36	4,76	0,59	0,10	0,48
12	5,74	5,16	0,96	4,8	0,83	0,07	0,76
Moyenne	5,761	5,288	3,143	4,858	0,46	0,08	0,38

Tableau X :

			AJ30				
Répétition	p1	p1'	P2	P2'	QCP%	QE% (témoin)	QNCP
1	4,88	4,74	4	4,68	0,18	0,01	0,17
2	5,2	5,28	4,91	5	0,06	0,05	0,003
3	5,08	5,12	0	4,9	1,00	0,04	0,96
4	3,95	5,32	3,42	4,85	0,13	0,09	0,05
5	4,75	5,25	4,06	4,79	0,15	0,09	0,06
6	4,6	5,45	2,79	4,91	0,39	0,10	0,29
7	5,18	5,6	4,59	4,97	0,11	0,11	0,00
8	5,37	5,53	4,72	4,93	0,12	0,11	0,01
9	5,38	5,45	4,71	4,88	0,12	0,10	0,02
10	4,98	5,25	4,54	4,82	0,09	0,08	0,01
11	5,37	5,3	4,75	4,76	0,12	0,10	0,01
12	4,94	5,16	0	4,8	1,00	0,07	0,93
Moyenne	4,973	5,288	3,541	4,858	0,29	0,08	0,21

Tableau 09: Les probabilités de Test de Shapiro et Wilk à faible quantité d'inoculum.

Traitement	Valeur de P
AD7fai	0,182101
AJ30fai	0,337294
AJ32fai	0,744437
CH21fai	0,925295
MG13fai	0,924779
AJ10fai	0,615329
AJ4fai	0,397931
AJ5fai	0,977196
ASOL1fai	0,013055
SSP3fai	0,809531
AJ31fai	0,360581
AD11fai	0,65762

Tableau 10 : Les probabilités de Test de Shapiro et Wilk à forte quantité d'inoculum.

Traitement	Valeur de P
AD7for	0,900544
AJ30for	0,028636
AJ32for	0,964462
CH21for	0,230353
MG13for	0,667034
AJ10for	0,335683
AJ4for	0,486961
AJ5for	0,469068
ASOL1for	0,447849
SSP3for	0,807242
AJ31for	0,68514
AD11for	0,644016