

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université A/MIRA de Bejaia**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologie**

En vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie  
option : Microbiologie Appliquée

# **Thème**

**Recherche et identification des**  
***Pectobacterium*, agents de la pourriture**  
**molle sur différentes plantes hôtes :**  
**pommes de terre, tomates et carottes**

Présenté par : LADJOUZI Rachid

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	M <sup>r</sup> BENALLAOUA. S	Professeur (UAMB)
<b>Promoteur :</b>	M <sup>me</sup> YAHIAOUI- ZAIDI. R	Maître de conférences (UAMB)
<b>Examineurs :</b>	M <sup>elle</sup> LOUAILECHE. H	Professeur (UAMB)
	M <sup>r</sup> IGUER-OUADA. M.	Maître de conférences (UAMB)

2006/2007

# Remerciements

Je tiens à remercier vivement ma directrice de mémoire, Docteur **R. YAHIAOUI-ZAIDI** pour la qualité de son encadrement, sa disponibilité, ses conseils et ses recommandations ainsi que pour toute l'aide qu'elle m'a fournit.

Je remercie également le professeur **S. BENALLAOUA** pour le grand honneur qu'il me fait en acceptant de présider ce jury.

Que le professeur **H. LOUAILECHE** et le Docteur **M. IGUER-OUADA** acceptent ma profonde gratitude pour l'honneur qu'ils me font en acceptant d'examiner et d'évaluer ce travail.

Je ne saurais oublier Monsieur **F. ZAIDI** en le remerciant de m'avoir accueilli au laboratoire de Nutrition-Alimentation et de m'avoir fourni tous les moyens nécessaires.

Sans oublier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

## **Dédicaces**

En guise de reconnaissance, je dédie ce modeste travail à mes très chers parents, ainsi qu'à mes frères et à toute ma famille.

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

## Synthèse bibliographique

I) Plantes hôtes ..... 3

I-1) La pomme de terre ..... 3

I-1-1) Définition ..... 3

I-1-2) Description morphologique ..... 3

I-1-3) Exigences écologiques ..... 4

a) Température ..... 4

b) Lumière ..... 4

c) Sol ..... 4

d) pH ..... 4

e) Salinité ..... 4

I-1-4) Propriétés nutritionnelles et thérapeutiques ..... 5

I-1-5) Toxicité ..... 6

I-1-6) Production ..... 6

I-1-7) Maladies et ravageurs ..... 7

I-2) La tomate ..... 7

I-2-1) Définition ..... 7

I-2-2) Exigences pédoclimatiques ..... 8

a) Température ..... 8

b) Humidité relative ..... 8

c) Lumière ..... 8

d) Sol ..... 8

e) pH ..... 8

f) Salinité ..... 8

g) Irrigation ..... 8

I-2-3) Propriétés nutritionnelles et thérapeutiques ..... 8

I-2-4) Production ..... 9

---

I-2-5) Maladies et ravageurs-----	9
<b>II) Généralités sur les <i>Erwinia</i></b> -----	<b>10</b>
II-1) Définition -----	10
II-2) Taxonomie -----	10
II-3) Description des <i>Erwinia</i> pectinolytiques-----	12
II-3-1) <i>Erwinia carotovora</i> -----	12
II-3-1-1) <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>atroseptica</i> -----	13
II-3-1-2) <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>carotovora</i> -----	13
II-3-1-3) <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>betavasulorum</i> -----	14
II-3-1-4) <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>odorifera</i> -----	14
II-3-1-5) <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>wasabiae</i> -----	14
II-3-2) <i>Erwinia chrysanthemi</i> -----	14
<b>III) Interactions Plante-<i>Erwinia</i> pectinolytiques</b> -----	<b>16</b>
III-1) Maladies de la Jambe noire et de la pourriture molle -----	16
III-1-1) Agents responsables et transmission -----	16
III-1-2) Description des symptômes-----	17
III-2) Facteurs de pathogénicité des <i>Erwinia</i> pectinolytiques -----	18
III-2-1) Enzymes pectinolytiques -----	19
a) Pectate lyases-----	20
b) Pectine lyases-----	20
c) Polygalacturonases -----	20
III-2-2) Enzymes non pectinolytiques-----	20
a) Cellulases -----	20
b) Protéases-----	20
III-2-3) Facteurs de virulence additionnels-----	21
a) Mobilité-----	21
b) Lipopolysaccharides -----	21
c) Exopolysaccharides-----	21
d) Sidérophores -----	21
e) Quorum Sensing-----	22
f) Antagonisme -----	22
g) Gène <i>hrp</i> -----	22
h) Protéines CRP -----	22

III-3) Mesures de sécurité-----	23
III-3-1) Pratiques culturelles et sanitaires-----	23
III-3-2) Lutte chimique-----	23
III-3-3) Lutte biologique-----	24

## Partie expérimentale

### Matériel et méthodes

<b>I) Matériel</b> -----	25
I-1) Matériel bactérien-----	25
I-2) Matériel végétal-----	25
<b>II) Méthodes</b> -----	26
II-1) Prélèvement et isolement-----	26
II-2) Observation culturelle-----	27
II-3) Purification et conservation des cultures bactériennes-----	27
II-4) Identification des <i>Erwinia</i> pectinolytiques-----	27
II-4-1) Identification microbiologique et biochimique préliminaire-----	27
II-4-1-1) Examen cellulaire-----	27
a) Examen à l'état frais-----	27
b) Examen après coloration-----	27
II-4-1-2) Test de l'oxydase-----	28
II-4-1-3) Test de la cabalase-----	28
II-4-2) Préparation de l'inoculum standard et dénombrement cellulaire-----	28
II-4-3) Recherche des <i>Erwinia</i> pectinolytiques-----	30
II-4-3-1) Détection des <i>Erwinia</i> pectinolytiques-----	30
II-4-3-1-1) Détermination de l'activité pectinolytiques des <i>Erwinia</i> -----	30
a) Milieu Sutton-----	30
b) Milieu Crystal Violet Pectate-----	31
c) Milieu Pectine Hildebrand-----	31
II-4-3-1-2) Hydrolyse de l'amidon-----	31
II-4-3-1-3) Réduction des nitrates-----	31
II-4-3-1-4) Oxydation / fermentation-----	32

II-4-3-2) Distinction entre <i>Erwinia carotovora</i> et <i>Erwinia chrysanthemi</i> -----	32
II-4-3-2-1) Utilisation du malonate et du lactose-----	32
II-4-3-2-2) Activité lécithinase -----	32
II-4-3-2-3) Activité phosphatase -----	32
II-4-3-2-4) Production d'indole -----	33
II-4-3-2-5) Tolérance au NaCl-----	33
II-4-3-3) Différenciation entre <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>atroseptica</i> , <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>carotovora</i> et entre les biovars d' <i>Erwinia</i> <i>chrysanthemi</i> -----	33
II-4-3-3-1) Utilisation de l' $\alpha$ -méthyl-glucoside -----	33
II-4-3-3-2) Croissance sur milieu Logan-----	33
II-4-3-3-3) Fermentation des sucres -----	34
II-4-3-3-4) Utilisation de l'inuline -----	34
II-4-3-3-5) Réduction du saccharose -----	34
II-4-3-3-6) Croissance à différentes températures-----	34
II-4-4) Tests complémentaires -----	35
II-4-4-1) Recherche de l'arginine déshydrolase-----	35
II-4-4-2) Recherche de l'uréase-----	35
II-4-4-3) Dégradation de la caséine-----	35
II-4-4-4) Liquéfaction de la gélatine-----	35
II-5) Tests de pathogénicité-----	36
II-5-1) Plantes testées -----	36
II-5-2) Mode opératoire-----	36
II-5-2-1) sur pomme de terre-----	36
II-5-2-2) sur tomate-----	37
II-5-2-3) sur tabac-----	37
II-6) Analyse statistique-----	37

## Résultats et discussion

I) Recherche de bactéries du genre <i>Erwinia</i> -----	38
II) Identification biochimique des <i>Erwinia</i> pectinolytiques -----	39
II-1) Identification préliminaire-----	39
II-2) Mise en évidence des <i>Erwinia</i> pectinolytiques -----	40

II-3) Distinction entre <i>Erwinia carotovora</i> et <i>Erwinia chrysanthemi</i> -----	42
II-4) Différenciation entre <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>atroseptica</i> , <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>carotovora</i> et entre les biovars d' <i>Erwinia chrysanthemi</i> -----	43
II-5) Fermentation des sucres-----	45
II-6) Tests complémentaires-----	46
III) Classification hiérarchique -----	47
IV) Distribution des souches selon l'hôte d'origine-----	48
V) Tests de pathogénicité-----	49
V-1) Hypersensibilité sur feuilles de tabac -----	49
V-2) Pathogénicité sur tomate -----	50
V-3) Pathogénicité sur pomme de terre -----	51
V-3-1) Pouvoir pathogène des souches d' <i>Erwinia</i> pectinolytiques-----	51
V-3-2) Interaction souches-cultivars-----	54
<b>Conclusion</b> -----	59
<b>Références bibliographiques</b> -----	61
<b>Annexes</b>	



# Liste des abréviations

ADH : Arginine Désyhydrolase

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AHLs : N-acyl Homosérine Lactones

ALMT : Ayers Lactose Malonate Tryptophane

ANOVA : Analysis Of Variance

ARN : Acide Ribonucléique

BLS : Bacteriocin-Like Substance

bv : biovar

Cels : Cellulases

CFBP : Collection Française de Bactéries Phytopathogènes

CRP : Cyclic AMP Receptor Protein

CVP : Crystal Violet Pectate

DO : Densité Optique

EC : Enzyme Commission

*Eca* : *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*

*Ecb* : *Erwinia carotovora* ssp. *betavasculorum*

*Ecc* : *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*

*Ech* : *Erwinia chrysanthemi*

*Eco* : *Erwinia carotovora* ssp. *odorifera*

*Ecw* : *Erwinia carotovora* ssp. *wasabiae*

*Ecy* : *Erwinia cypripedii*

*Er* : *Erwinia rhapontici*

EPS : Exopolysaccharides

FAO : Food and Agriculture Organization

HR : Hypersensitive Response

hrp : hypersensitive reaction and pathogenicity

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

LB : Luria Bertani

LP : Levure Peptone

LPA : Levure Peptone Agar

Mt : Millions de tonnes

NGM : Nutrient agar Glycerol Medium

PCR : Polymerase Chain Reaction

Pehs : Pectate hydrolases

Pels : Pectate lyases

PFLP : Plant Ferredoxin-Like Protein

PGA : Polygalacturonic Acid

PH : Pectine Hiledbrand

Pnls : Pectine lyases

Prts : Protéases

pv : pathovar

RFLP : Restriction Fragment Lenght Polymorphism

SRS : Substances Réductrices du Saccharose

UFC : Unité Formant Colonie

# Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Plante de la pomme de terre avec ses tubercules -----	4
<b>Figure 2 :</b> Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne -----	17
<b>Figure 3 :</b> Tubercules infectés par une souche d' <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>atroseptica</i> -----	18
<b>Figure 4 :</b> Schéma descriptif de l'interaction entre <i>Erwinia chrysanthemi</i> et la plante hôte-----	19
<b>Figure 5 :</b> Echantillons de pommes de terre et de carottes présentant des symptômes de pourriture molle -----	25
<b>Figure 6 :</b> Protocole d'isolement des <i>Erwinia</i> pectinolytiques sur milieux de culture gélosés-----	26
<b>Figure 7 :</b> Dénombrement des colonies d' <i>Erwinia</i> pectinolytiques sur milieu solide-----	29
<b>Figure 8 :</b> Aspect des souches d' <i>Erwinia</i> pectinolytiques isolées sur milieu King B-----	38
<b>Figure 9 :</b> Activité pectinolytique des souches d' <i>Erwinia</i> sur milieu Sutton-----	41
<b>Figure 10 :</b> Activité lécithinase des souches d' <i>Erwinia chrysanthemi</i> sur milieu au jaune d'œuf- 43	
<b>Figure 11 :</b> Dendrogramme de la classification hiérarchique des souches d' <i>Erwinia</i> pectinolytiques-----	47
<b>Figure 12 :</b> Distribution des souches d' <i>Erwinia</i> pectinolytiques-----	48
<b>Figure 13 :</b> Résultats du test d'infiltration sur feuilles de tabac-----	50
<b>Figure 14 :</b> Symptômes de pourriture molle sur tomates -----	51
<b>Figure 15 :</b> Symptômes de pourriture molle sur les demi-tubercules de pomme de terre-----	52
<b>Figure 16 :</b> Pouvoir pathogène des souches d' <i>Erwinia</i> pectinolytiques sur pommes de terre (poids des pourritures) -----	53
<b>Figure 17 :</b> Pouvoir pathogène des souches d' <i>Erwinia</i> pectinolytiques sur pommes de terre (volumes des pourritures)-----	54
<b>Figure 18 :</b> Corrélation entre les mesures du poids et du volume des pourritures pour chaque variété de pomme de terre -----	56

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Composition chimique moyenne de la pomme de terre -----	6
<b>Tableau II :</b> Espèces, maladies et hôtes du genre <i>Erwinia</i> -----	11
<b>Tableau III :</b> Résultats de l'observation macroscopique des colonies d' <i>Erwinia</i> pectinolytiques-----	39
<b>Tableau IV :</b> Résultats des tests d'identification préliminaire-----	40
<b>Tableau V :</b> Mise en évidence des <i>Erwinia</i> pectinolytiques -----	41
<b>Tableau VI :</b> Différenciation entre les espèces <i>Erwinia carotovora</i> et <i>Erwinia chrysanthemi</i> -----	42
<b>Tableau VII :</b> Caractères distinctifs entre <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>atroseptica</i> , <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>carotovora</i> et <i>Erwinia chrysanthemi</i> -----	44
<b>Tableau VIII :</b> Résultats du test de fermentation des sucres-----	45
<b>Tableau IX :</b> Tests d'identification complémentaires -----	46

## Introduction

Les plantes constituent la majorité des ressources énergétiques dont dépendent directement ou indirectement les hommes et les animaux. Elles sont également les seuls organismes supérieurs à pouvoir convertir et stocker l'énergie lumineuse sous forme de glucides, lipides et protéines (énergie chimique).

L'accroissement de la productivité en agriculture est devenu un souci constant ces dernières années. En effet, les plantes sont constamment exposées à de nombreux problèmes phytosanitaires qui ont limité sévèrement la productivité agroalimentaire, et ont influencé l'histoire et le développement des pratiques culturales (Walton, 1997).

Les agents responsables des maladies végétales sont très similaires à ceux rencontrés chez l'homme et les animaux. Ils peuvent être biologiques (bactéries, champignons, virus, insectes et nématodes), ou environnementaux (manque de nutriments, lumière, eau, présence de produits toxiques dans le sol ou dans l'air) (Castro et Fontes, 2005).

Les pertes économiques des récoltes dues aux agents phytopathogènes sont estimées à 13% dans le monde. Plus de 11.000 maladies végétales sont causées par 120 genres de champignons, 30 types de virus et huit genres bactériens (Montesinos *et al.*, 2002).

La pomme de terre est l'une des cultures maraîchères les plus touchées par une flore parasitaire et microbienne importante. Les bactéries du genre *Erwinia* caractérisées par une activité pectinolytique (*Pectobacterium*), provoquent les maladies de pomme de terre développées au champ (jambe noire et flétrissements bactériens), ou lors du stockage (pourritures molles). Le développement massif de ces pourritures est à l'origine de préjudices économiques importants. En Algérie, 32% des refus d'importation sont dus aux pourritures molles (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

En plus de la pomme de terre, des dégâts importants occasionnés par les *Erwinia* pectinolytiques ont été signalés sur d'autres plantes hôtes telles que le concombre, le chou-fleur, le brocoli, le poivron, la tomate et la carotte.

La difficulté majeure liée aux bactérioses de la pomme de terre vient du faible nombre de méthodes de lutte disponibles. En effet, contrairement aux maladies fongiques pour lesquelles ces moyens de lutte peuvent inclure des traitements chimiques, les maladies bactériennes ne peuvent faire l'objet de tels traitements pour des raisons d'efficacité ou de réglementation (Yaganza, 2005).

La lutte contre les maladies bactériennes de la pomme de terre fait appel presque exclusivement à des mesures prophylactiques et culturales. Et bien que les cultivars varient dans leur sensibilité aux maladies, aucun n'en est complètement immun (De Boer, 2004). La détection et la mise en évidence des *Erwinia* pectinolytiques, ainsi que le suivi du développement des symptômes, constituent en conséquence une bonne maîtrise des problèmes phytosanitaires.

Vu l'importance économique de la pomme de terre en Algérie et la dépendance actuelle de l'étranger, tant pour les pommes de terre de consommation que de semence, les problèmes phytosanitaires de cette culture méritent bien d'être étudiés et résolus.

Diverses techniques sont utilisées pour l'étude des caractéristiques physiologiques, nutritionnelles, biochimiques, sérologiques et moléculaires de ces pathogènes, mais l'identification biochimique classique reste la plus adaptée et la plus maîtrisée dans nos conditions de travail.

L'identification de nombreuses souches appartenant à l'espèce *Erwinia carotovora*, précédemment réalisée à partir de différentes variétés locales de pomme de terre, par Yahiaoui-Zaidi *et al.* (2003), a permis de révéler une grande diversité biochimique et moléculaire au sein des populations d'*Erwinia* pectinolytiques, avec la présence de souches affiliées à de nouveaux groupes RFLP.

Ainsi, afin d'apporter une collection de souches plus diversifiée, nous avons réalisé une prospection plus large, non seulement sur les tubercules de pomme de terre, mais également sur les fruits de tomate ainsi que les carottes collectés dans la région de Bejaia.

Notre travail expérimental est axé sur les points suivants :

- 1/ Prélèvement et isolement de micro-organismes phytopathogènes appartenant aux *Erwinia* pectinolytiques à partir de différents hôtes.
- 2/ Identification morphologique et biochimique, et distinction entre les différentes espèces et sous-espèces d'*Erwinia* pectinolytiques par une série de tests biochimiques.
- 3/ Réalisation de tests de pathogénicité et d'agressivité sur pommes de terre, tomates et feuilles de tabac, puis observation et évaluation du développement des symptômes d'hypersensibilité et de pourriture molle.

## I) Plantes hôtes

Parmi toutes les cultures attaquées par les micro-organismes phytopathogènes, tels que les *Erwinia* pectinolytiques, la pomme de terre est de loin la plus touchée, ainsi que d'autres hôtes à moindre échelle comme la tomate.

### I-1) La pomme de terre

#### I-1-1) Définition

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) appartient à la famille des Solanacées qui compte environ 2600 espèces, dont certaines sont médicinales et d'autres toxiques (Gurib-Fakim, 2006). Elle fut importée du Pérou par les espagnols à la fin du 16<sup>ème</sup> siècle, pour être cultivée un peu partout en Europe à faible échelle (Jouzier, 2005).

La plante fut introduite en Afrique à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, où elle est rencontrée très fréquemment en zones arides, principalement au nord et au sud du continent africain (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

La pomme de terre est une espèce herbacée, vivace par ses tubercules mais cultivée le plus souvent en culture annuelle. C'est une espèce à multiplication végétative, sa reproduction est assurée par le tubercule, organe de réserve riche en eau et en substances nutritives. Ce tubercule est du point de vue anatomique, une tige modifiée (Spire *et* Rousselle, 1996).

C'est l'une des plantes alimentaires les plus importantes dans le monde, elle vient en quatrième position après le maïs, le blé et le riz (FAO, 2005).

#### I-1-2) Description morphologique

Il est important de souligner que les caractères morphologiques de la pomme de terre subissent des variations importantes sous l'influence du facteur variétal, des conditions climatiques et des techniques culturales (Grison, 1983).

La plante se présente sous forme d'un petit arbuste à tiges vertes et non lignifiées. Les feuilles sont grandes et très découpées, avec 3 à 7 paires de folioles et une foliole terminale (Fig.1).

Les tubercules, nombreux et assez petits, pèsent de 50 à 500 g chacun. La couleur de la peau varie entre le blanc, le jaune, le rose, le rouge, le brunâtre et le violet, tandis que la chair est généralement soit blanche, soit jaune (Bell *et al.*, 2000).

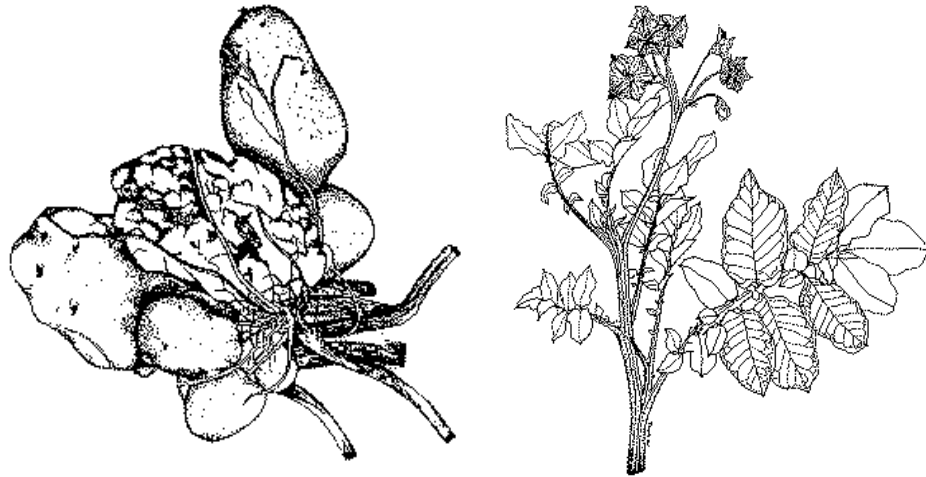


Figure 1 : Plante de la pomme de terre avec ses tubercules (Bell *et al.*, 2000)

### I-1-3) Exigences écologiques

**a) Température :** les températures élevées stimulent la croissance des tiges, par contre les basses températures favorisent davantage la croissance des tubercules. L'optimum de croissance de la pomme de terre se situe entre 15 et 25°C (Patel et Rajput, 2007).

**b) Lumière :** la croissance végétative est favorisée par une longueur du jour élevée (14 à 18 h), tandis que la tubérisation est favorisée par une photopériode inférieure à 12h (Van Dam *et al.*, 1996 ; Chibane, 1999<sub>a</sub>).

**c) Sol :** les sols adéquats à la culture sont ceux qui sont profonds, fertiles et meubles. En général, la pomme de terre se développe mieux dans les sols à texture plus ou moins grossière (texture sablonneuse ou sablo-limoneuse) que dans les sols à texture fine et battante (texture argileuse ou argilo-lumineuse) qui empêchent tout grossissement des tubercules (Chibane, 1999<sub>a</sub> ; Patel et Rajput, 2007).

**d) pH :** dans les sols légèrement acides (pH 5 à 6,6), la pomme de terre peut donner de bons rendements. Une alcalinité excessive du sol peut causer le développement de la galle commune sur tubercule (Chibane, 1999<sub>a</sub>).

**e) Salinité :** la pomme de terre est une plante modérément sensible à la salinité par rapport aux autres cultures maraîchères. Un taux de salinité élevé peut bloquer l'absorption d'eau par le système racinaire, diminuant ainsi la croissance de la plante (Bustan *et al.*, 2004).



## I-1 -4) Propriétés nutritionnelles et thérapeutiques

Peu de plantes ont suscité autant d'intérêt que la pomme de terre, pour ses qualités nutritionnelles et organoleptiques. *Solanum tuberosum* et ses tubercules sont constitués de sucres, protéines, acides organiques, cendres, vitamines et composés phénoliques. Cette composition varie selon le cultivar, les conditions de croissance et d'entreposage ainsi que le régime de fertilisation (Yaganza, 2005 ; Finotti *et al.*, 2006 ; Liu *et al.*, 2007).

C'est un produit versatile et relativement peu dispendieux. Elle constitue une bonne source d'énergie par sa teneur élevée en sucres (environ 75%) et de lysine (0,32-1,4 mg/g), acide aminé essentiel absent chez plusieurs légumes et céréales. Elle présente également une teneur non négligeable en vitamine C et en minéraux (tableau I).

À l'exception de l'acide glutamique presque absent, et des acides aminés soufrés (cystine et méthionine) rencontrés en faible quantité, la pomme de terre contient tous les acides aminés essentiels pour l'homme. Ces caractéristiques font de la pomme de terre le produit végétal le plus équilibré sur le plan nutritionnel parmi les produits alimentaires de base à travers le monde (Yaganza, 2005).

En réponse à l'infection par les micro-organismes phytopathogènes, la pomme de terre peut élaborer plusieurs mécanismes de défense, comme la réaction d'hypersensibilité et la synthèse d'espèces réactives de l'oxygène ( $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ ,  $OH^-$ ,  $^1O_2$ ), des acides salicylique et jasmonique, des phytoalexines, des phénols et des phénylpropanoïdes (Montesano, 2002). Cependant, aucun de ces composés ne peut inhiber complètement le développement de la pourriture molle (Ghanekar *et al.*, 1984 ; Hildenbrand et Ninneman, 1994).

La pomme de terre contient aussi des lectines capables de se lier à des mono ou polysaccharides avec une grande affinité. Ce qui leur permet d'immobiliser et d'agglutiner les cellules microbiennes et probablement de perturber le bon fonctionnement du tube digestif des insectes se nourrissant de la plante, jouant ainsi un rôle dans la défense de cette plante contre les ravageurs (Chrispeels et Raikhel, 1991).

Les effets thérapeutiques de la pomme de terre sont aussi nombreux que variés ; elle possède une action reminéralisante, hypnotique et antispasmodique. Elle est également prescrite pour les cas de grossesses, diabètes, ulcères et névralgies (Grison, 1983).

Elle possède aussi une action parasympholytique et anti-inflammatoire contre les constipations, indispositions hépatiques, acidioses, gastrites, bulbites et duodénites. En outre, elle a un effet vagolytique sur les troubles d'évacuation biliaire. En usage externe, ses propriétés anti-inflammatoires et cicatrisantes sont utilisées pour le traitement des plaies, brûlures et gerçures (Duraffourd et Lapraz, 2002).

**Tableau I :** Composition chimique moyenne de la pomme de terre (Yaganza, 2005)

Composant	Proportion (% de Matière Sèche)
Matière sèche	22,5
Fibres brutes	2-8
Amidon	60-80
Sucres réducteurs	0,1-2
Saccharose	0,5-1,5
Azote total	1,2
Azote protéique	0,5-1
Acide citrique	0,5-7
Acide ascorbique (vitamine C)	0,092
Niacine (vitamine B3)	0,01
Thiamine (vitamine B1)	0,78 (mg/100g)
Riboflavine (vitamine B2)	0,12 (mg/100g)
Cendres	4-6
Calcium	0,019
Magnésium	0,084
Potassium	1,47
Sodium	0,022

### I-1-5) Toxicité

Paradoxalement, la pomme de terre est considérée comme une plante médicinale et toxique à la fois. Comme c'est souvent le cas pour beaucoup de Solanacées, cette plante renferme des glycoalcaloïdes toxiques ( $\alpha$ -solanine et  $\alpha$ -chaconine) qui constituent une défense naturelle contre les insectes prédateurs. Cependant, à des concentrations élevées, ces composés peuvent avoir des effets nuisibles sur la santé humaine et beaucoup de cas d'empoisonnements dus à la consommation de pommes de terre ont été signalés (Abreu *et al.*, 2007). Le taux de ces glycoalcaloïdes varie selon le type de cultivar, les conditions de croissance et de conservation et l'état des tubercules (Bruneton, 2001 ; Wang *et al.*, 2005).

### I-1-6) Production

La production mondiale annuelle de la pomme de terre avoisine 330 millions de tonnes sur une surface de 19 millions d'hectares (FAO, 2005).

Cette production est restée stable dans les pays développés (Europe, Amérique du Nord, etc.) au cours des trois dernières décennies. Par contre, dans les pays en voie de développement, elle est passée de 11% (30 Mt) dans les années 60 à 30% en 2000 (85 Mt). Cette augmentation est due en partie à l'avènement de nouvelles technologies agroalimentaires (Johnson et Veilleux, 2003). Les pays les plus producteurs sont cités en annexe 1.

La culture et la production de la pomme de terre est très largement répandue dans le bassin méditerranéen où elle occupe environ 1 million d'hectares et produit près de 27 Mt.

En Algérie, elle constitue la deuxième production végétale après le blé. L'Algérie est classée en 2<sup>ème</sup> position en Afrique avec une production de 2,156.550 Mt, juste après l'Égypte (2,500.000 Mt) (FAO, 2005).

Elle a connu d'importantes évolutions. Avant l'indépendance, elle occupait 25.000 ha pour une production annuelle de 250.000 tonnes, dont 30% étaient destinées à l'exportation. Après l'indépendance, son importance s'est accrue, elle reste néanmoins localisée dans l'ouest qui fournit près de 45% de la production nationale. 5 wilayas de l'ouest (Djelfa, Mascara, Mostaganem, Tlemcen et Tiaret) et 3 wilayas du centre (Boumerdes, Tizi Ouzou et Tipaza) assurent à elles seules la moitié de la production nationale (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

## **I-1 -7) Maladies et ravageurs**

La pomme de terre demeure sujette à de nombreuses maladies microbiennes et virales, ainsi qu'à des problèmes de qualité au champ et pendant la conservation. Ces maladies augmentent le coût de revient, diminuent le rendement et la qualité des tubercules et induisent des pertes économiques considérables, ainsi qu'une dégradation de l'environnement par l'utilisation excessive des produits chimiques (Degefu *et al.*, 2006).

Les principaux ravageurs et maladies de la pomme de terre sont résumés en annexe 1.

## **I-2) La tomate**

### **I-2-1) Définition**

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) est une plante originaire du Sud-Ouest de l'Amérique latine (centre de l'Équateur, Pérou et nord du Chili) (Peralta *et al.*, 2005).

La tomate a été introduite au 16<sup>ème</sup> siècle en Espagne et en Italie, puis dans les autres pays du bassin méditerranéen et d'Europe, où elle a été longtemps utilisée comme plante ornementale. Considérée comme toxique à l'instar de la belladone et de la morelle, ce n'est qu'au 18<sup>ème</sup> siècle qu'elle a commencé à être consommée (Philouze, 1996).

La tomate est une plante annuelle, appartenant à la famille botanique des Solanacées, c'est une herbe à fleurs pennatiséquées avec un ovaire divisé en 10 à 12 loges. Le fruit est une baie rouge, elle est consommée aussi bien à l'état frais que sous forme de produits dérivés (Crété, 1965). C'est une excellente source d'éléments nutritifs, comme les vitamines (A, B9, C et E), le potassium ainsi que de métabolites secondaires comme les caroténoïdes, les flavonoïdes et les polyphénols, qui sont responsables du pouvoir antioxydant de la tomate (Sahlin *et al.*, 2004 ; Toor et Savage, 2005).

## I-2-2) Exigences pédoclimatiques

Selon Chibane (1999<sub>b</sub>), les exigences pédoclimatiques de la tomate sont les suivantes :

**a) Température :** les basses températures (<10°C) ralentissent la croissance et le développement de la plante, contrairement aux températures élevées (20-25°C).

**b) Humidité relative :** une humidité relative de 75% est jugée optimale, elle permet d'avoir des fruits de bons calibres, avec moins de gerçures et sans défaut de coloration. Une humidité relative trop élevée, couplée à une haute température, favorise le développement des maladies.

**c) Lumière :** la tomate est une culture neutre à la photopériode. Cependant, elle est exigeante en énergie lumineuse, et un manque de lumière peut inhiber l'induction florale et diminuer le pourcentage de germination.

**d) Sol :** en général, la tomate n'a pas d'exigences particulières en matière de sol. Cependant, elle s'adapte bien dans les sols profonds, meubles, drainés et bien aérés.

**e) pH :** la culture de la tomate est indifférente au pH du sol, le rendement varie peu avec la variation du pH. Toutefois, dans les sols à pH basique, certains micro-éléments (Fe, Mn, Zn, Cu) restent peu disponibles à la plante, la carence la plus fréquente étant celle du fer.

**f) Salinité :** la tomate est classée parmi les plantes ayant une tolérance modérée aux sels (Maggio *et al.*, 2004).

**g) Irrigation :** la tomate est une plante assez sensible au stress hydrique qui réduit sérieusement la production, et provoque l'asphyxie des racines et le dépérissement des plants.

## I-2-3) Propriétés nutritionnelles et thérapeutiques

La tomate est une source alimentaire majeure, peu onéreuse, fournissant de l'énergie, des protéines, des fibres, des vitamines et des pigments aussi bien que d'autres aliments. Elle possède surtout au niveau des feuilles et des tiges des métabolites secondaires biologiquement actifs, (composés phénoliques, phytoalexines, inhibiteurs de protéases, caroténoïdes et glycoalcaloïdes), qui agissent comme facteurs de défense naturelle contre les micro-organismes, les insectes et les vers. Ces métabolites ont à la fois des effets bénéfiques et délétères sur le régime alimentaire (Friedman, 2004).

Le lycopène est un caroténoïde présent dans la tomate et ses produits dérivés, c'est l'un des antioxydants les plus puissants parmi les caroténoïdes alimentaires. De nombreuses études épidémiologiques ont montré que la consommation de tomates et de produits de tomates diminue le risque de maladies chroniques (cancer et maladies cardiovasculaires) (Agarwal et Rao, 2000 ; Blum *et al.*, 2005).

La disponibilité du lycopéne dans les tomates dépend de nombreux facteurs comme la saison, la température et l'état frais ou transformé du fruit (Ahuja *et al.*, 2006).

La plante renferme aussi 10 à 30 mg/kg de tomatine, cette dernière possède une activité antimicrobienne en agissant comme substance de défense préventive (phytoanticipine) contre les phytopathogènes de la tomate (Ito *et al.*, 2007). Par ailleurs, à l'instar de la majorité des végétaux supérieurs, les racines de la tomate se comportent comme des organes de piégeage des métaux lourds, constituant ainsi une barrière efficace s'opposant à une exportation massive de polluants métalliques vers les parties aériennes (Chaffei *et al.*, 2006).

La tomate possède aussi des propriétés alcalinisantes du sang, elle convient aux rhumatisants et goutteux. Elle est également anti-inflammatoire et anesthésique (Bezanger-Beauquesne *et al.*, 1990).

## I-2-4) Production

La tomate est l'un des légumes les plus cultivés et les plus consommés dans le monde, avec une production mondiale annuelle de 124,111.781 Mt (Doymaz, 2007). La liste des principaux pays producteurs est donnée en annexe 1.

En Algérie, la production a atteint 1,023.450 Mt, loin cependant derrière l'Égypte (7,600.000 Mt) et le Maroc (1,205.510 Mt) (FAO, 2005).

Cette culture occupe une place prépondérante dans l'économie agricole algérienne. Sur une superficie globale de plus de 292.000 ha, la tomate se place au premier rang parmi les cultures maraîchères cultivées sous serre avec 51% de la production totale. En Algérie, les régions les plus productrices possèdent des conditions climatiques favorables pour l'obtention de bons rendements. La particularité écologique de cette culture l'expose à diverses nuisances, notamment les insectes déprédateurs et les maladies (Nechadi *et al.*, 2002).

## I-2-5) Maladies et ravageurs

La tomate et en particulier la tomate sous serre demeure l'objet de nombreux ravageurs et maladies microbiennes occasionnant parfois des dégâts très importants, ceci malgré l'utilisation de variétés hybrides, résistantes aux nématodes et aux maladies.

Les principaux ravageurs et maladies de la tomate sont : **les maladies fongiques** (mildiou, rhizoctonie, dartrose et sclérotiniose), **les maladies bactériennes** (chancre bactérien, flétrissement bactérien, moucheture de la tomate et pourriture molle), **les viroses** (rainure du tabac, mosaïque commune et bigarrure), **les insectes et ravageurs** (nématodes, acariens et noctuelles) ainsi que **les désordres physiologiques** (pourriture apicale, flétrissure du noyer, boutissure et maturation inégale) (Jarvis et McKeen, 1991 ; Chibane, 1999<sub>b</sub>).

## II) Généralités sur les *Erwinia*

### II-1) Définition

*Erwinia* est le principal genre bactérien responsable de désastres agricoles sur beaucoup de cultures, causant ainsi des nécroses sèches, des galles, des flétrissements et des pourritures molles. Ces bactéries furent baptisées *Erwinia* en honneur au phytopathologiste américain Erwin F. Smith (Winslow *et al.*, 1917 ; Muraschi *et al.*, 1965).

Ce genre appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, la plupart des *Erwinia* sont des phytopathogènes, bien que certaines espèces soient impliquées dans des pathologies humaines (Chatterjee et Starr, 1973).

Ainsi, O'Hara *et al.* (1998) ont isolé l'espèce *Erwinia persicinus* à partir de l'urine de sujets souffrant d'infections urinaires, cette espèce est un agent de nécroses des haricots présent ordinairement dans les fruits et légumes. Par ailleurs, Duarte *et al.* (2000) ont démontré que certaines souches d'*Erwinia chrysanthemi* peuvent adhérer aux cellules gastro-intestinales humaines, et induire un stress oxydatif pouvant causer une mort cellulaire.

La première description d'une bactérie pectinolytique revient à Jones qui l'isola en 1901 à partir d'une pourriture humide de la carotte et la nomma *Bacillus carotovorus*.

En 1902, Appel isola en Allemagne un organisme semblable d'une jambe noire de la pomme de terre qu'il dénomma *Bacillus phytophthorus*, alors que parallèlement aux Pays-Bas, Van Hall (1902) isola d'un symptôme similaire une bactérie qu'il nomma *Bacillus atrosepticus* (Hélias, 1999).

Le nom *Erwinia* fut proposé pour la première fois par Winslow *et al.* (1917), afin de regrouper en un seul genre toutes les entérobactéries pathogènes, saprophytes et épiphytes des végétaux (Kwon *et al.*, 1997 ; Toth *et al.*, 2003).

### II-2) Taxonomie

La classification et la nomenclature des espèces du genre *Erwinia* furent l'objet de nombreuses modifications pendant de longues années amenant ainsi le déplacement de ces espèces vers de nouveaux genres.

Dans l'ensemble des bactéries phytopathogènes appartenant au genre *Erwinia*, le caractère pectinolytique est assez prépondérant pour que Waldee propose la création du genre *Pectobacterium*, séparant ainsi les *Erwinia* pectinolytiques des autres espèces.

Par la suite, Dye propose de maintenir le genre *Erwinia* qu'il divise en quatre groupes : le groupe *Amylovora* (agents de flétrissements et du feu bactérien), le groupe *Carotovora* qui rassemble toutes les espèces pectinolytiques, le groupe *Herbicola* qui contient des bactéries épiphytes et un quatrième groupe constitué d'espèces atypiques (Brenner *et al.*, 1972).

Cependant, cette classification ne fut pas suivie par le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. D'après la neuvième édition de ce manuel de taxonomie, il existerait 15 espèces appartenant au genre *Erwinia* (tableau II).

Le séquençage des ADNr 16S a permis de déplacer les espèces originellement classées dans le genre *Erwinia* vers de nouveaux genres qui sont : *Brenneria*, *Dickeya*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Pectobacterium*, *Samsonia* et *Erwinia* sensu stricto.

Récemment, les entérobactéries phytopathogènes ont été divisées sur la base d'analyse de séquences nucléotidiques et peptidiques en deux principaux groupes : un groupe contenant les genres *Erwinia* et *Pantoea* et un deuxième groupe composé des genres *Pectobacterium*, *Brenneria*, *Samsonia* et *Dickeya* (Young et Park, 2007).

Les caractéristiques physiologiques et biochimiques du genre *Erwinia* sont représentées en annexe 1.

**Tableau II :** Espèces, maladies et hôtes du genre *Erwinia* (Pérombelon, 1992)

Espèce	Hôte	Maladie, Symptôme
<i>E. amylovora</i>	Rosacées (ornementales et fruitières)	Feu bactérien
<i>E. cacticida</i>	Cactacées : <i>Opuntia</i> sp., <i>Carnegiae gigantea</i>	Pourriture des cactées
<i>E. carotovora</i>	Nombreuses plantes dont <i>Solanum tuberosum</i>	Pourriture molle et jambe noire sur pomme de terre
<i>E. chrysanthemi</i>	Nombreuses plantes dont <i>Solanum tuberosum</i>	Pourriture molle et flétrissement Vasculaire
<i>E. cyripedii</i>	<i>Orchidaceae</i> , <i>Cypripedium</i>	Pourriture brune
<i>E. herbicola</i>	Nombreuses plantes	Epiphytes ou pathogènes secondaires
<i>E. mallotivora</i>	<i>Mallotus japonicus</i>	Taches foliaires
<i>E. nigrifluens</i>	Noyer : <i>Juglans regia</i>	Chancre cortical du noyer
<i>E. persicinus</i>	Tomate, Banane, Concombre	Epiphyte
<i>E. psidii</i>	Goyavier : <i>Psidium guajava</i>	Affaissement et dessèchement des tissus vasculaires du goyavier
<i>E. quercina</i>	Chêne : <i>Quercus agrifolia</i> , <i>Quercus wializeni</i>	Chute des glandes Suintement de la sève
<i>E. rhapontici</i>	<i>Rheum rhaponticum</i> <i>Triticum aestivum</i> <i>Hyacinthus orientalis</i>	Pourriture du collet de la rhubarbe Grain rose du blé tendre Brunissement interne des bulbes de jacinthe et pourriture molle de l'oignon
<i>E. rubrifaciens</i>	Noyer : <i>Juglans regia</i>	Chancre bactérien du phloème du noyer
<i>E. salicis</i>	<i>Salix</i> sp.	Nécrose vasculaire Flétrissement du saule
<i>E. tracheiphila</i>	<i>Cucurbita</i> sp.	Flétrissement vasculaire

### II-3) Description des *Erwinia* pectinolytiques

Les *Erwinia* pectinolytiques sont des bactéries à Gram négatif, non sporulées, en bâtonnet droit, de 0,5 à 1,0 par 1,0 à 3,0 µm de diamètre. Les cellules sont mobiles par des flagelles péritriches. Elles peuvent être isolées, par paires et quelquefois en courtes chaînes. Elles sont caractérisées par un métabolisme fermentatif; le type respiratoire est aéro-anaérobie facultatif, oxydase négative, catalase positive et nitrate réductase positive. La température optimale de croissance de ces espèces est de 27 à 32°C, leur température maximale varie de 32 à 42°C. Ces bactéries possèdent une forte activité pectinolytique due à la production de pectinases (Lelliott et Dickey, 1984).

Les caractéristiques biochimiques et physiologiques des *Erwinia* pectinolytiques sont résumées en annexe 1.

Hauben *et al.* (1998) ont proposé sur la base d'homologies entre les séquences d'ARN 16S de regrouper toutes les espèces pectinolytiques d'*Erwinia* dans le genre *Pectobacterium*.

Les noms *Erwinia* et *Pectobacterium* sont des noms de genre valides et publiables qui décrivent parfaitement ce groupe de bactéries pectinolytiques (Avrova *et al.*, 2002). Toutefois, jusqu'à présent le nom de genre *Pectobacterium* n'a pas encore été adopté unanimement par la communauté scientifique, et le nom *Erwinia* reste le plus couramment utilisé pour décrire ce groupe (Pérombelon, 2002 ; Toth *et al.*, 2003 ; Yap *et al.*, 2004).

Ces bactéries ont été étudiées depuis de nombreuses années sous l'appellation *Erwinia carotovora* et *Erwinia chrysanthemi* et pour plus de facilité, c'est sous ces noms respectifs que nous les citerons dans ce travail, bien que le titre du mémoire fasse référence au genre *Pectobacterium*.

#### II-3-1) *Erwinia carotovora*

Les sous-espèces d'*Erwinia carotovora* sont des bactéries psychrotrophes qui se développent à de larges gammes de températures (5 à 36°C) avec un optimum entre 27 et 30°C. D'après leurs caractéristiques sérologiques, on distingue plus de 40 sérogroupes, dont quatre seulement regroupent *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* (Yaganza, 2005).

*Erwinia carotovora* constitue un taxon complexe, composé de souches ayant des caractéristiques phénotypiques, biochimiques, environnementales et génétiques très variées. Ces bactéries peuvent infecter différentes espèces végétales, et beaucoup de leurs gènes de virulence ont été identifiés (Toth *et al.*, 2003 ; Yap *et al.*, 2004).



Gardan *et al.* (2003) ont prôné sur la base d'analyses moléculaires, phénotypiques, sérologiques et phylogénétiques une nouvelle classification, où il est question de l'élévation de trois sous-espèces ; *Pectobacterium carotovorum* ssp. *atrosepticum* (*Pca*), *Pectobacterium carotovorum* ssp. *betavascularum* (*Pcb*) et *Pectobacterium carotovorum* ssp. *wasabiae* (*Pcw*) à l'échelle de l'espèce pour devenir *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium betavascularum* et *Pectobacterium wasabiae*.

Plus récemment, El Tassa et Duarte (2006) ont proposé sur la base d'analyses PCR-RFLP l'avènement d'une nouvelle sous-espèce, *Pectobacterium carotovorum* ssp. *brasiliensis* qui est l'agent de la jambe noire de pomme de terre au sud du Brésil. Et soutiennent que cette nouvelle souche d'origine brésilienne est plus virulente que *Pectobacterium atrosepticum*, l'agent principal de la jambe noire.

### **II-3-1-1) *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica***

*Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* (*Eca*) possède un spectre d'hôtes étroit, elle infecte les pommes de terre dont elle est l'agent pathogène majeur au champ et pendant le stockage (Pérombelon et Kelman, 1980).

Selon Pajerowska-Mukhtar (2005), c'est la bactérie la plus dévastatrice sur les tubercules de pomme de terre, au même titre que l'espèce *Ralstonia solanacearum*, l'agent responsable de la pourriture brune.

Elle peut être différenciée de la sous-espèce *carotovora* sur la base des caractéristiques physico-chimiques, comme la production d'acides à partir de l' $\alpha$ -méthylglucoside et la production de substances réductrices du sucrose. Elle est également caractérisée par des tests de pathogénicité, ainsi que par sa composition en acides gras. De plus, contrairement à *Ecc*, les souches d'*Eca* sont incapables de se multiplier à 37°C et du point de vue sérologique, elles sont beaucoup plus homogènes (De Boer *et al.*, 1987 ; Ward et De Boer, 1994).

### **II-3-1-2) *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora***

*Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* (*Ecc*) est responsable des maladies de pourriture molle sur beaucoup de plantes hôtes. Elle est aussi responsable de la pourriture aérienne des tiges (la jambe noire aérienne). À des températures élevées, elle peut également causer des symptômes similaires à la jambe noire.

Du fait de sa très large gamme d'hôtes, elle sévit dans des régions à différentes températures, dans le sol, dans les eaux de surface comme les lacs, les rivières et les océans ainsi que dans la rhizosphère des plantes hôtes et non hôtes (Pérombelon et Kelman, 1980).

La différenciation entre ces deux sous-espèces (*Eca* et *Ecc*) est importante pour les cultivateurs de pommes de terre, afin de choisir les rotations culturales adéquates lorsqu'ils font face à un problème de contamination (Seo *et al.*, 2002).

### **II-3-1-3) *Erwinia carotovora* ssp. *betavascolorum***

Le nom *Erwinia carotovora* ssp. *betavascolorum* (*Ecb*) a été proposé pour la première fois par Thomson *et al.* (1981). C'est un pathogène de la canne à sucre et de la betterave sucrière qui induit des pourritures molles et des nécroses vasculaires.

Les souches d'*Ecb* poussent sur des milieux à base d' $\alpha$ -méthylglucoside et de maltose comme sources de carbone ainsi que d'hypoxanthine et de pyrazinamide comme sources d'azote. Le GC% de cette sous-espèce se situe entre 54,1 et 54,6 (Hauben *et al.*, 1998). Certaines souches d'*Ecb* peuvent inhiber la croissance des *Ecc in vitro* et sur tubercules, cet antagonisme est dû à la production d'antibiotiques à large spectre (Costa et Loper, 1994).

### **II-3-1-4) *Erwinia carotovora* ssp. *odorifera***

*Erwinia carotovora* ssp. *odorifera* (*Eco*) provoque une pourriture des feuilles externes et du collet d'endives accompagnée d'une odeur âpre caractéristique. *Eco* a été longtemps confondue avec *Eca* en raison de leur proximité biochimique. Les souches d'*Eco* étaient alors qualifiées d'*Eca* atypiques, dans la mesure où leurs propriétés sérologiques ainsi que quelques caractères biochimiques et physiologiques ne correspondaient pas exactement à celles des *Eca* classiques, comme notamment leur capacité à pousser à 37°C (Darasse *et al.*, 1994).

### **II-3-1-5) *Erwinia carotovora* ssp. *wasabiae***

*Erwinia carotovora* ssp. *wasabiae* (*Ecw*) est un pathogène du rhizome du wasabi (*Eutrema wasabi*) et des racines de raifort qui provoque des pourritures molles internes. Cette bactérie possède une activité gélatinase mais pas d'activité  $\beta$ -galactosidase, elle utilise les citrates et ne produit pas d'acides à partir de l' $\alpha$ -méthylglucoside.

Par ailleurs, elle est incapable de dégrader l'inuline, le maltose, le mélibiose et le raffinose. Le GC% de cette sous-espèce peut aller de 51,4 à 51,7 (Hauben *et al.*, 1998).

### **II-3-2) *Erwinia chrysanthemi***

*Erwinia chrysanthemi* (*Ech*), originellement isolée du chrysanthème par Burkholder (1953), est un agent de pourritures molles et de flétrissements sur beaucoup de plantes comme la pomme de terre, l'oignon, la chicorée, la carotte, la patate douce, le riz et le maïs. Sa température optimale de croissance est située entre 35 et 37°C (Janse et Ruissen, 1988).

Elle a d'abord été classée comme sous-espèce d'*Erwinia carotovora* avant de s'individualiser comme espèce à part entière. Le statut d'*E. chrysanthemi* et d'*E. carotovora* comme espèces séparées est davantage confirmé par leur différence au niveau des séquences d'ADN, en plus d'autres approches biochimiques (Nassar *et al.*, 1994).

C'est la seule espèce du genre *Erwinia* qui est capable de produire des pigments bleus insolubles dans l'eau, appelés indigoïdines, un milieu gélosé additionné de glycérol (NGM) a été développé pour son isolement et sa différenciation (Lee et Yu, 2006).

Par ailleurs, *Erwinia chrysanthemi* synthétise de grandes quantités de putrescine et de cadavérine, cette dernière étant absente chez *Erwinia carotovora* qui sécrète du diaminopropane, en plus de la putrescine (Zherebilo *et al.*, 2001).

La taxonomie, la sérologie et la gamme d'hôtes d'*Ech* ont fait l'objet de nombreuses études. Sur la base de tests biochimiques spécifiques, les souches d'*Ech* ont été divisées par Dickey (1979) en 5 biovars (pathovars), puis amenés à 6 en fonction des plantes hôtes concernées (I : pv. *dieffenbachia*; II : pv. *parthenii*; III : pv. *chrysanthemi*; IV : pv. *zuae*; V : pv. *dianthicola*; VI : pv. *paradisiaca*) (Yang *et al.*, 2001). Tandis qu'en 1990, Ngwira et Samson ont élargit la taxonomie des souches d'*Ech* à 9 biovars (Hélias, 1999).

Samson *et al.* (2004) ont suggéré le transfert des espèces *Pectobacterium chrysanthemi* et *Brenneria paradisiaca* vers le genre *Dickeya* (*Dickeya chrysanthemi* et *Dickeya paradisiaca*), et ont décrit quatre nouvelles espèces (*Dickeya dadantii*, *Dickeya dianthicola*, *Dickeya dieffenbachiae* et *Dickeya zuae*).

### III) Interaction Plante-*Erwinia* pectinolytiques

#### III-1) Maladies de la jambe noire et de la pourriture molle

L'infection des pommes de terre par les *Erwinia* pectinolytiques peut mener au développement de plusieurs symptômes de maladies durant la croissance et l'entreposage, comme le manque à la levée, la chlorose, le flétrissement bactérien ainsi que les maladies de jambe noire et de pourriture molle (Hélias *et al.*, 2000).

##### III-1-1) Agents responsables et transmission

*Erwinia carotovora* spp. *atroseptica* (*Eca*), *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* (*Ecc*) et *Erwinia chrysanthemi* (*Ech*) sont les agents responsables des deux plus importantes maladies bactériennes de la pomme de terre, la jambe noire des tiges au champ et la pourriture molle des tubercules en cours de conservation (Pérombelon et Kelman, 1980).

La jambe noire est causée principalement par *Eca*, bien que des symptômes similaires peuvent être engendrés par *Ecc* et *Ech*. Les tubercules de semence sont la source clef de l'inoculum, les bactéries initient la décomposition des tubercules après plantation, leur transit via la zone racinaire a pour résultat la contamination des tubercules-fils (De Boer, 2002).

L'infection latente des tubercules et des tiges est la plus répandue, comme tout pathogène opportuniste, la bactérie tend à agir quand la résistance de la pomme de terre est défaillante. Contrairement à la pourriture molle, la jambe noire se développe généralement dans des conditions aérobies ou un grand nombre de pathogènes envahit les tiges après multiplication dans les tubercules-mères pourris (Pérombelon, 2002).

La subérine sert de couche défensive pour les lenticelles en empêchant l'entrée des bactéries pectinolytiques dans le cortex des tubercules. La suppression de cette couche rend les lenticelles sensibles à l'invasion bactérienne et facilite l'infection (Barkai-Golan, 2001).

L'interaction entre les *Erwinia* pectinolytiques et les tubercules de *Solanum tuberosum* est largement déterminée par les conditions environnementales, les facteurs prédisposant la pourriture molle sont : l'humidité excessive, l'anaérobiose ainsi que la température (Schober et Zadoks, 1999).

La dispersion de ces bactéries se fait par les pluies, les eaux d'irrigation, les aérosols, les insectes, les nématodes, les vers de terre, la microfaune et la machinerie contaminée. La bactérie peut également se répandre aux autres plantes, surtout les plantes qui se reproduisent végétativement, comme c'est le cas de la pomme de terre (Pérombelon et Kelman, 1980).

Le cycle de développement de la pourriture molle est schématisé dans la figure suivante.

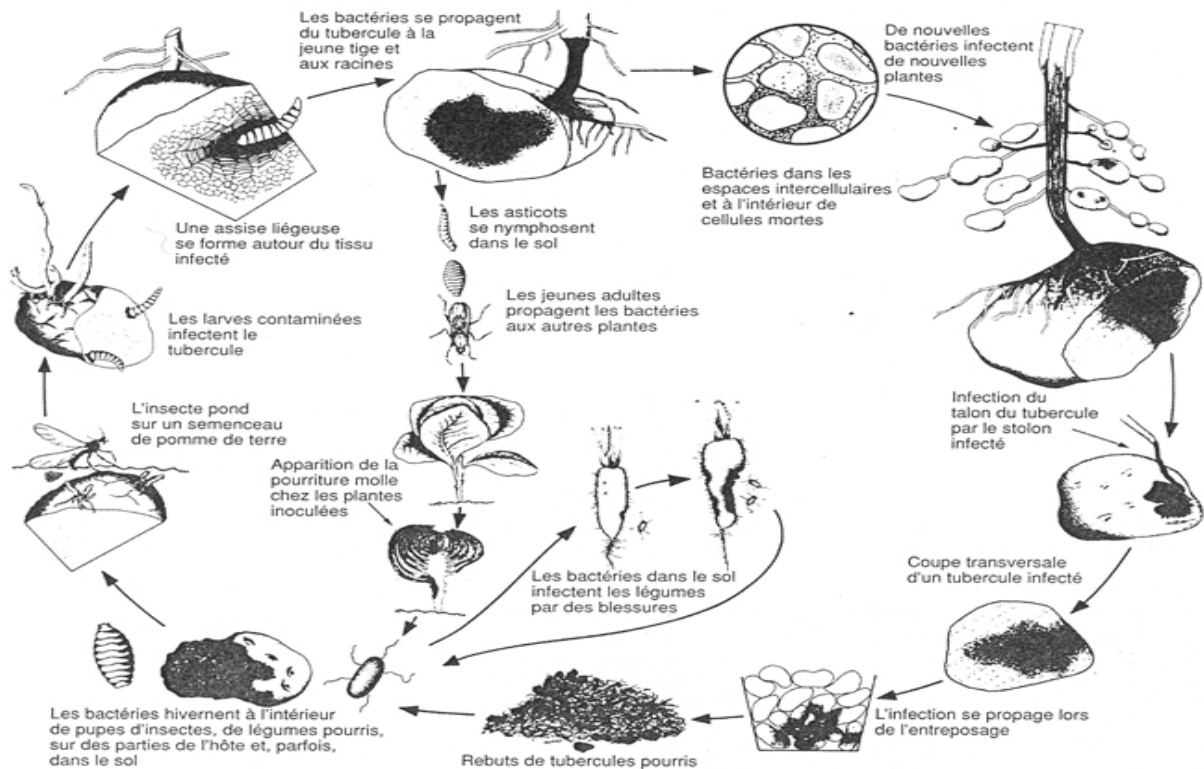


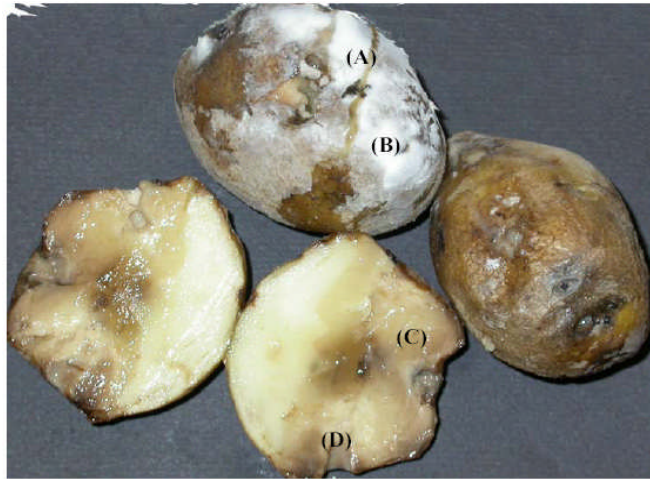
Figure 2 : Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne (Yaganza, 2005).

### III-1-2) Description des symptômes

En conservation, les tubercules infestés subissent une rupture, libérant ainsi une charge bactérienne exsudée aux tubercules adjacents. Le développement de biofilms d'eau produit les conditions d'anaérobiose idéales pour la propagation de la maladie qui se développe parfois comme une infection secondaire, en suivant les envahisseurs primaires comme le mildiou, lequel occasionne des blessures et détruit les tissus de l'hôte (Spencer, 2003).

La chronologie des étapes de la pourriture molle est particulièrement importante. D'abord, la bactérie est présente au stade latent dans les aires d'infection privilégiées comme les blessures et les lenticelles, la multiplication active débute mais sans macération cellulaire. Quand un degré critique généralement estimé à  $10^7$ - $10^8$  cellules/g de tissus pourris est atteint, la bactérie produit alors de grandes quantités d'enzymes extracellulaires qui dégradent les cellules, les organes et les tissus végétaux (Pérombelon, 2002 ; Smadja *et al.*, 2004).

Les parties pourries et saines de la chair sont au début bien délimitées, et les attaques lenticulaires sur tubercule se manifestent par l'apparition de petites taches diffuses, d'aspect huileux autour des lenticelles. Ces nécroses sont de couleur marron avec un point noir foncé au centre. Les bactéries se répandent ensuite dans le tubercule en passant par les tissus vasculaires. Puis, les tissus sous-épidermiques se dépriment, deviennent spongieux, brunissent et se crevassent provoquant ainsi une pourriture molle (Fig. 3) (Yahiaoui-Zaidi, 2004).



**Figure 3 :** Tubercules infectés par une souche d'*Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* (Yaganza, 2005)

- (A) : suintement du tubercule qui favorise la dissémination de la maladie en entrepôt ;
- (B) : développement secondaire de moisissures ;
- (C) : chair du tubercule pourri ;
- (D) : sites d'infection

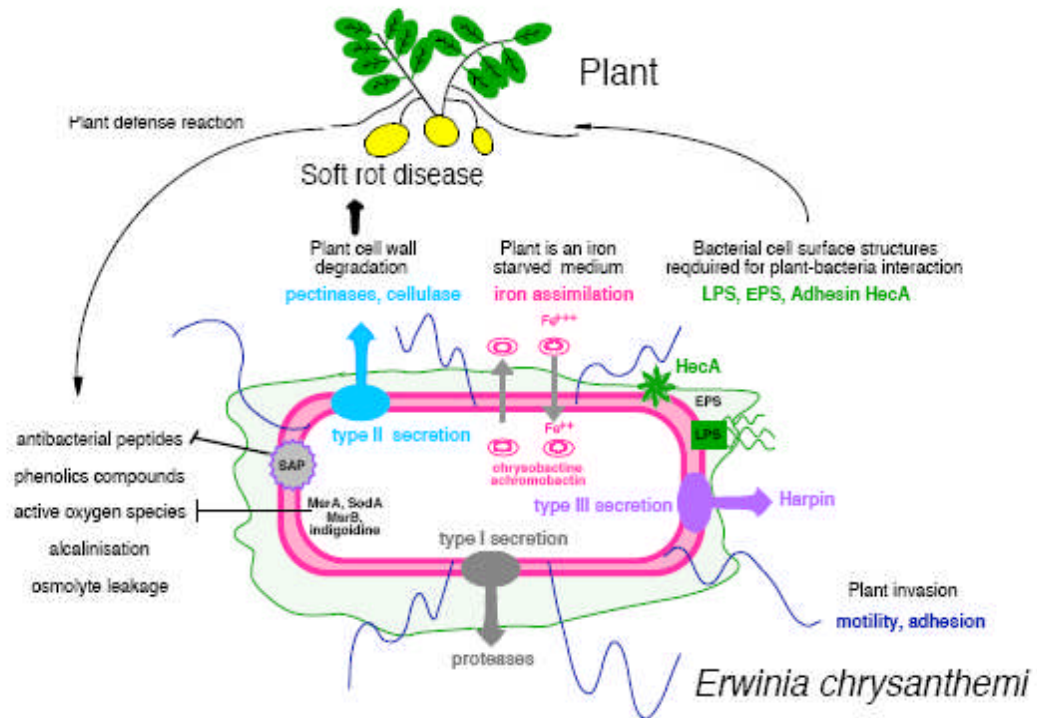
La pourriture molle des tiges de tomates se manifeste généralement chez les tomates sous serre, elle est fréquemment provoquée par *E. carotovora* ssp. *carotovora* et *E. chrysanthemi* qui envahissent préférentiellement la moelle des plants prêts à fructifier en induisant des flétrissements. Les plants se liquéfient et des nécroses brunes apparaissent à l'aisselle des feuilles, puis la tige s'évide et devient aqueuse.

À mesure que l'infection progresse tout le plant flétrit et s'affaisse, le résultat est l'effondrement total de la plante. La maladie apparaît d'abord dans les racines de quelques plantes, probablement par infection des graines ou du sol pour se propager ensuite vers les autres plantes par le biais des pratiques culturales (Jarvis et McKeen, 1991 ; Aysan *et al.*, 2003).

### III-2) Facteurs de pathogénicité des *Erwinia* pectinolytiques

Les bactéries appartenant au genre *Erwinia* possèdent deux modes de virulence, les pathogènes biotrophiques dégradent leurs plantes hôtes lentement, donnant ainsi une opportunité maximale pour la réplique du pathogène. Alors que les bactéries nécrotrophiques, qui incluent les *Erwinia* pectinolytiques, utilisent une force de macération brute, dont le résultat est une mort rapide et immédiate des tissus (Jackson et Taylor, 1996).

Vu le séquençage complet de son génome, *Erwinia chrysanthemi* constitue un modèle de choix pour l'étude des fonctions impliquées dans la virulence bactérienne et dans l'interaction bactérie-plante hôte (Fig. 4).



**Figure 4** : Schéma descriptif de l'interaction entre *Erwinia chrysanthemi* et la plante hôte (Sepulchre *et al.*, 2007)

Les espèces *Erwinia carotovora* et *Erwinia chrysanthemi* secrètent de grandes quantités d'enzymes extracellulaires, comme les pectinases, les cellulases et les protéases, en plus d'autres déterminants de pathogénicité tels que les harpines et les N-acyl homosérine lactones (Hasegawa *et al.*, 2005).

Les mécanismes intervenant dans la virulence des *Erwinia* pectinolytiques requièrent des facteurs aussi variés que multiples dont les principaux sont les suivants.

### III-2-1) Enzymes pectinolytiques

Les enzymes pectiques ou pectinases sont produites par de nombreux micro-organismes phytopathogènes, et jouent un rôle clef dans la dégradation des parois cellulaires et la macération des tissus végétaux (Atkinson *et al.*, 1986).

Cette macération se fait par la dépolymérisation des parois cellulaires végétales, et vu la complexité structurale de ces dernières, elle requiert la combinaison des pectinases (pectate lyases (Pels), pectine méthylestérases (Pems), pectine lyases (Pnls) et polygalacturonases (Pehs)), des cellulases (Cels) et des protéases (Prts) (Brencic et Winans, 2005). Les pectinases et les cellulases sont produites par un système de sécrétion de type II, codé par les gènes *out*. La production des protéases est assurée par un système de type I codé par les gènes *prt*. Alors que la synthèse des protéines d'avirulence est réalisée par un mécanisme de type III (codé par les gènes *hrp*) (Barabote *et al.*, 2003 ; Brenic et Winans, 2005).

**a) Pectate lyases :** l'activité pectate lyase (EC 4.2.2.2) est la principale cause de la pourriture molle. En effet, des extraits purifiés de pectate lyases peuvent à eux seuls induire une macération cellulaire. Ces enzymes clivent les substances pectiques des parois cellulaires végétales par  $\beta$ -élimination, générant ainsi des oligogalacturonides insaturés aux extrémités non réductrices des carbones 4 et 5 (Pissavin *et al.*, 1998 ; Smadja *et al.*, 2004). Ces enzymes peuvent aussi déclencher de nombreuses réponses de défenses chez les plantes hôtes, telles que la biosynthèse de phytoalexines ou d'inhibiteurs enzymatiques (Wegener et Olsen, 2004).

**b) Pectine lyases :** les pectine lyases (EC 4.2.2.10), appelées aussi pectine méthyltranséliminases, clivent préférentiellement les pectines et les polygalacturonates (PGA) hautement estérifiés par  $\beta$ -élimination. Mais sont inactives vis-à-vis des PGA non estérifiés. La plupart des *Erwinia* pectinolytiques présentent une activité endopectine lyase en réponse aux agents dommageables à l'ADN (Hugouvieux-Cotte-Pattat *et al.*, 1996).

**c) Polygalacturonases :** les polygalacturonases (EC 3.2.1.15), ou pectate hydrolases (Pehs) clivent les liaisons glycosidiques  $\alpha$  (1-4) au niveau des pectates par hydrolyse, pour donner des produits saturés (Hyytiäinen, 2005). Alors qu'*Erwinia carotovora* possède à la fois une activité endo et exopolygalacturonase, la seule activité présente chez *Erwinia chrysanthemi* est une activité exopolygalacturonase (Hugouvieux-Cotte-Pattat *et al.*, 1996).

### III-2-2) Enzymes non pectinolytiques

**a) Cellulases :** la dégradation complète de la cellulose dans la matrice polysaccharidique des parois cellulaires requiert différentes hydrolases comme les endoglucanases cellulolytiques et les cellobiases (An *et al.*, 2005).

L'importance des cellulases (Cels : EC 3.2.1.4) dans la virulence des bactéries phytopathogènes varie selon les espèces. L'activité cellulase chez les *Erwinia* pectinolytiques reste restreinte. Cependant, des mutants défectifs dans la production de cellulases montrent clairement une virulence réduite sur tabac et sur pommes de terre. La digestion des parois cellulaires facilite la pénétration des tissus végétaux, ainsi que leur dégradation par les enzymes pectinolytiques, et permet la libération des composants de ces parois qui seront utilisés par les bactéries pour leurs besoins nutritifs (Mae *et al.*, 1995).

**b) Protéases :** les espèces et sous-espèces d'*Erwinia* pectinolytiques sécrètent de grandes quantités de protéases qui facilitent la dégradation des parois cellulaires végétales, des membranes cytoplasmiques et des protéines cytosoliques. En outre, des protéases purifiées d'*Ecc* peuvent induire une mort cellulaire limitée sur certains hôtes.



La libération d'acides aminés et de fractions peptidiques permet d'accroître le taux de croissance bactérienne, augmentant ainsi la capacité de colonisation du pathogène (Kyöstiö *et al.*, 1991).

### III-2-3) Facteurs de virulence additionnels

**a) Mobilité :** la mobilité flagellaire permet aux *Erwinia* pectinolytiques de chercher des environnements favorables tout en échappant aux conditions détritantes de l'environnement, elle permet également à ces bactéries d'entrer en compétition avec d'autres micro-organismes. En outre, le flagelle lui-même secrète certains facteurs de virulence. Chez quelques systèmes animaux et végétaux, les flagellines bactériennes peuvent induire des réponses de défense chez l'hôte (Hossain *et al.*, 2005).

**b) Lipopolysaccharides :** les lipopolysaccharides (LPS) contribuent à la résistance des *Pectobacterium* vis-à-vis des substances antimicrobiennes de l'hôte, ce phénomène appelé « effet barrière » facilite la pénétration des bactéries et leur infectivité. Par ailleurs, les LPS peuvent déclencher des réponses de défense chez les plantes, toutefois, ces effets sont souvent très faibles (Newman *et al.*, 2000 ; Dow *et al.*, 2000). Toth *et al.* (1999) ont constaté qu'une mutation dans la biosynthèse des LPS affecte aussi la virulence des souches d'*Eca*.

En plus de fournir une barrière imperméable contre l'entrée des substances nuisibles, les LPS interagissent aussi avec les pectines végétales par contact direct ou par libération de micelles. Ce degré d'interaction est influencé par de nombreux facteurs comme la température, le pH, ainsi que la présence de cations divalents comme le calcium ou le magnésium (Beri, 2005).

**c) Exopolysaccharides :** les exopolysaccharides (EPS) sont des facteurs de pathogénicité importants chez *Erwinia chrysanthemi*. Des souches mutantes d'*Ech* déficientes dans la production d'EPS ont montré des symptômes de macération réduits sur la violette africaine (Condemine *et al.*, 1999). Par ailleurs, Künstler *et al.* (2005) ont démontré que les EPS des micro-organismes phytopathogènes constituent une barrière efficace vis-à-vis des substances toxiques ( $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ ,  $OH^-$ ) produites par les cellules végétales.

**d) Sidérophores :** en réponse à une carence en fer, *Erwinia chrysanthemi* et *Erwinia carotovora* synthétisent différents sidérophores comme la chrysobactine, l'achromobactine et l'aérobactine. Ces derniers jouent ainsi un rôle protecteur contre le stress oxydatif (Expert, 1999 ; Franza *et al.*, 1999 ; Franza *et al.*, 2005).

**e) Quorum Sensing :** de nombreuses souches d'*Erwinia* présentent des modulations de leur expression génique en fonction de leur densité de population. Ce phénomène de régulation appelé Quorum Sensing participe au contrôle de fonctions biologiques variées telles que la pathogénicité, la production d'antibiotiques, la production d'enzymes extracellulaires, le système de sécrétion Hrp et la formation de biofilms (Von Bodman *et al.*, 2003 ; Welch *et al.*, 2005). Le Quorum Sensing joue un rôle clef dans la régulation de la pourriture molle, les molécules signal (autoinducteurs) impliquées dans ce phénomène appartiennent à la famille des N-acyl homosérine lactones (AHLs) (Jafra *et al.*, 2006).

L'infection se déroule en deux phases distinctes ; une étape primo-invasive passive (pré-quorum), au cours de laquelle les bactéries se multiplient aux points d'infections (blessures, lenticelles, etc.) sans macérer les tissus de l'hôte. Ensuite, une phase lytique active (post-quorum) marquée par la production massive d'enzymes exocellulaires, et d'autres produits comme les antibiotiques qui jouent un rôle important dans la compétition avec les autres micro-organismes opportunistes pour coloniser les sites d'infection riches en nutriments (Byers *et al.*, 2002).

**f) Antagonisme :** certaines souches d'*Ecc* produisent des antibiotiques (carbapénèmes) permettant à ces dernières de survivre dans la rhizosphère par compétition avec les bactéries antibiosensibles (Boşgelmez-Tinaz, 2003). En outre, plusieurs souches d'*Erwinia carotovora* synthétisent une bactériocine nommée erwiniocine NA4 qui possède une activité antibactérienne vis-à-vis d'autres bactéries phytopathogènes (Jabeen *et al.*, 2004).

**g) Gènes *hrp* :** les gènes *hrp* du genre *Erwinia* sont indispensables à la colonisation et à la dégradation des espaces intercellulaires des tissus végétaux. Ces gènes induisent à la fois une réaction d'hypersensibilité chez les plantes non hôtes et de virulence chez les plantes hôtes (Alfano et Collmer, 1996 ; Kim *et al.*, 1998).

**h) Protéines CRP :** les protéines CRP (Cyclic AMP Receptor Protein) sont des molécules essentielles pour la régulation des pectinases. Des mutants d'*Ech* défectifs dans la production de ces protéines ont montré une capacité de macération très limitée sur pommes de terre, chicorées et céleris. Ces mutants sont aussi incapables de croître sur des milieux à base de pectine ou de polygalacturonate, et l'expression des gènes codant pour les pectinases (*pemA*, *pelB*, *pelC*, *pelD* et *pelE*) chez ces souches mutantes se trouve fortement réduite (Brencic et Winans, 2005).

### III-3) Mesures de sécurité

Actuellement, un contrôle partiel de la pourriture molle et de la jambe noire est obtenu principalement par l'application de certaines pratiques culturales et sanitaires, et indirectement par l'emploi de fongicides chimiques. L'utilisation de variétés de pomme de terre résistantes étant encore au stade expérimental (Yaganza, 2005). Le contrôle de la pourriture molle peut s'accomplir par diverses méthodes.

#### III-3-1) Pratiques culturales et sanitaires

- ✓ Utilisation de matériel axénique et d'équipement agricole propre ;
- ✓ Maintien d'une aération adéquate et de températures de stockage moins de 10°C ;
- ✓ Subérisation des blessures après tranchage des semences (Yaganza, 2005).
- ✓ Assurance d'un bon espacement des plants au champ, d'une bonne régie d'entreposage et pratique de rotations culturales ;
- ✓ Effectuer les récoltes à des températures inférieures à 20°C et par temps sec ;
- ✓ Respect d'un délai de 3 à 4 semaines entre le défanage et la récolte, afin de laisser durcir l'épiderme et de laisser se fermer les lenticelles (Dupuis *et al.*, 2005).

#### III-3-2) Lutte chimique

- ✓ Inhibition de la croissance d'*Erwinia carotovora in vitro* par une solution d'ioxynil (3, 5-diiodo-4-hydroxybenzonnitrile) (Hsu et Camper, 1973).
- ✓ Utilisation des acides salicylique, polyacrylique et 2-chloroéthylphosphorique sur tubercules de pomme de terre (Lopez *et al.*, 1990).
- ✓ Traitement des tubercules par une solution de Kasugamycine de 10 à 320 mg/l pendant 1 à 320 secondes, ce qui permet d'inhiber le développement de la pourriture molle (Bartz, 1999).
- ✓ Fertilisation par le chlorure et le sulfate de potassium (Davenport et Bentley, 2001).
- ✓ Détection de l'infection des tubercules en entreposage par analyse des quantités de métabolites volatils produits (Lyew *et al.*, 2001).
- ✓ Activité inhibitrice de la chlorure sur les souches d'*Erwinia* (Barkai-Golan, 2001).
- ✓ Traitement des tubercules à la vapeur d'eau et au mercure organique (Afek et Orenstein, 2002).
- ✓ Traitement des tubercules infectés au chlorure d'aluminium et au métabisulfite de sodium qui sont toxiques vis-à-vis des *Erwinia* pectinolytiques (Yaganza *et al.*, 2004).

- ✓ Application de peptides synthétiques (magainines) sur *Erwinia carotovora* *in vitro* et *in vivo* (O'Callaghan *et al.*, 2004).
- ✓ Effet bactéricide de la naphthazarine à une concentration de 10µg/ml *in vitro* et de 2mg/ml sur tubercules (Medina *et al.*, 2004).
- ✓ Activité inhibitrice d'une protéine (PFLP) sur *Ecc* *in vitro* et *in vivo* (Huang *et al.*, 2006).
- ✓ Traitement préventif des tubercules par un ensemble de sels tels que l'acétate d'aluminium, l'alun, le propionate de calcium, ainsi que le bicarbonate et l'hypochlorite de sodium (Mills *et al.*, 2006).
- ✓ Prétraitement par du CaCl<sub>2</sub> sur les tubercules irradiés aux rayons gamma, ce qui réduit les dommages durant la récolte et maintient les propriétés texturales et structurales des membranes végétales des tubercules (Nayak *et al.*, 2007).

### III-3-3) Lutte biologique

- ✓ Les antibiotiques produits par *Ecb* sont efficaces sur le développement des souches d'*Ecc* sur tubercules de pomme de terre (Axelrood *et al.*, 1988).
- ✓ Action et efficacité des antibiotiques produits par *Bacillus subtilis* BS 107 sur *Eca* et *Ecc* *in vivo* et *in vitro* (Sharga et Lyon, 1998).
- ✓ Amélioration de la résistance des pommes de terre aux *Eca* par expression du lysozyme T4 sur tubercules (Lottmann *et al.*, 2000).
- ✓ Contrôle expérimental du développement des *Erwinia* pectinolytiques par des souches de *Pseudomonas* sp. (Colyer et Mount, (1984), cité par Yaganza, (2005)).
- ✓ Effet bactéricide d'une bactériocine (BLS) produite par la souche P40 de *Bacillus licheniformis* sur *E. carotovora* à 30µg/ml, et inhibition totale des symptômes de la pourriture molle à 3,7mg/ml (Cladera-Olivera *et al.*, 2006).

## I) Matériel

### I-1) Matériel bactérien

\* Souches types provenant de la collection française de bactéries phytopathogènes (CFBP/INRA Angers, France) :

- ✓ *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* 100 T (*Eca* 100T) ;
- ✓ *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* 98.1 (*Ecc* 98.1) ;
- ✓ *Erwinia chrysanthemi* 99.21 (*Ech* 99.21).

\* Souches isolées localement à partir de légumes contaminés.

### I-2) Matériel végétal

Les prélèvements ont été effectués à partir de divers tubercules de pomme de terre de consommation, ainsi qu'à partir de tomates et de carottes contaminés. Les échantillons proviennent en grande partie des localités de Bejaia.

Les tubercules de pomme de terre prélevés appartiennent principalement aux variétés Désirée et Diamant. Certains de ces échantillons présentent les symptômes caractéristiques de la pourriture molle due aux *Erwinia* pectinolytiques, à savoir des parties infectées de forme spongieuse et de couleur crème à brune, laissant suinter une substance visqueuse d'odeur fétide. Tandis que d'autres ont un aspect plus ou moins intact (Fig. 5).

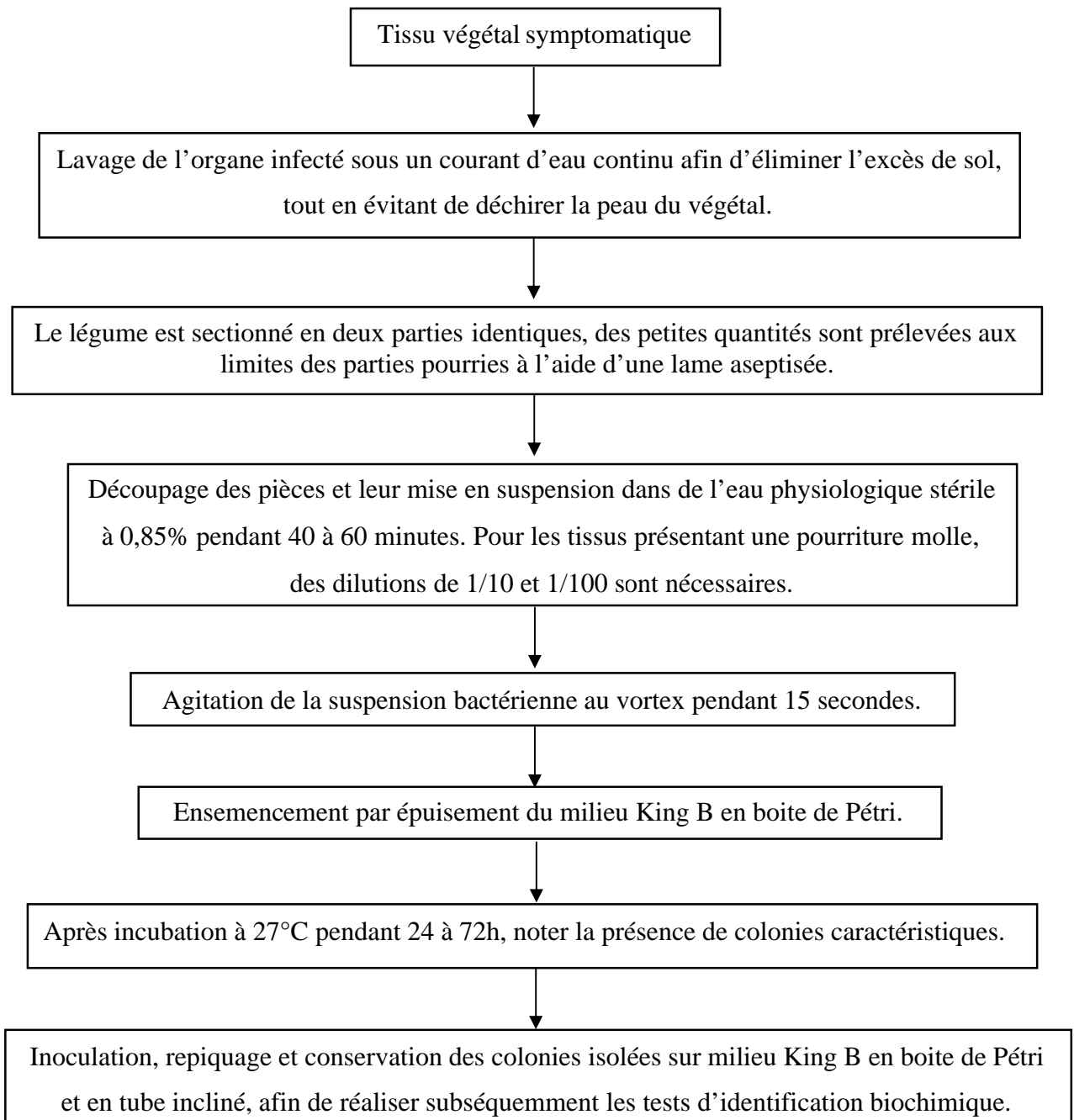


**Figure 5 :** Echantillons de pommes de terre et de carottes présentant des symptômes de pourriture molle

## II) Méthodes

### II-1) Prélèvement et isolement

Le schéma suivant résume les étapes entreprises pour le prélèvement et l'isolement des souches d'*Erwinia* pectinolytiques, selon les méthodes de Hyman *et al.* (1998), et de Lacroix et Vézina (2003) avec quelques modifications.



**Figure 6 :** Protocole d'isolement des *Erwinia* pectinolytiques sur milieux de culture gélosés

## II-2) Observation culturelle

Les critères de sélection des colonies d'*Erwinia* pectinolytiques tiennent compte des caractères suivants (taille et diamètre des colonies, forme et allure des contours, aspect de la surface, opacité, consistance, couleur ou pigmentation et odeur).

En rassemblant tous les critères précédemment décrits, trois types de colonies peuvent être distingués :

- ✓ Colonies S (Smooth ou Lisse): colonies à surface lisse et bords réguliers, bombées, de consistance crémeuse et donnant des suspensions homogènes, dont font partie les *Erwinia* pectinolytiques.
- ✓ Colonies R (Rough ou Rugueux): colonies à surface rugueuse et bords dentelés, plates, de consistance sèche et donnant des suspensions hétérogènes ;
- ✓ Colonies M (Muqueuse): colonies à surface lisse et bords réguliers, bombées, filantes sous l'anse, et donnant des suspensions hétérogènes.

## II-3) Purification et conservation des cultures bactériennes

Après isolement et dans le but de purifier les colonies prélevées, un screening est réalisé par plusieurs repiquages successifs sur milieu King B en boîte de Pétri et en tube incliné. Les isolats sont conservés dans les milieux minimum Luria Bertani (LB) et Levure Peptone Agar (LPA) en tube incliné. La composition des milieux de culture et des réactifs chimiques utilisés pour l'identification biochimique est donnée en annexe 2.

## II-4) Identification des *Erwinia* pectinolytiques

### II-4-1) Identification microbiologique et biochimique préliminaire

Après culture sur milieu King B pendant 24h des suspensions bactériennes sont préparées pour la réalisation des différents tests d'identification préalables.

#### II-4-1-1) Examen cellulaire

L'étude morphologique des cellules comprend :

**a) Examen à l'état frais :** permet d'observer sur les cellules vivantes différents aspects, comme la forme des cellules, leur mode de groupement et leur mobilité.

**b) Examen après coloration :** facilite grandement l'observation microscopique des bactéries, la coloration de Gram est réalisée sur frottis séchés et fixés. Cette coloration permet non seulement d'observer la forme des cellules, mais également de diviser les bactéries en deux grands groupes taxonomiques différents : bactéries Gram positif et bactéries Gram négatif.

### II-4-1-2) Test de l'oxydase

Ce test permet la détection de l'enzyme cytochrome oxydase. Une réaction positive se traduit par une couleur pourpre violet. Dans le cas d'une réaction négative, aucun virage de couleur n'est signalé.

### II-4-1-3) Test de la catalase

La mise en évidence d'une bactérie à catalase positive est réalisée en présence d'eau oxygénée, par observation d'une effervescence et d'un dégagement important d'oxygène.

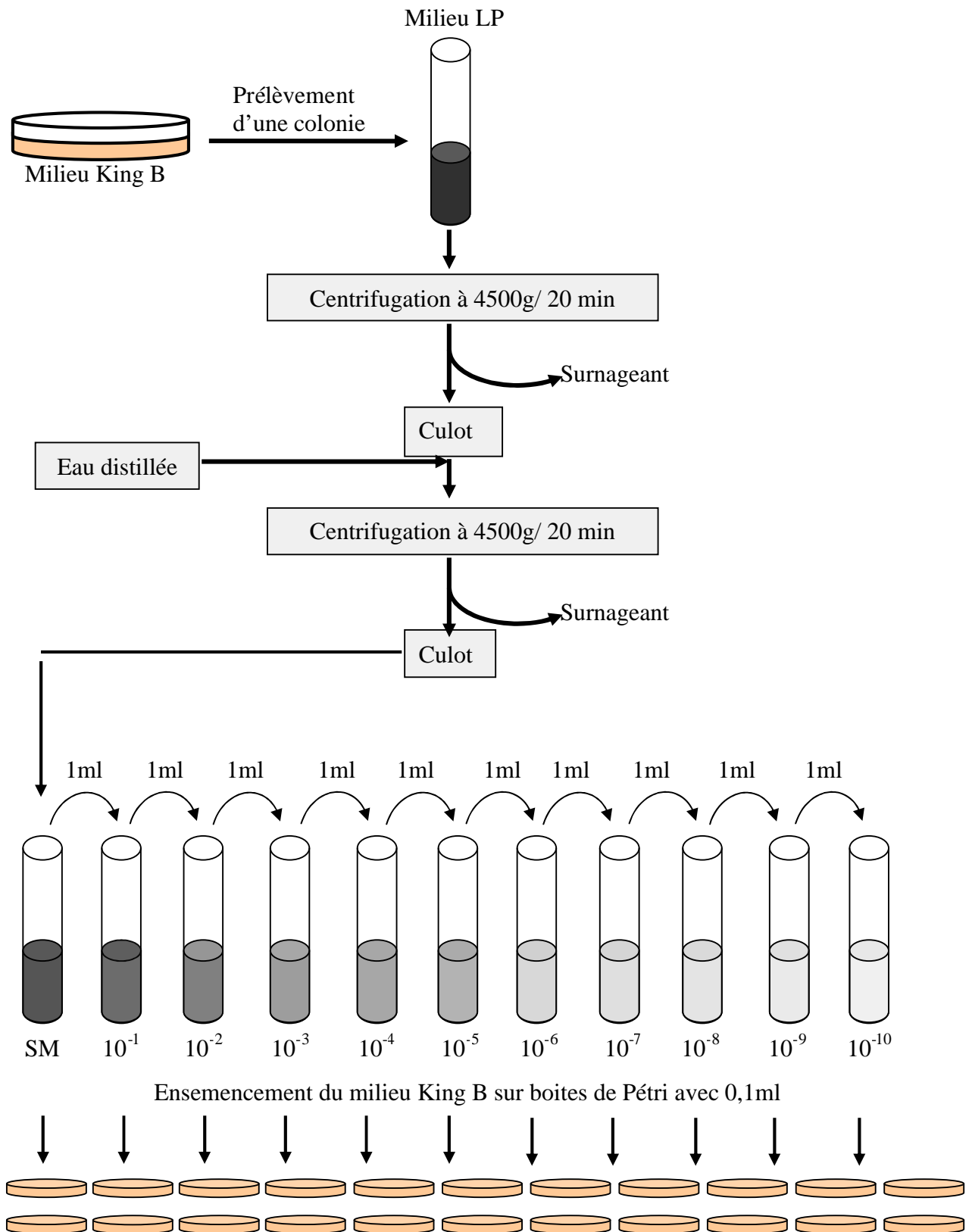
## II-4-2) Préparation de l'inoculum standard et dénombrement cellulaire

L'inoculum standard est préparé à partir d'une colonie bactérienne inoculée dans 5ml de bouillon Levure Peptone (LP), puis soumise à une agitation douce pendant 24h à température ambiante, ensuite une série de dilutions est réalisée dans une solution de tampon phosphate.

Un volume de 100µl de chaque dilution estensemencé sur 2 boîtes de Pétri contenant le milieu King B, la densité optique (D.O) est mesurée à 600 nm. Les boîtes sont incubées à 27°C pendant 18 à 24h, puis les colonies sont dénombrées et la dilution correspondant à une population bactérienne de  $10^8$  cellules/ml est déterminée. Toutes les suspensions bactériennes utilisées pour les différents tests biochimiques sont ajustées et standardisées à la concentration de  $10^8$  cellules/ml.

La standardisation de l'inoculum de départ et les dénombrements cellulaires sont réalisés selon le protocole modifié d'Hélias *et al.* (2005) (Figure 7).





**Figure 7** : Dénombrement des colonies d'*Erwinia pectinolytica* sur milieu solide

### II-4-3) Recherche des *Erwinia* pectinolytiques

L'identification biochimique des souches d'*Erwinia* pectinolytiques (*Pectobacterium*) est réalisée en trois principales étapes :

- ✓ Détection des *Erwinia* pectinolytiques ;
- ✓ Distinction entre les espèces *Erwinia carotovora* et *Erwinia chrysanthemi* ;
- ✓ Différenciation entre les sous-espèces *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* (*Eca*), *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* (*Ecc*) ainsi qu'entre les biovars d'*Erwinia chrysanthemi* (*Ech*).

#### II-4-3-1) Détection des *Erwinia* pectinolytiques

Cette étape permet de détecter et de mettre en évidence la présence des *Erwinia* pectinolytiques au sein des échantillons prélevés, en se basant sur les tests suivants :

- ✓ Détermination de l'activité pectinolytique ;
- ✓ Hydrolyse de l'amidon ;
- ✓ Réduction des nitrates ;
- ✓ Oxydation/fermentation.

##### II-4-3-1-1) Détermination de l'activité pectinolytique

Différents milieux sélectifs à base de pectine et de polypectate de sodium sont utilisés pour l'isolement et la détection des *Erwinia* pectinolytiques à partir du sol et des tissus végétaux. Les principaux sont les milieux CVP et Pectate Tergitol (Liao et Shollenberger, 2004).

Ces milieux sont basés sur la liquéfaction de la pectine comme principal critère de diagnostic, mais différent dans leurs propriétés sélectives (substrats carbonés et azotés) (O'Neill et Logan, 1975). L'activité pectinolytique des souches est déterminée sur trois milieux à base de pectine et de polygalacturonate.

##### a) Milieu de Sutton

Les souches sont ensemencées par piqûre centrale dans des tubes à essai contenant 3ml du milieu Sutton. Après 24h d'incubation à 27°C, la présence d'une activité pectinolytique se traduit par le virage de l'indicateur de couleur du bleu au jaune, ce qui signifie une acidification du milieu. Après 48h, la liquéfaction du milieu désigne la dégradation de la source de pectine (Hélias, 1999).

### **b) Milieu Crystal Violet Pectate**

Les souches sont maintenues dans le bouillon LP sous agitation pendant 24h, des dilutions sont réalisées dans une solution tampon phosphate. 50µl de la dilution correspondant à une concentration de  $10^3$  cellules/ml sont déposés par étalement sur le milieu CVP en boîte de Pétri. L'incubation se fait à 27°C pendant 48h.

La croissance des souches d'*Erwinia* pectinolytiques se traduit par la formation de cavités caractéristiques et distinguables de celles formées par les *Pseudomonas* pectinolytiques (Hélias *et al.*, 2005).

### **c) Milieu Pectine Hildebrand**

L'inoculation se fait par points en déposant des amas de colonies (culture de 24h) sur milieu PH. Après incubation à 27°C pendant 24h, une réaction positive se traduit par la dépression du milieu entourant le point d'inoculation. L'absence de dépression indique une réaction négative (Lacroix et Vézina, 2003).

## **II-4-3-1-2) Hydrolyse de l'amidon**

Un amas d'une culture bactérienne fraîche de 24h est déposé en forme de stries sur le milieu amidon en boîte de Pétri, l'incubation se fait à 27°C pendant 24h

L'activité amylasique est révélée en recouvrant la gélose d'une solution de Lugol diluée au 1/5. Dans le cas d'une réaction positive, un halo clair dû à la dégradation de l'amidon apparaît autour de la culture bactérienne, le reste de la boîte étant violet-noir (Hélias, 1999).

## **II-4-3-1-3) Réduction des nitrates**

Une suspension bactérienne standardisée estensemencée dans des tubes à essai contenant 5ml d'eau peptonée nitraté puis incubée à 27°C pendant 24 heures.

La révélation se fait par addition de quelques gouttes des réactifs A et B. L'apparition d'une couleur rouge sang après ajout des réactifs A et B met en évidence la présence de nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ).

En cas d'absence de couleur rouge, une pincée de poudre de zinc est ajoutée aux tubes. Dans ce cas, l'apparition d'une couleur rose met en évidence la présence de nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) intacts dans le milieu. Si le milieu ne se colore toujours pas, cela signifie que la bactérie a réduit les nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) en azote ( $\text{N}_2$ ) (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

#### **II-4-3-1-4) Oxydation / fermentation**

Le milieu Hugh et Leifson est régénéré au bain-marie bouillant en surfusion (45 à 50°C), puis les tubes sontensemencés par piqûre centrale. Deux tubes sontensemencés pour chaque souche à tester, le premier est recouvert de 2ml d'huile de vaseline stérile, il permet d'étudier le caractère fermentatif. Le deuxième tube reste en contact direct avec l'air, et sert à étudier le caractère oxydatif des souches.

Après incubation, la lecture se traduit par une acidification du milieu en aérobiose (couleur jaune), les bactéries fermentatives acidifient les deux milieux (Hélias, 1999).

#### **II-4-3-2) Distinction entre *Erwinia carotovora* et *Erwinia chrysanthemi***

La distinction entre les espèces *Erwinia carotovora* et *Erwinia chrysanthemi* se fait par les tests suivants :

##### **II-4-3-2-1) Utilisation du malonate et du lactose**

Ce test permet la mise en évidence de l'utilisation du malonate, du lactose et la production d'indole à partir du tryptophane. Une suspension bactérienne est inoculée dans 2ml du milieu ALMT (Ayers Lactose Malonate Tryptophane), puis incubée à 27°C pendant 48h.

L'utilisation du lactose provoque une acidification du milieu (couleur jaune). L'utilisation du malonate est visualisée par le virage de l'indicateur coloré au bleu, dû à une alcalinisation du milieu. La production d'indole est mise en évidence par l'apparition d'un anneau rouge lors de l'ajout de quelques gouttes du réactif de Kovac (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

##### **II-4-3-2-2) Activité lécithinase**

L'ensemencement est réalisé par dépôt d'amas de colonies bactériennes fraîches sur boîtes de Pétri, l'incubation se fait à 27°C pendant 2 à 7 jours. Une activité lécithinase est visualisée par l'apparition d'une zone hautement turbide et dense qui entoure les colonies d'*Erwinia chrysanthemi*, le même test permet aussi de détecter la présence d'un autre enzyme, la lipoprotéinase (Ahmed, 2001).

##### **II-4-3-2-3) Activité phosphatase**

Après ensemencement sur milieu phosphatase et incubation à 27°C pendant 48h. 1ml d'une solution d'ammonium à 33% est versé sur les boîtes de Pétri. La lecture est réalisée après 10 secondes de contact. Le substrat utilisé est le diphosphate de phénolphtaléine (Ahmed, 2001).

#### **II-4-3-2-4) Production d'indole**

Une suspension bactérienne est inoculée par piqûre centrale dans des tubes à essai contenant 5ml du milieu indole, puis les tubes sont incubés à 27°C pendant 48h.

La révélation se fait par l'ajout de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovac au milieu de culture. Après agitation douce, une réaction positive se traduit par l'apparition d'un anneau rouge en surface (Lacroix et Vézina, 2003).

#### **II-4-3-2-5) Tolérance au NaCl**

Une suspension bactérienne dense est inoculée dans des tubes à essai contenant une solution de bouillon nutritif additionné de NaCl à 5%. Après incubation à 27°C pendant 14 jours, une réaction positive se traduit par l'apparition d'une turbidité visible à l'œil nu (Ahmed, 2001).

#### **II-4-3-3) Différenciation entre *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* et entre les biovars d'*Erwinia chrysanthemi***

La distinction entre les différentes sous-espèces d'*Erwinia carotovora* ainsi qu'entre les biovars d'*Erwinia chrysanthemi* se fait sur la base des tests biochimiques suivants :

- ✓ Utilisation de l' $\alpha$ -méthyl-D-glucoside ;
- ✓ Croissance sur milieu Logan ;
- ✓ Fermentation des sucres ;
- ✓ Dégradation de l'inuline ;
- ✓ Réduction du saccharose.
- ✓ Croissance à différentes températures.

#### **II-4-3-3-1) Utilisation de l' $\alpha$ -méthyl-glucoside**

Les isolats bactériens sont cultivés dans 2ml du milieu  $\alpha$ -méthyl-glucoside en tube à essai, puis incubés à 27°C pendant 24 à 48h. L'utilisation de ce sucre se traduit par une acidification du milieu (couleur jaune), l'absence d'un virage de couleur signifie une réaction négative (Hélias, 1999).

#### **II-4-3-3-2) Croissance sur milieu Logan**

0,1ml d'une suspension bactérienne estensemencé sur milieu Logan en boîtes de Pétri. Après incubation à 27°C pendant 24h, la lecture se fait comme suit :

- ✓ Les souches d'*Eca* sont en forme de petites colonies avec un centre rouge ;
- ✓ Les souches d'*Ecc* sont sous forme de grandes colonies rouges luminescentes ;
- ✓ Les souches d'*Ech* se présentent sous forme de colonies rouges sombres (Ahmed, 2001).

#### **II-4-3-3-3) Fermentation des sucres**

Dans le but de mettre en évidence l'utilisation des différents sucres, une suspension bactérienne est inoculée dans 2ml de milieu AYERS, la source de carbone est ajoutée à 0,5%. Les alcools utilisés sont le glycérol, le sorbitol, l'inositol, le mannitol, l'arabitol et l'adonitol. Les acides organiques testés sont le formate, le tartrate, le lactate et le citrate.

Après incubation à 27°C pendant 24 à 48h, le milieu devient jaune dans le cas d'une acidification liée à l'utilisation des sucres et des alcools, en cas d'alcanisation le milieu devient bleu, dû à l'utilisation des acides organiques (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

#### **II-4-3-3-4) Utilisation de l'inuline**

Les souches sontensemencées dans 2ml du milieu inuline, puis incubées à 27°C pendant 24h. L'hydrolyse de l'inuline se traduit par le virage de l'indicateur coloré du rouge au jaune (Hélias, 1999).

#### **II-4-3-3-5) Réduction du saccharose**

Des colonies fraîches de 24h sont inoculées dans 2ml du milieu SRS. Après incubation à 27°C pendant 24h, la révélation se fait par l'ajout de 2ml du réactif de Benedict.

Les tubes sont mis dans un bain-marie bouillon pendant 5 minutes et le changement de couleur est suivi, l'apparition d'un précipité de couleur jaune-orange met en évidence la présence de sucres réducteurs du saccharose (Lacroix et Vézina, 2003).

#### **II-4-3-3-6) Croissance à différentes températures**

Les isolats bactériens sontensemencés sur les milieux solides King B et CVP, puis incubés à trois températures différentes (27°C, 35°C et 37°C) pendant 24 h à 48h.

Les colonies d'*Erwinia chrysanthemi* sont capables de croître aux trois températures à la fois. Les souches de la sous-espèce *carotovora* peuvent pousser à 27°C et à 35°C, tandis qu'*Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* croît uniquement à 27°C (Ahmed, 2001).

## **II-4-4) Tests complémentaires**

Dans le but d'apporter un maximum d'informations concernant l'identification des souches de notre collection, une série de tests supplémentaires est réalisée, ces tests comprennent :

- ✓ Recherche de l'arginine déshydrolase ;
- ✓ Recherche de l'uréase ;
- ✓ Dégradation de la caséine ;
- ✓ Liquéfaction de la gélatine.

### **II-4-4-1) Recherche de l'arginine déshydrolase**

Ce test sert à déterminer la transformation de l'arginine par une enzyme, l'arginine déshydrolase (ADH). Le milieu de culture est inoculé par une suspension provenant d'une culture de 18 à 24h. Après ajout d'environ 1cm d'huile minérale stérile et incubation à 27°C pendant 24 à 48h, le milieu demeure rose dans le cas d'une réaction positive, une réaction négative se traduit par un virage du milieu au jaune orangé (Lacroix et Vézina, 2003).

### **II-4-4-2) Recherche de l'uréase**

Une suspension bactérienne estensemencée sur milieu Urée Indole puis incubée à 27°C pendant 24h. Un test positif se traduit par une couleur rouge due à la libération de l'ammoniac par l'action de l'uréase, dans le cas contraire le milieu reste orange.

### **II-4-4-3) Dégradation de la caséine**

Une strie centrale est réalisée par un amas de colonies à la surface du milieu gélose au lait (gélose nutritive additionnée à 45°C d'un volume de lait stérile). L'incubation se fait à 27°C pendant 24h jusqu'à 7 jours. L'apparition d'une zone claire autour de la culture traduit l'hydrolyse de la caséine.

### **II-4-4-4) Liquéfaction de la gélatine**

Une suspension bactérienne est réalisée dans de l'eau physiologique additionnée de calcium. Un morceau de film noir et blanc exposé et développé est ajouté, l'incubation se fait à 27°C pendant 24h à 48h. Un film intact indique une gélatinase négative, dans le cas d'une suspension de particules noires libérées du film et éclaircissement du film, le test est positif.

## II-5) Tests de pathogénicité

Les souches bactériennes utilisées sont conservées à 4°C sur milieu LB. Après une culture de 24h sur milieu King B, les suspensions bactériennes sont incubées à 27°C pendant 18 à 24h.

### II-5-1) Plantes testées

- ✓ Pommes de terre : les tubercules utilisés appartiennent aux cultivars Désirée, Diamant, Kondor et Timate ; ces variétés sont plus au moins sensibles à la pourriture molle. Les tubercules sont sélectionnés pour leur taille uniforme, le choix des variétés est fait par rapport à leur disponibilité et leur abondance sur le territoire national.
- ✓ Tomates : les fruits de tomate appartiennent à la variété Top 48, ils sont sélectionnés pour leur apparence indemne de dommages et de blessures.
- ✓ Tabac : les feuilles de tabac proviennent des plantes de tabac (*Nicotiana tabacum*) âgées d'environ un mois.

### II-5-2) Mode opératoire

#### II-5-2-1) sur pomme de terre

La méthode des demi-tubercules recommandée pour sa précision est utilisée pour différencier les niveaux de pathogénicité des souches testées et les degrés de sensibilité des cultivars de pomme de terre. Les protocoles utilisés sont ceux de Ibrahim *et al.* (1978) et de Priou *et al.* (1992) avec quelques modifications.

Les tubercules de chaque cultivar sont lavés et trempés dans l'éthanol à 10% pendant 5 minutes, ensuite ils sont rincés à l'eau et séchés pendant une nuit, chaque tubercule est coupé longitudinalement en deux parties identiques. Les demi-tubercules sont mis sur du papier humidifié dans des boîtes en plastique, et laissés pour sécher une heure avant l'inoculation.

Un puits de 5mm de diamètre / 5mm de longueur est réalisé à l'emporte-pièce, puis chaque puits est rempli par 50µl d'une suspension bactérienne de  $2.10^8$  cellules/ml. Les demi-tubercules sont disposés dans des bacs en plastique couverts, à l'abri de la lumière afin de créer une atmosphère humide et confinée. Cinq répétitions sont réalisées pour chaque essai.

L'incubation se fait à une température de 20 à 25°C pendant 3 à 5 jours. Le développement de la maladie est suivi visuellement, et les différences de pathogénicité entre les souches d'*Erwinia* pectinolytiques sont estimées en fonction des quantités de tissus pourris.



Les tissus malades sont prélevés et pesés. Puis, le volume d'eau nécessaire pour remplir chaque puits est mesuré à l'aide d'une pipette graduée, il correspond à la quantité de tissus macérés.

### **II-5-2-2) sur tomate**

Les tomates sont lavées et rincées à l'eau javellisée, après séchage, 1ml d'une suspension bactérienne de  $10^8$  cellules/ml est injecté par seringue dans les conditions d'asepsie. Les tomates sont mises ensuite dans des bacs à l'abri de la lumière pendant 2 à 3 jours. Puis, la virulence des souches est déterminée par observation visuelle des symptômes.

### **II-5-2-3) sur tabac**

Le test d'hypersensibilité sur feuilles de tabac sert à mettre en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie par dessèchement des zones d'inoculation sur les feuilles.

Selon le protocole de Lacroix et Vézina (2003), 1ml d'une suspension bactérienne ( $10^8$  cellules/ml) est injecté dans l'espace intercellulaire le long de la nervure centrale ou d'une nervure secondaire à l'aide d'une seringue, l'inoculation se fait sur la face inférieure des feuilles. Le test est réalisé en triplicats avec la présence de témoins. Les feuilles sont laissées à la température ambiante pour une période allant de 24 à 72h. Après incubation, la lecture suivante est réalisée :

Réaction négative: aucun changement dans l'aspect et la couleur des tissus.

Réaction positive: la zone foliaire inoculée devient légèrement translucide avec un aspect humide, par la suite on observe un assèchement des tissus autour du site d'infiltration.

## **II-6) Analyse statistique**

La classification hiérarchique des souches isolées, ainsi que l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) à  $p < 0,05$  sont déterminées en utilisant le logiciel STATISTICA version 5.5.

## I) Recherche de bactéries du genre *Erwinia*

Après screening et criblage des colonies, beaucoup d'isolats ont été éliminés par simple observation visuelle, soit pour non-conformité à la couleur ou à l'aspect des colonies d'*Erwinia* sur milieu King B ou bien à cause d'une croissance très réduite, ainsi que par rapport aux autres critères d'observation. D'après Hélias (1999), les colonies typiques d'*Erwinia* pectinolytiques sont irisées, d'aspect lisse, de couleur blanche crémeuse et donnant des suspensions homogènes, elles correspondent au type S (Smooth) (Fig. 8).



**Figure 8 :** Aspect des souches d'*Erwinia* pectinolytiques isolées sur milieu King B

Cependant, l'aspect externe des cultures ne constitue pas toujours un critère d'identification décisif. En effet, beaucoup d'espèces fongiques et bactériennes peuvent induire des symptômes de pourritures molles sur tubercules de pomme de terre, qui sont très proches de ceux engendrés par les *Erwinia* pectinolytiques. En outre, d'après Radtke et Rieckmann (1991), les symptômes de pourriture molle provoqués par les *Erwinia* pectinolytiques peuvent être différents selon la variété, les influences climatiques, le moment de contamination ou dans le cas d'une infection mixte comme par exemple une combinaison avec le rhizoctone.

Il existe aussi d'autres genres bactériens (*Pseudomonas*, *Bacillus* et *Flavobacterium*) ayant un profil cultural similaire à celui des colonies d'*Erwinia* sur milieu solide (Hélias, 1999). Par ailleurs, d'après Holt *et al.* (1994), certaines souches d'*Erwinia* pectinolytiques peuvent aussi donner des colonies muqueuses et fausser ainsi l'observation. Néanmoins, l'examen cultural permet d'éliminer tous les autres genres microbiens intrus. En se basant sur ce principe, les observations ne répondant pas aux critères de sélection comme par exemple les souches 21, 22 et 23 sont supprimées dès lors.

Le tableau ci-dessous indique les résultats des observations culturales relatives à la présence de colonies d'*Erwinia* pectinolytiques au sein des échantillons prélevés.

**Tableau III** : Résultats de l'observation macroscopique des colonies d'*Erwinia* pectinolytiques

Observation Souche	Taille et diamètre des colonies (2 à 8 mm)	Forme (demi bombée, régulière)	Aspect (surface lisse)	Opacité (translucide)	Consistance (crémeuse)	Couleur et pigmentation (blanche, crémeuse)
1	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
4	-	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+
7	-	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+
10	-	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+
12	-	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	+
14	+	+	+	+	+	+
15	+	+	+	-	+	+
16	+	+	+	-	+	+
17	+	+	+	+	+	+
18	+	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+	+
21	+	+	+	-	-	-
22	+	+	-	-	+	-
23	-	+	-	-	-	-

## II) Identification biochimique des *Erwinia* pectinolytiques

### II-1) Identification préliminaire

Après caractérisation morphologique et culturale, des tests préliminaires d'identification sont indispensables pour la purification des colonies isolées, ces examens comportent l'observation à l'état frais, la coloration de Gram et les tests de catalase et d'oxydase (tableau IV).

Bien qu'ayant un aspect externe semblable à celui des colonies d'*Erwinia* pectinolytiques, les souches 18, 19 et 20 ne répondent pas à deux critères de détermination majeurs, à savoir une coloration Gram négatif et la présence de catalase, et sont par conséquent éliminées de notre collection. De même, les observations 13 et 14 ont donné une réaction négative au test de catalase, alors que la souche 16 semble ne pas avoir de mobilité. Toutefois, ces souches sont retenues pour les tests subséquents, car il peut s'agir de mutants correspondant à des souches d'*Erwinia* atypiques.

Tableau IV : Résultats des tests d'identification préliminaire

Souche \ Test	Coloration de Gram	Mobilité	Catalase	Oxydase
<i>Eca 100T</i>	-	+	+	-
<i>Ecc 98.1</i>	-	+	+	-
<i>Ech 99.21</i>	-	+	+	-
1	-	+	+	-
2	-	+	+	-
3	-	+	+	-
4	-	+	+	-
5	-	+	+	-
6	-	+	+	-
7	-	+	+	-
8	-	+	+	-
9	-	+	+	-
10	-	+	+	-
11	-	+	+	-
12	-	+	+	-
13	-	+	-	-
14	-	+	-	-
15	-	+	+	-
16	-	-	+	-
17	-	+	+	-
18	+	-	-	-
19	+	-	-	-
20	+	+	-	-

## II-2) Mise en évidence des *Erwinia* pectinolytiques

Les résultats du dénombrement cellulaire ont permis de déterminer la concentration de l'inoculum standard requise, elle est de l'ordre de  $10^8$  cellules/ml et correspond à une densité optique de 0,06 à 600 nm pour l'ensemble des souches testées. Ces résultats sont en accord avec les données mentionnées par Ahmed (2001).

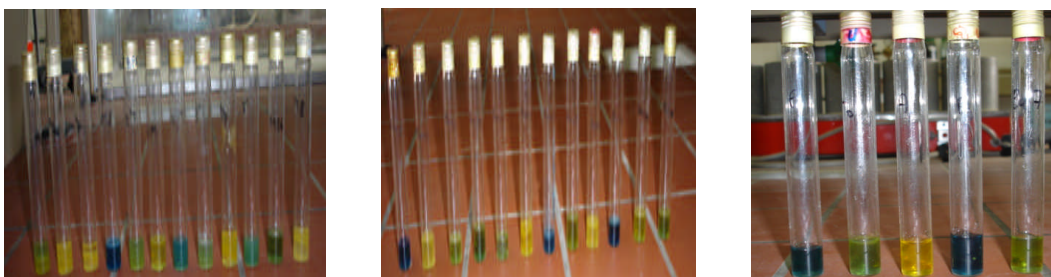
Trois souches de référence (*Eca 100T*, *Ecc 98.1* et *Ech 99.21*) sont utilisées pour la caractérisation biochimique. Ces souches type répondent de manière positive aux tests biochimiques d'identification ; elles possèdent une activité pectinolytique, réduisent les nitrates en nitrites et sont incapables d'hydrolyser l'amidon (Tableau V). Ces trois tests constituent des critères clefs de détermination des *Erwinia* pectinolytiques.

Tableau V : Mise en évidence des *Erwinia* pectinolytiques

Test		Souche																			
		<i>Eca</i>	<i>Ecc</i>	<i>Ech</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Activité pectino-lytique	milieu Sutton	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
	milieu CVP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	milieu PH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Hydrolyse de l'amidon		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Nitrate réductase		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Oxydation/ fermentation		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+

Sur l'ensemble des isolats sélectionnés, seulement 12 souches possèdent toutes les caractéristiques des *Erwinia* pectinolytiques. Les autres souches ne répondent pas au test de dégradation de la pectine sur les 3 milieux de culture. Soit qu'elles jaunissent le milieu Sutton sans le liquéfier ou vis versa, ou bien la réaction est lente et dépasse les 48h, et sont donc éliminées à ce stade (Figure 9).

Le milieu PH n'est pas spécifique aux *Erwinia* pectinolytiques, les espèces de *Pseudomonas* et de *Bacillus* peuvent s'y développer. En outre, plusieurs champignons (*Alternaria*, *Fusarium*, *Phytium* et *Phytophthora*) sont capables de produire des pectinases *in vitro* et peuvent donc contaminer le milieu Sutton (Selmaoui *et al.*, 2004). Néanmoins, ce dernier permet de d'éliminer les espèces pectinolytiques de *Pseudomonas* et *Flavobacterium* qui peuvent le liquéfier sans l'acidifier pour autant (Hélias, 1999).



**Figure 9** : Activité pectinolytique des souches d'*Erwinia* sur milieu Sutton

Tube bleu : réaction négative ;

Tube vert : réaction négative ;

Tube jaune : réaction positive

La grande sélectivité du milieu CVP est notamment basée sur l'utilisation du crystal violet et du polypectate comme composants. Le premier inhibe la croissance des bactéries Gram positif, alors que le deuxième permet la mise en évidence des colonies pectinolytiques par la formation de cavités résultant de la dégradation du pectate (Hélias *et al.*, 2005). Ainsi, d'autres micro-organismes pectinolytiques contaminants peuvent croître sur les milieux Sutton ou PH, mais sont parfaitement distinguables sur le milieu CVP, où la croissance et la formation de cavités caractéristiques sont typiques des colonies d'*Erwinia* pectinolytiques.

### II-3) Distinction entre *Erwinia carotovora* et *Erwinia chrysanthemi*

Après détermination et mise en évidence des souches d'*Erwinia* pectinolytiques, la deuxième étape est la distinction entre les espèces *Erwinia carotovora* et *Erwinia chrysanthemi*. Le tableau VI résume les résultats des tests de discrimination entre ces deux espèces.

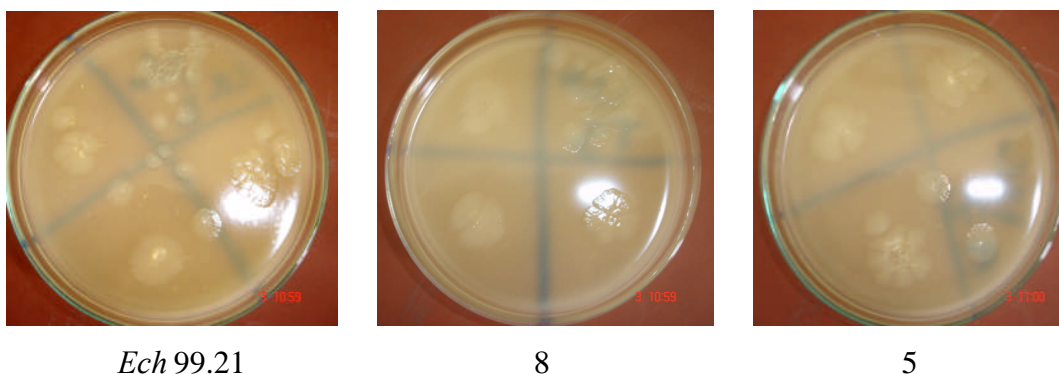
**Tableau VI :** Différenciation entre les espèces *Erwinia carotovora* et *Erwinia chrysanthemi*

Test \ Souche	<i>Eca</i> 100T	<i>Ecc</i> 98.1	<i>Ech</i> 99.21	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Lactose	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Malonate	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Indole	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Lécithinase	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Lipoprotéinase	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Phosphatase	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Tolérance au NaCl	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+

Les souches isolées localement (1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11 et 12) se comportent de la même façon, et ont les mêmes réponses que les souches types d'*Eca* et d'*Ecc*. Elles utilisent le lactose et peuvent croître en présence d'une concentration de NaCl à 5%, mais elles ne métabolisent pas le malonate et ne produisent pas de phosphatase, de lécithinase ou d'indole. Ces résultats sont conformes aux données bibliographiques rapportées sur le profil biochimique des sous-espèces d'*Erwinia carotovora* par de nombreux auteurs tels que Dickey (1979), Holt *et al.* (1994) et Hyman *et al.* (1998).

Les souches *Ech* 99.21, 5 et 8 synthétisent de l'indole à partir du tryptophane par l'action d'une enzyme, la tryptophanase, ceci est conforme à la bibliographie disponible. Selon Cother et Blakeney (1987), la présence de cette enzyme résulte en une accumulation de l'indole comme produit d'hydrolyse du tryptophane. La production d'indole est utilisée pour l'identification et la différenciation entre les espèces et sous-espèces d'*Erwinia* associées aux pommes de terre, elle est plus particulièrement caractéristique des biovars d'*E. chrysanthemi*.

Par ailleurs, ces mêmes souches produisent une lécithinase (Fig.10) et une phosphatase et sont incapables de croître en présence d'une grande concentration de NaCl. D'après Gouesbet *et al.* (1995) et Touzé *et al.* (2001), la croissance et les activités métaboliques des cellules d'*Erwinia chrysanthemi* sont complètement inhibées dans des milieux hypersalins, bien que l'incorporation d'osmoprotecteurs comme la glycine bêtaïne, la proline, l'ectoïne ou la L-pipecolate peut conférer une résistance à ces bactéries vis-à-vis du stress salin. Cependant, certains auteurs (Dickey, 1979 ; Holt *et al.*, 1994) ont montré que la croissance d'*Ech* sur un milieu salin est variable et quelques souches peuvent toutefois pousser en présence de NaCl.



**Figure 10 :** Activité lécithinase des souches d'*Erwinia chrysanthemi* sur milieu au jaune d'œuf

Ces propriétés sont considérées par de nombreux auteurs comme étant spécifiques aux souches d'*E. chrysanthemi*. Toutefois, la souche 5 présente une réaction positive au lactose, caractéristique spécifique des sous-espèces d'*Erwinia carotovora*, ceci est expliqué selon Dickey (1979) et Holt *et al.* (1994) par l'existence de souches d'*E. chrysanthemi* pouvant dégrader à la fois le lactose et le malonate.

En tenant compte de l'ensemble de ces tests, les souches 5 et 8 sont plus proches de l'espèce *Erwinia chrysanthemi*, tandis que les autres souches semblent appartenir à l'espèce *Erwinia carotovora*. Néanmoins, il reste encore prématuré de conclure sur la classification des espèces pectinolytiques d'*Erwinia* qui nécessite davantage de tests de confirmation.

#### **II-4) Différenciation entre *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* et entre les biovars d'*Erwinia chrysanthemi***

D'après les résultats du tableau VII, les souches 1, 3, 4, 6, 7, 10 et 12 correspondent aux propriétés affiliées aux *Ecc*, les autres souches (2, 9 et 11) sont très proches et possèdent toutes les caractéristiques des *Eca*.

Le test de dégradation de l'inuline spécifique pour les souches d'*Ech* a donné une réaction positive pour la souche 5 et négative pour 8. D'après les travaux réalisés par Dickey (1979), ainsi que par Ngwira et Samson (1990) (rapportés par Hélias en 1999), les neuf biovars d'*E. chrysanthemi* peuvent présenter des réponses variables vis-à-vis de ce sucre (voir annexe 1).

On remarque que les souches *Eca* 100T, 2, 9 et 11 sont les seules à pouvoir utiliser l' $\alpha$ -méthyl-D-glucoside et à réduire le saccharose, alors que toutes les autres souches ont montré une réponse négative pour ces deux sucres.

Pour le test de croissance à différentes températures, on note que toutes les souches croissent à 27°C, les souches 2, 9 et 11 sont incapables de croître à 35 et à 37°C. De même que pour la souche de référence *Eca*. Les souches 1, 6, 10, 12 ainsi qu'*Ecc* 98.1 sont capables de pousser à 27°C et à 35°C mais possèdent une croissance très réduite à 37°C, cette faible croissance retardée est assimilée à une réaction négative. Par contre, les souches 3, 4 et 7 qui sont pourtant apparentées à *Ecc* peuvent croître à 37°C. Et pour finir, les trois souches 5, 8 et *Ech* ont poussé dans les trois températures.

En réalité, la limite de la température de croissance des souches de *Pectobacterium* n'est pas clairement définie et les données peuvent changer d'un auteur à un autre. D'après les travaux de Dickey (1979) réalisés sur 77 souches d'*Ecc*, 16 souches d'*Eca* et 322 souches d'*Ech* isolées à partir de différents hôtes, toutes les souches d'*Ecc* et 2 souches d'*Eca* ont poussé à 36°C, tandis que la majorité des souches d'*Ech* et seulement 2 souches d'*Ecc* ont pu croître à 39°C. Par ailleurs, d'après Pérombelon et Kelman (1980), *Ecc* possède une gamme de température allant de 6 à 42°C, alors que l'intervalle de croissance d'*Eca* est de 3 à 35°C, les souches d'*Ech* pouvant croître au delà de 45°C.

Selon Holt *et al.* (1994) et Hyman *et al.*, (1998), la température de croissance des *Ecc* et des *Ech* est de 37°C, et d'après Larpent (1997), les souches d'*Ech* sont susceptibles de croître à 43°C. Et enfin, les travaux d'Ahmed (2001) ont défini les températures des différentes souches d'*Erwinia*, qui correspondent respectivement à 37°C pour *E. chrysanthemi*, 35,5°C pour *E. carotovora* ssp. *carotovora* et 27°C pour *E. carotovora* ssp. *atroseptica*.

**Tableau VII :** Caractères distinctifs entre *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* et *Erwinia chrysanthemi*

Test \ Souche	<i>Eca</i> 100T	<i>Ecc</i> 98.1	<i>Ech</i> 99.21	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>α-méthyl-D-glucoside</b>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<b>SRS</b>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<b>Inuline</b>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<b>Croissance à 27°C</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Croissance à 35°C</b>	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
<b>Croissance à 37°C</b>	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+
<b>Culture sur milieu Logan</b>	a	b	c	a	a	b	b	c	b	b	c	a	b	a	b

a : petites colonies à centres rouges ;  
 b : grandes colonies rouges avec un halo lumineux ;  
 c : colonies de couleur rouge sombre.



## II-5) Fermentation des sucres

21 sucres et alcools ainsi que 4 acides organiques sont utilisés pour le test de fermentation sur le milieu de base Ayers, les résultats sont représentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Résultats du test de fermentation des sucres

Souche Source de carbone	<i>Eca</i> 100T	<i>Ecc</i> 98.1	<i>Ech</i> 99.21	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Sucres :</b>															
Rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lévulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tréhalose	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Dextrines	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycérol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-arabitol	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Acides organiques :</b>															
Citrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Formate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tartrate	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

D'après les résultats du test de fermentation, on note que la plupart des souches ont donné les réactions attendues par rapport aux sucres utilisés. Ces résultats sont dans leur grande majorité conformes aux données bibliographiques rapportées par de nombreux auteurs (Dickey, 1979 ; Holt *et al.*, 1994 ; Larpent, 1997 ; Hyman *et al.*, 1998).

Il existe cependant quelques sucres qui ont donné des réponses inattendues. Toutes les souches utilisées ont donné une réaction négative à l'inositol, selon Dickey (1979) et Holt *et al.* (1994), *Eca* est négative à l'inositol, tandis qu'*Ech* et *Ecc* présentent des réponses variables.

De même pour le xylose, toutes les souches testées sont positives pour ce sucre, selon Tolan et Finn (1987), certaines souches d'*Erwinia carotovora* sont incapables de fermenter le xylose, alors que d'autres souches poussent rapidement sur des milieux contenant ce sucre. Et enfin, d'après les critères établis par Ngwira et Samson (1990) et cités par Hélias (1999), la souche 8 est apparentée au biovar 3, alors que la souche 5 est plus proche du biovar 8.

## II-6) Tests complémentaires

Dans le but d'affiner l'identification et la caractérisation des souches de notre collection, nous avons opté pour la réalisation d'une autre série de tests biochimiques, (tableau IX), destinée à compléter davantage l'identité de ces souches.

**Tableau IX : Tests d'identification complémentaires**

Test \ Souche	<i>Eca</i> 100T	<i>Ecc</i> 98.1	<i>Ech</i> 99.21	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Uréase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gélatinase	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
Caséinase	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+
Arginine déshydrolyase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

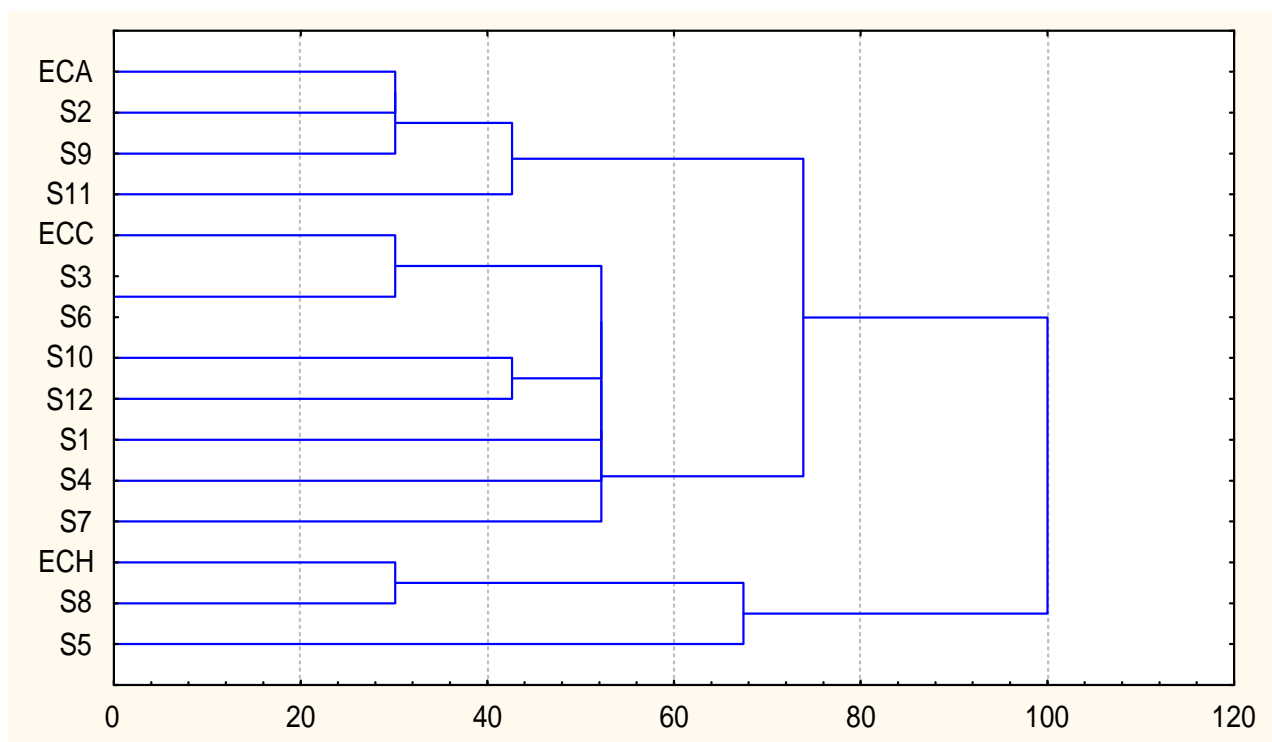
Les résultats du test de liquéfaction de la gélatine sont très divergents, les souches de référence *Eca*, *Ecc* et *Ech* ont donné une réaction positive, par contre les souches 4, 5, 7, 10, 11 et 12 n'ont pas hydrolysé la gélatine. Selon Dickey (1979), *Eca* et *Ecc* sont capables de liquéfier la gélatine, tandis qu'*Ech* peut présenter des réponses variables. Mais selon Lelliott et Dickey (1984) et Holt *et al.* (1994), toutes les sous-espèces d'*Erwinia carotovora* ainsi que les biovars d'*Erwinia chrysanthemi* sont capables d'hydrolyser la gélatine. Tandis que selon Larpent (1997), les souches d'*Eca*, *Ecc* et *Ech* présentent toutes des réponses variables, et peuvent quelques fois s'avérer incapables de dégrader la gélatine.

Les 3 souches de référence sont positives au test d'hydrolyse de la caséine, par contre les souches 4, 5, 7 et 11 sont négatives. Selon Dickey (1979), et Lelliott et Dickey (1984), la plupart des souches d'*E. carotovora* et *E. chrysanthemi* sont capables d'hydrolyser la caséine, tandis que d'après Holt *et al.* (1994), la dégradation de la caséine par les souches d'*Eca*, *Ecc* et *Ech* est très variable et peut aller de 21 à 79% pour l'ensemble des souches testées.

Par conséquent, les tests de dégradation de la caséine et de la gélatine ne sont pas généralement considérés comme des caractères déterminants pour la classification des *Erwinia* pectinolytiques. Les autres tests réalisés, à savoir la recherche de l'uréase et de l'arginine déshydrolyase ont donné des résultats identiques par rapport aux souches types et aux données bibliographiques.

### III) Classification hiérarchique

En rassemblant tous les résultats des tests d'identification biochimique, une classification hiérarchique a pu être établie pour l'ensemble des souches. Elle permet de regrouper les souches selon leur pourcentage de similarité et de différence par rapport aux trois souches de références, tel qu'illustré dans le dendrogramme suivant.



**Figure 11 :** Dendrogramme de la classification hiérarchique des souches d'*Erwinia pectinolytiques*

D'après les résultats du dendrogramme, l'ensemble des souches de notre collection est subdivisé en deux grands groupes G1 et G2. Le premier groupe (G1) est composé des souches *Ech* 99.21, 5 et 8 alors que le deuxième groupe (G2) est hiérarchisé en deux sous-groupes ; le sous-groupe 1 (SG2-1) qui est composé des souches d'*Eca* (*Eca*100T, 2, 9 et 11), et le sous-groupe 2 (SG2-2) qui comprend les souches 3, 4, 6, 7, 10 et 12 en plus de la souche de référence *Ecc* 98.1.

À l'intérieur de ce dernier sous-groupe, les souches *Ecc* 98.1, 3 et 6 sont plus proches entre elles, alors que les souches 1, 4, 7, 10 et 12 sont regroupées ensemble. Cette classification hiérarchique confirme les résultats des tests d'identification biochimique, ainsi que l'appartenance des souches isolées et identifiées aux espèces et sous-espèces d'*Erwinia pectinolytiques*.

#### IV) Distribution des souches selon l'hôte d'origine

Sur l'ensemble des 12 souches sélectionnées, 10 ont été isolées à partir de pommes de terre, dont six (1, 3, 7, 8, 9 et 11) de la variété Diamant et quatre autres (2, 4, 6 et 12) de la variété Désirée. Deux souches seulement (5 et 10) sont isolées à partir de tomates (variété Marmande).

Les isollements effectués à partir de carottes n'ont pas permis de mettre en évidence la présence de souches d'*Erwinia* pectinolytiques dans ces échantillons. En effet, bien qu'*Erwinia carotovora* ait été identifiée pour la première fois à partir de carottes, et bien qu'elle soit l'agent responsable des pourritures des carottes en Inde, en Corée ainsi qu'en Egypte (Ferrar *et al.*, 2000 ; El-Hendawy *et al.*, 2002), selon Farrar *et al.* (2000), peu de données sont disponibles sur les pourritures molles de carottes. D'autant plus, qu'elles se manifestent en tant que pourritures secondaires, après les infections causées par d'autres phytopathogènes tels que *Pythium* sp. En outre, la pourriture molle bactérienne de la carotte n'est pas très fréquente au champ, bien qu'elle puisse causer des pertes importantes en entrepôts (Gilbert, 2001).

Cette distribution nous renseigne sur l'incidence spécifique des souches de *Pectobacterium* sur pomme de terre par rapport aux autres hôtes.

D'après la distribution des différentes souches isolées en fonction de l'origine du prélèvement (Fig.13), on note que la fréquence d'infection des *Ecc* est la même sur Désirée que sur Diamant avec 3 souches pour chaque cultivar. Seule une souche d'*Ech*, (8), a été signalée sur Diamant. On remarque aussi que la sous-espèce *Ecc* prédomine (7 souches), suivi par *Eca* (3 souches), puis par *Erwinia chrysanthemi* avec 2 souches. Cette répartition peut s'expliquer facilement en tenant compte des optimums de température des différentes espèces et sous-espèces du genre *Pectobacterium*.

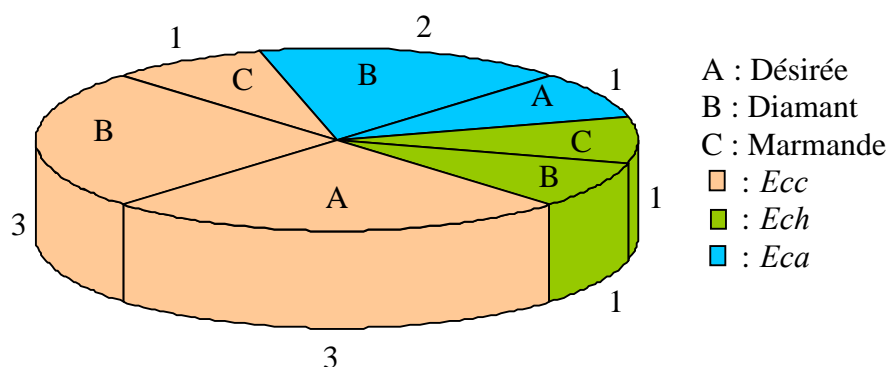


Figure 12 : Distribution des souches d'*Erwinia* pectinolytiques

La dominance de la sous-espèce *carotovora* dans notre échantillonnage (7/12) est en accord avec les données rapportées par de nombreux auteurs (Avrova *et al.*, 2002 ; Oliveira *et al.*, 2003 et Bell *et al.*, 2004), ceci est dû à sa grande distribution géographique et à sa large gamme de température (5 à 36°C). De plus, les souches d'*Ecc* possèdent des mécanismes de thermorégulation enzymatique leur permettant d'infecter une gamme d'hôtes plus large (Pérombelon, 1992). Ce qui expliquerait sa prédominance et sa capacité d'infection sur beaucoup d'espèces végétales.

Cette sous-espèce est capable d'un comportement saprophytique plus évolué, elle peut survivre dans des environnements très différents. Cette ubiquité pourrait correspondre à une pression de sélection différente selon les souches et leurs niches écologiques (Priou, 1992).

La sous-espèce *atroseptica*, bien qu'elle soit considérée par de nombreux auteurs comme étant la plus dominante sur pomme de terre, présente un faible rapport (3/12). Elle est défavorisée vu qu'elle présente l'optimum de température le plus bas qui est de 15 à 25°C (Dupuis *et al.*, 2005). De plus, la restriction de cette sous-espèce aux pommes de terre est attribuée à sa spécificité étroite vis-à-vis de l'hôte, ceci est particulièrement dû à la très grande conservation des profils RFLP chez les différentes souches d'*Eca* (Priou, 1992 ; Pérombelon, 2002).

*Erwinia chrysanthemi* présente un faible taux (2/12), peu d'informations sont disponibles sur la spécificité d'hôte et l'habitat naturel des souches d'*Ech*, elle infecte occasionnellement la pomme de terre par rapport aux autres souches d'*Erwinia* pectinolytiques (Pérombelon, 1992). Et bien que sa température de croissance puisse aller au delà de 45°C, cette dernière sévit surtout dans les zones tropicales et subtropicales. D'ailleurs, d'après les récentes évolutions taxonomiques et selon Samson *et al.* (2004), cette espèce est mise dans un genre à part qui est *Dickeya*.

La classification phénotypique utilise un faible nombre de caractères considérés comme importants comme la morphologie, la mise en évidence d'un caractère biochimique et l'habitat, mais ne reflète qu'un nombre réduit d'informations, qui restent néanmoins essentiels et indispensables pour la conservation et l'identification des souches.

## V) Tests de pathogénicité

### V-1) Hypersensibilité sur feuilles de tabac

Une réponse d'Hypersensibilité (HR) positive induit une réaction similaire à une chlorose sur la surface infiltrée après au moins 24h d'injection. Elle est caractérisée par une

mort cellulaire rapide et une nécrose des tissus au site d'attaque du pathogène, le résultat est la restriction de la croissance des bactéries et de leur propagation (Kariola *et al.*, 2003).

Avec un inoculum de  $10^8$  UFC/ml, une différence dans la réaction d'hypersensibilité des *Ecc* vis-à-vis des feuilles de tabacs est observée. Excepté les souches 1, 4, 10 et 12 qui ont montré une réaction négative (HR-), les autres souches d'*Ecc* (*Ecc* 98.1, 3, 7 et 6) ont induit une chlorose à la surface des feuilles (HR+), après 24 à 72 heures d'infiltration. Les souches *Ech* 99.21 et 8 ont aussi induit une réaction d'hypersensibilité, alors que la souche 5 n'a eu aucun effet (Fig. 14).

Selon Priou *et al.* (1992) et Yahiaoui-Zaidi (2004), une variabilité dans la réponse d'hypersensibilité sur tabac est observée sur les différentes souches d'*Ecc* infiltrées. Ceci n'est pas surprenant, vu la diversité qui existe au sein de cette sous-espèce. Cette variabilité est aussi due aux différents taux d'enzymes pectiques produits par les souches, en particulier les pectate lyases et les polygalacturonases (Atkinson *et al.*, 1986). Par ailleurs, les réponses du tabac sont variables pour des inocula dont la densité des populations bactériennes est inférieure à  $3,10^9$  UFC/ml (Priou *et al.*, 1992).



**Figure 13 :** Résultats du test d'infiltration sur feuilles de tabac

On note l'absence de zones nécrosées pour les feuilles inoculées par les sous-espèces *atroseptica* (HR-). Ces résultats sont en accord avec les observations faites par Priou *et al.* (1992) et par Yahiaoui-Zaidi (2004).

La variation dans la réponse des souches de la sous-espèce *carotovora* au test d'hypersensibilité sur feuilles de tabac (positive pour certaines souches et négative pour d'autres) confirme la grande diversité existant au sein de cette sous-espèce.

## V-2) Pathogénicité sur tomate

L'inoculation des souches d'*Erwinia* pectinolytiques sur tomates (variété Top 48) montre que la plupart des tomates ont présenté des symptômes d'une pourriture sombre et humide. La peau du fruit est imbibée d'eau et reste intacte pour éclater ensuite (Fig.15). Ces symptômes sont conformes à ceux décrits par Arsenijevic (1978). Les souches 1, 4, 7 et 12 n'ont montré aucun symptôme. En outre, quelques fruits de tomates présentent des signes avancés de contamination par une flore fongique.



**Figure 14 :** Symptômes de pourriture molle sur tomates

L'effet sur tomate est cependant équivoque, vu que certaines souches n'ont pas induit de symptômes. Cette absence de virulence peut-être expliquée par le fait que ces souches soient isolées à partir d'un autre hôte, et sont donc non pathogènes sur un hôte autre que celui d'origine. Etant donné que la plupart des isolats sont originaires de pommes de terre, ceci explique l'inefficacité et l'avirulence de quelques souches sur tomate.

Bien que Smith et Bartz (1990) mentionnent que les souches isolées d'un hôte particulier ne sont pas toujours les plus agressives lorsqu'elles sont inoculées sur ce même hôte, ainsi certaines souches d'*Ecc* isolées de pommes de terre et de tomates peuvent présenter une agressivité réduite sur ces deux hôtes d'origine.

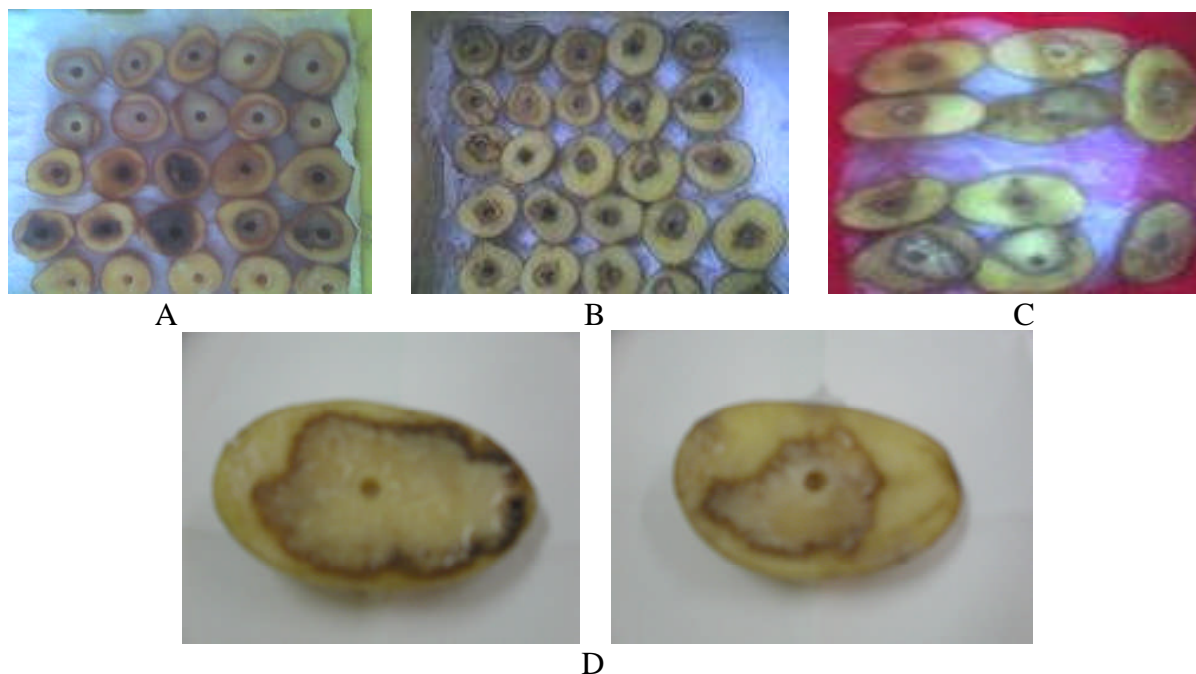
### **V-3) Pathogénicité sur pomme de terre**

#### **V-3-1) Pouvoir pathogène des souches d'*Erwinia* pectinolytiques**

Les résultats du test d'inoculation des demi-tubercules de quatre cultivars de pomme de terre (Désirée, Diamant, Timate et Kondor) par l'ensemble des souches de notre collection ont montré un net effet pathogène de ces dernières. Ce pouvoir pathogène varie d'une souche à l'autre tant au regard de la nature des symptômes observés que par l'étendue des nécroses formées.

Les symptômes de pourriture sont typiques pour chaque sous-espèce et correspondent aux symptômes causés par les souches types. Les souches d'*Eca* et d'*Ecc* sont distinguables par l'apparence de la pourriture occasionnée sur tubercules.

Alors que les symptômes causés par *Eca* sont caractérisés par une pourriture foncée et humide entourée d'un halo noir marquant une frontière avec les tissus sains, ceux provoqués par *Ecc* sont plutôt secs, de couleur marron clair et l'étendue de la surface nécrosée est plus réduite (Fig. 16).



**Figure 15** : Symptômes de pourriture molle sur demi-tubercules de pomme de terre  
A : *Eca*, B : *Ecc*, C : *Ech*, D : tubercules inoculés par la souche type *Eca*

Les tissus macérés et pourris autour du site d'inoculation confirment la pathogénicité de ces bactéries. Ainsi, la plupart des souches utilisées dans cette étude induit des lésions et des pourritures molles sur les cultivars à une concentration de  $10^{10}$  cellules/ml. La quantité de tissus malades et la sévérité de la maladie sont étroitement liées avec le nombre de bactéries présent dans les tubercules.

Les volumes de nécroses varient de 1 à 3 fois entre les souches les plus agressives et les moins agressives. Par ailleurs, les demi-tubercules témoins ne présentent aucun symptôme de pourriture molle après 72h d'incubation.

Dans l'ensemble, les quantités de pourriture obtenues par les souches d'*Eca* sont nettement plus élevées que celles obtenues avec *Ecc* et *Ech*. La même remarque est faite pour les volumes d'eau mesurés. Aussi, au regard des volumes de nécrose formés, les souches d'*Eca* sont les plus agressives, en particulier, la souche de référence *Eca* 100T et la souche 9 (voir annexe 3).

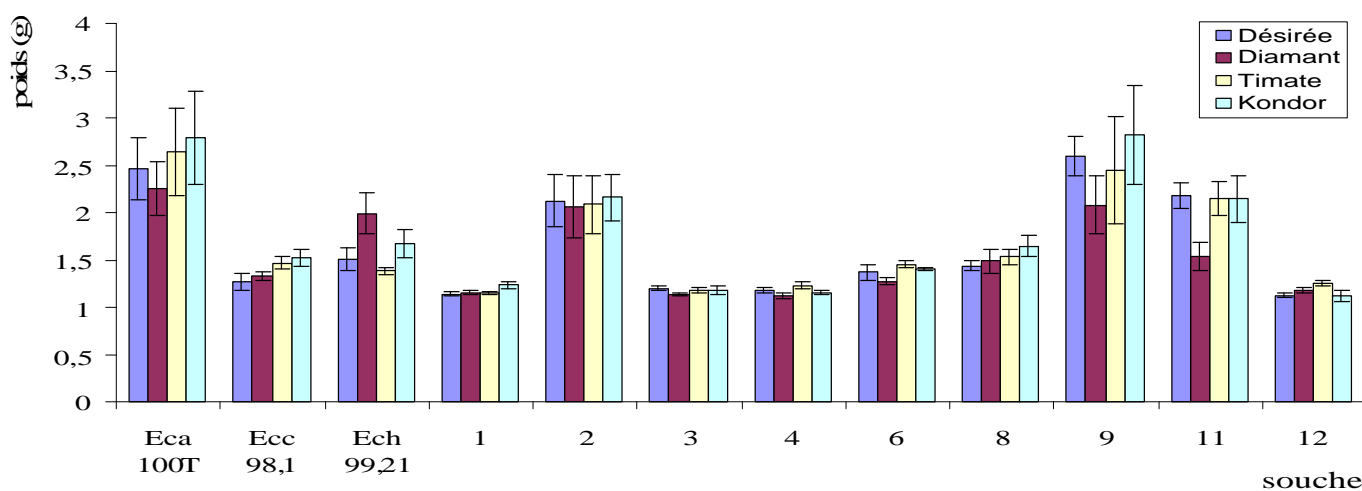


Ainsi, on distingue les souches hautement agressives qui ont la capacité de macérer fortement les quatre cultivars de pomme de terre (*Eca*), des souches moyennement agressives qui ont une capacité de macération plus limitée (*Ecc*), notamment, les souches 1, 4 et 12. Les souches d'*Ech* (*Ech* 99.21 et 8) montrent une virulence intermédiaire (Fig. 17 et 18).

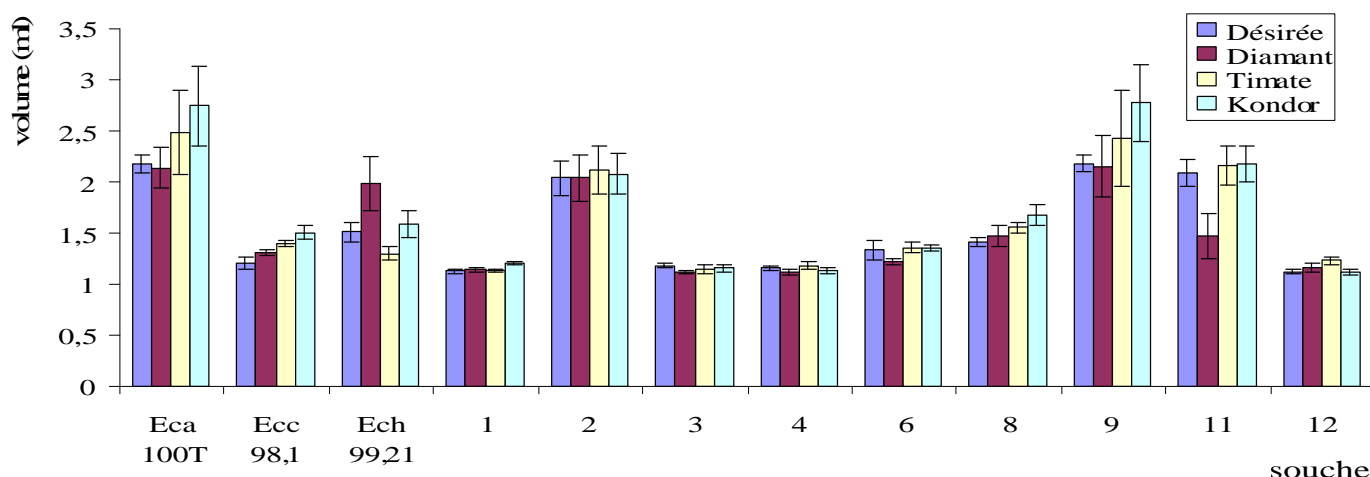
Cette forte virulence d'*Eca* est expliquée par son optimum de température. En effet, selon Pérombelon (1992) et Smadja *et al.* (2004), à des températures de 15 à 22°C, les souches d'*Eca* produisent des quantités élevées de pectinases, notamment la transéliminase endopolygalacturonique, induisant ainsi les symptômes de pourriture molle. Tandis qu'à des températures supérieures à 25°C, cette production diminue pour devenir presque indétectable à 30°C, et c'est la sous-espèce *Ecc* qui prédomine alors. Etant donné que la température d'incubation des demi-tubercules n'a presque pas dépassé le seuil de 22°C, il est tout à fait normal que les souches d'*Eca* soient les plus pectinolytiques.

Une variabilité pathogénique est observée au sein des souches d'*Ecc* sur les quatre variétés. Cette diversité est tout à fait logique, car de telles différences ont été déjà signalées par de nombreux auteurs (Smith et Bartz, 1990 ; Priou *et al.*, 1992 et Yahiaoui-Zaidi *et al.*, 2003 ). Elle est liée à la diversité biochimique et moléculaire existant au sein de cette sous-espèce, ainsi qu'aux différentes réponses des variétés de pomme de terre (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

Parfois, même certaines souches ayant des profils physiologiques, biochimiques et moléculaires similaires, présentent des différences dans leur comportement vis-à-vis des quatre cultivars.



**Figure 16 :** Pouvoir pathogène des souches d'*Erwinia pectinolytica* sur pommes de terre (poids des pourritures)



**Figure 17 :** Pouvoir pathogène des souches d'*Erwinia pectinolytica* sur pommes de terre (volumes des pourritures)

Deux souches d'*Ecc* (7 et 10) et une souche d'*Ech* (5) n'ont pas pu induire de symptômes de pourriture sur les quatre variétés. L'absence de souches pathogènes observée au sein des *Ecc* et des *Ech* est clairement expliquée, car selon Smith et Bartz (1990) et Priou (1992), certaines souches d'*Erwinia* peuvent perdre la totalité ou une partie de leur pouvoir pathogène après plusieurs repiquages successifs.

L'incapacité de certaines souches à reproduire les symptômes sur la plante hôte pourrait être due à une faible production d'enzymes pectinolytiques. Les souches fraîchement isolées ont plus la capacité de conserver leur pouvoir pathogène que les souches qui proviennent d'une culture ou d'une collection ancienne.

Cependant, l'absence de pathogénicité des souches 5, 7 et 10 sur les quatre cultivars, ne semble pas pour autant liée au seul problème du repiquage. Selon Boccara *et al.* (1991), les souches d'*Erwinia pectinolytica* isolées à partir d'un hôte infecté et qui ne sont pas pathogènes sur ce même hôte, pourraient ne pas être à l'origine des lésions à partir desquelles elles ont été isolées.

### V-3-2) Interaction souche-cultivar

D'une manière générale, il n'existe pas de différence significative entre les facteurs souche et cultivar, les quatre variétés de pomme de terre présentent en général les mêmes niveaux de sensibilité vis-à-vis de toutes les souches testées. D'après l'analyse de la variance, l'effet global des souches sur les cultivars s'avère uniforme et ceci tant pour les poids que pour les volumes des pourritures (voir annexe 3). Ce résultat est aussi annoncé par Lapwood *et al.* (1984) et Zimnoch-Guzowska *et al.* (1999), qui sont arrivés aux mêmes conclusions.

Cependant, on note des différences significatives ( $p < 0,05$ ) des variétés vis-à-vis de chaque souche prise individuellement. Ainsi, en mesurant les volumes de pourriture de la souche de référence *Ecc*, on observe la présence de quatre groupes homogènes au niveau desquels les cultivars présentent des sensibilités variables ; Désirée étant la plus résistante, suivie de Diamant, puis de Timate et Kondor.

En outre, la mesure des poids des pourritures révèle que pour les souches *Eca* 100T et 2, les cultivars ne montrent pas de différence et sont donc classés dans un même et unique groupe, ceci est probablement dû au fait que ces deux souches soient les plus virulentes et les plus agressives de notre collection d'où la grande sensibilité de tout les cultivars vis-à-vis de ces dernières.

D'ailleurs, certains auteurs comme Wolters et Collins (1994) sont arrivés à la même conclusion, à savoir qu'avec les souches d'*Eca*, les cultivars de pomme de terre sont toujours réunis dans les mêmes groupes. Cette sous-espèce ne permet pas de réaliser un criblage des cultivars selon leurs degrés de résistance comparé aux souches d'*Ecc* et d'*Ech*, les quelles sont préconisées pour le test d'inoculation, car elles permettent une meilleure séparation entre les différentes variétés, apportant ainsi plus de possibilités de sélection de cultivars résistants. Le classement des variétés de pomme de terre vis-à-vis de chaque souche selon les paramètres poids et volume est donné en annexe 3.

En tenant compte des groupes homogènes pris pour chaque souche, on remarque que dans la plupart des cas, d'une manière générale et au regard des résultats obtenus, les variétés Diamant, puis Désirée sont les plus résistantes à la pourriture molle. Tandis que les cultivars Timate et Kondor sont les plus sensibles.

Ces résultats sont conformes aux données rapportées par d'autres auteurs. Ainsi, Lapwood *et al.* (1984) ont montré lors de l'évaluation du comportement de 22 cultivars pour leur résistance à la pourriture molle en 1982 et 1983 que la variété Désirée est classée comme résistante vis-à-vis des deux sous-espèces *Eca* et *Ecc*. Ils ont noté aussi une différence de 1 à 6 fois en poids des pourritures des tubercules macérés.

Les travaux de Rabot *et al.* (1994) réalisés sur 8 cultivars ont décrit la variété Désirée comme peu ou modérément sensible à la pourriture molle causée par les souches d'*Eca*. Ces résultats ont aussi montré que cette variété présente aussi une faible sensibilité à la maladie de la jambe noire.

Allefs *et al.* (1996) ont montré que chez 12 variétés de pomme de terre, la résistance à l'inoculation est plus prononcée pour les tubercules inoculés par *Ech* que ceux traités par *Eca*.

Ils ont aussi démontré que le cultivar Désirée est plus résistant que Kondor vis-à-vis de ces deux souches.

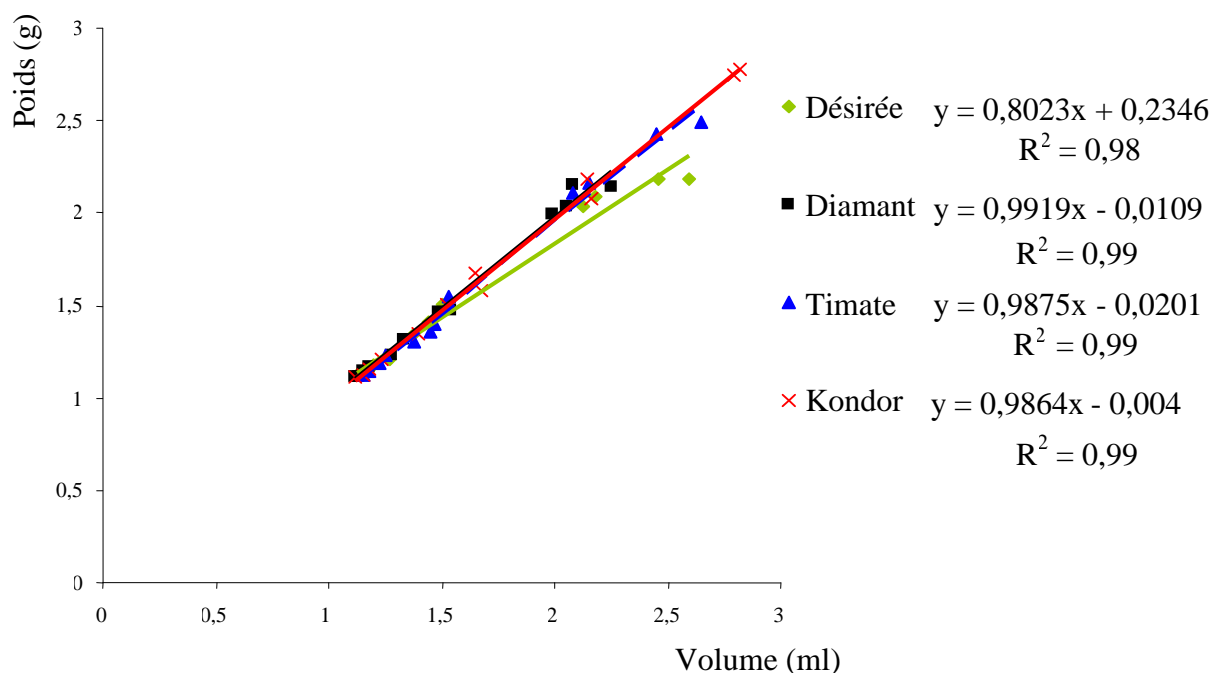
Zimnoch-Guzawska *et al.* (1999) ont testé la résistance de 44 hybrides diploïdes de pomme de terre vis-à-vis des maladies de jambe noire et de pourriture molle, ils ont trouvé que les souches d'*Eca* sont les plus virulentes et produisent des quantités de pourritures généralement plus importantes que les souches d'*Ech*.

Par ailleurs, Acuña *et al.* (2004) ont évalué la réaction de 14 cultivars vis-à-vis de quatre maladies, et ont conclut que Désirée est sensible à la pourriture sèche. Par contre, elle est plus résistante à la pourriture molle, ainsi qu'à la gale commune et à la nervure noire.

La résistance de certains cultivars à la pourriture molle est probablement expliquée par le fait qu'ils contiennent des grandes quantités de pectines méthylées. Ces dernières sont très difficiles à dégrader par les pectinases d'*Erwinia*. En outre, les activités pectate lyases sont plus faibles pour les cultivars résistants que pour ceux qui sont sensibles (Dorel *et al.*, 1996).

L'âge des tubercules constitue également un facteur de sensibilité des cultivars, (les variétés à maturation tardives comme Désirée étant plus résistantes que celles à maturation précoce) (Rabot *et al.*, 1994). Il existe une corrélation très hautement significative ( $R^2 = 0,98$ ) entre les volumes d'eau nécessaires pour remplir les puits et les quantités de pourriture pesées. Ce résultat est supérieur au rapport donné par Lapwood *et al.* (1984), qui est de  $R^2 = 0,86$ .

Les différentes corrélations poids-volume des quatre variétés de pomme de terre sont mentionnées dans la figure 18.



**Figure 18 :** Corrélation entre les mesures du poids et du volume des pourritures pour chaque variété de pomme de terre

Etant donné que la plupart des cultivars testés par de nombreux auteurs présentent le même degré de sensibilité à la pourriture molle, ces derniers recommandent l'utilisation d'une seule sous-espèce au lieu de trois dans le but d'avoir un meilleur screening pour la résistance des cultivars (Lapwood *et al.*, 1984 ; Wolters et Collins, 1994).

La plupart des travaux ayant eu pour objet l'évaluation de la résistance des cultivars de pomme de terre à la pourriture molle et à la jambe noire ont établi une corrélation positive significative entre ces deux maladies. Bien que cette corrélation ne soit pas toujours stable et semble dépendre de divers paramètres comme le génotype et les conditions environnementales ainsi que l'âge des tubercules (Rousselle-Bourgeois et Priou, 1995 ; Zimnoch-Guzowka, 1999).

La méthode des demi-tubercules semble être la plus appropriée et la plus adéquate pour la différenciation des niveaux intermédiaires de résistance des cultivars (Rabot *et al.*, 1994). Le calcul des poids de pourriture est réalisé dans le but de mesurer les quantités de tissus infectés, tandis que la mesure des volumes d'eau est effectuée afin d'évaluer le degré de pénétration des tissus par les souches d'*Erwinia* pectinolytiques (Lapwood *et al.*, 1984).

La mesure des volumes de pourriture s'avère la plus précise et la plus efficace dans l'estimation du degré de pathogénicité des souches et de sensibilité des cultivars car elle fournit plus de groupes homogènes, le calcul des poids des pourritures n'étant pas très fiable et présente de grands écarts.

Dans cette étude, la souche de référence *Ech* a donné les pourritures les plus élevées avec Diamant, Kondor étant la plus résistante à cette souche, ce qui paraît peu commun.

En effet, les résultats du test d'inoculation peuvent être différents et opposés d'un auteur à un autre et d'une année à une autre. Ainsi Wolters et Collins (1994), en évaluant la résistance de 18 clones diploïdes de pomme de terre, ont montré que les souches d'*Ech* et d'*Ecc* sont beaucoup plus agressives que les souches d'*Eca*.

Les souches présentant la plus forte capacité de macération ont été identifiées dans cette étude. Ce travail consiste en une identification macroscopique et microscopique de ces bactéries, suivi de tests biochimiques classiques et de tests de pathogénicité. La grande diversité des souches d'*Ecc* rapportée par beaucoup d'auteurs selon leurs propriétés biochimiques, sérologiques et leur pathogénicité, ainsi que le grand pouvoir pathogène des souches d'*Eca* semblent donc être confirmés dans cette étude.

L'inoculation des cultivars de pomme de terre est faite dans le but de choisir les souches les plus agressives pour leur screening ainsi que pour développer la résistance des plantes hôtes aux maladies de la pourriture molle et de la jambe noire.

Par ailleurs, il semblerait qu'il n'existe pas de corrélation entre les tests de pathogénicité effectués sur pommes de terre et ceux réalisés sur tomates et feuilles de tabac.

Le manque de moyens de lutte chimique contre ces deux maladies stimule l'intérêt porté pour les variétés résistantes. Cependant, il faut noter que le niveau de résistance à la pourriture molle chez les cultivars commerciaux est insuffisant pour protéger la récolte contre les pertes pouvant survenir au champ et en entreposage.

## Conclusion

Le premier objectif de notre travail fut d'établir une collection diversifiée de souches d'*Erwinia* pectinolytiques (*Pectobacterium*) à partir de pommes de terre et de tomates en Algérie. Les résultats obtenus après isolement et identification biochimique s'accordent pour confirmer la présence des bactéries pectinolytiques du genre *Erwinia* dans la région de Bejaia, tant sur les tubercules de pomme de terre que sur tomates.

Après une série de tests effectués sur l'ensemble des bactéries isolées, 12 souches sont sélectionnées sur la base de leurs réponses positives aux caractéristiques appropriées aux *Erwinia* pectinolytiques, parmi ces souches, 10 correspondent à l'espèce *Erwinia carotovora*, tandis que les 2 autres appartiennent à l'espèce *Erwinia chrysanthemi*.

L'espèce *E. carotovora* est elle-même divisée en deux sous espèces : 7 souches appartenant à *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* (*Ecc*) dont 3 ont été isolées à partir de la pomme de terre (variété Diamant), 3 autres à partir de la variété Désirée et une seule souche à partir de la tomate (variété Marmande). 3 souches correspondent à *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* (*Eca*) dont 1 souche est identifiée à partir de la variété Désirée et 2 autres à partir de Diamant. Par ailleurs au sein de l'espèce *Erwinia chrysanthemi*, deux biovars (3 et 8) ont été isolés respectivement à partir de pomme de terre (Diamant) et de tomate (Marmande).

Les isolements effectués sur des carottes présentant des symptômes typiques de pourriture molle n'ont pas permis d'identifier les souches d'*Erwinia* pectinolytiques. Ainsi, l'observation visuelle des symptômes s'avère insuffisante pour mettre en évidence l'agent pathogène mis en cause.

D'après ces divers résultats, il ressort clairement que l'incidence des *Erwinia* pectinolytiques est beaucoup plus grande sur pomme de terre, par rapport à la tomate. Par ailleurs, sur l'ensemble des souches de notre collection, *E. carotovora* ssp. *carotovora* est la plus dominante (7/12), ceci est conforme à la plupart des études antérieures, étant donné que cette sous-espèce possède un vaste éventail d'hôtes. Sa large gamme de température et son ubiquité lui permettent de coloniser la plupart des hôtes végétaux. La sous-espèce *E. carotovora* ssp. *atroseptica* est présente en proportion limitée (3/12), elle est défavorisée par sa gamme de température étroite. Enfin, l'espèce *Erwinia chrysanthemi* ne représente qu'un faible pourcentage (2/12), cette dernière n'infecte qu'occasionnellement la pomme de terre.

Pour une meilleure identification des souches, il est recommandé de compléter les tests d'identification biochimique par des tests du pouvoir pathogène sur les plantes hôtes et des tests d'hypersensibilité sur feuilles de tabac. L'ensemble des souches testées a montré des symptômes de pathogénicité caractérisés par une réaction d'hypersensibilité sur les feuilles de tabac et par l'apparition de pourritures molles sur pommes de terre et tomates.

Sur les 12 souches sélectionnées, 4 *Ecc* et 2 *Ech* ont induit une réaction d'hypersensibilité après infiltration des feuilles de tabac. Tandis qu'aucune souche d'*Eca*, de même que quatre *Ecc* n'ont pu induire de nécrose. Les résultats relatifs au test d'inoculation des souches d'*Erwinia* pectinolytiques sur demi-tubercules de pomme de terre ont montré une grande variabilité pathogénique, plus particulièrement au sein de la sous espèce *carotovora*. Ces tests ont permis également de confirmer le grand pouvoir pathogène des souches d'*Eca* qui ont induit des quantités élevées de pourriture molle. La sous-espèce *atroseptica* est la plus agressive tandis que les souches d'*Ecc* présentent une moindre virulence, *Ech* ayant une pathogénicité intermédiaire.

D'autres parts, l'absence de virulence est observée chez deux souches d'*Ecc* et une souche d'*Ech* qui n'ont montré aucun symptôme sur pomme de terre. Sur tomate, l'absence de développement de la maladie est notée après inoculation de 3 souches d'*Ecc* ainsi qu'une *Eca*.

Les résultats du test de pathogénicité effectué sur les cultivars de pomme de terre ont permis de montrer que ces derniers présentent les mêmes niveaux de sensibilité à la pourriture molle. Cependant, dans la plupart des cas, les variétés Diamant et Désirée sont les plus résistantes, alors que Timate et Kondor sont plus sensibles. Malgré l'importance des techniques d'investigation biochimiques, elles restent cependant insuffisantes pour permettre un diagnostic rapide, surtout lors d'un développement intense de pourriture dans les lieux de conservation.

Un approfondissement du travail réalisé est nécessaire pour permettre d'une part la confirmation des résultats en utilisant des outils moléculaires, et d'autre part, d'élargir la gamme d'échantillonnage sur d'autres variétés de pomme de terre d'origines diverses ainsi que d'autres plantes hôtes, avec un suivi de l'évolution de la maladie au champ (jambe noire).

Une étude de la variabilité pathogénique en fonction de la température, (facteur important pour le développement de la pourriture molle), pourrait être envisagée. Il serait également souhaitable de compléter cette étude par des tests d'évaluation des activités inhibitrices de différentes substances antibactériennes, (toxines, erwiniocine, carotovoricine), ainsi que par l'effet des sels sur la croissance et l'activité des *Erwinia* pectinolytiques.



## Références bibliographiques

**Abreu, P., Relva, A., Matthew, S., Gomes, Z. and Morais, Z. (2007):** High-performance liquid chromatographic determination of glycoalkaloids in potatoes from conventional, integrated, and organic crop systems.  
Food Control 18: 40-44.

**Acuña, I., Kalazich, J., Aguila, C., Vargas, M., Mancilla, S. and Uribe, M. (2004):** Relative resistance to dry rot, rhizoctonia disease, common scab and soft rot of potato commercial cultivars at the southern Chile.  
XXI National Congress of Phytopathology 7-12 Marh, Chile, 30 p.

**Afek, U. and Orenstein, J. (2002):** Disinfecting potato tubers using stem treatments.  
Canadian Journal of Plant Pathology 24: 36-39.

**Agarwal, S. and Rao, A. V. (2000):** Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases.  
Canadian Medical Association Journal 163: 739-44.

**Ahmed, M. E. E. (2001):** Detection and effects of latent contamination of potato tubers by soft rot bacteria, and investigations on the effect of hydrogen peroxide on lipopolysaccharides of *Erwinia carotovora* in relation to acquired resistance against biocides.  
Thèse de doctorat, Gottingen, Allemagne, 166 p.

**Ahuja, K. D. K., BiomedSc., M., Pittaway, J. K., BiomedSc., B. and Ball, M. J. (2006):** Effects of olive oil and tomato lycopene combination on serum lycopene, lipid profile, and lipid oxidation.  
Nutrition 22: 259-265.

**Alfano, J. R. and Collmer, A. (1996):** Bacterial pathogens in plants: Life up against the wall.  
The Plant Cell 8: 1683-1698.

**Allefs, J. J. H. M., Van Dooijeweert, W., Prummel, W., Kaizer, L. C. P. and Hoogendoorn, J. (1996):** Components of partial resistance to potato blackleg caused by pectolytic *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *E. chrysanthemi*.  
Plant Pathology 45: 486-496.

**An, C. L., Lima, W. J., Hong, S. Y., Shin, E. C., Kim, M. K., Lee, J. R., Park, S. R., Woo, J. G., Lim, Y. P. and Yun, H. D. (2005):** Structural and biochemical analysis of the *asc* operon encoding 6-phospho- $\beta$ -glucosidase in *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* LY34.  
Research in Microbiology 156: 145-153.

**Arsenijevic, M. (1978):** *Erwinia* soft rot bacteria originating from pepper and tomato fruits.  
4<sup>th</sup> International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Angers, 531-537.

**Atkinson, M. M., Baker, C. J. and Collmer, A. (1986):** Transient activation of plasmalemma K<sup>+</sup> efflux and H<sup>+</sup> influx in tobacco by a pectate lyase isozyme from *Erwinia chrysanthemi*.  
Plant Physiology 82: 142-146.

- Avrova, A. O., Hyman, L. J., Toth, R. L. and Toth, I. K. (2002):** Application of amplified fragment length polymorphism fingerprinting for taxonomy and identification of the soft rot bacteria *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 1499-1508.
- Axelrood, P. E., Rella, M. and Schroth, M. N. (1988):** Role of antibiosis in competition of *Erwinia* strains in potato infection courts. *Applied and Environmental Microbiology* 54: 1222-1229.
- Aysan, Y., Karatasb, A. and Cinara, O. (2003):** Biological control of bacterial stem rot caused by *Erwinia chrysanthemi* on tomato. *Crop Protection* 22: 807-811.
- Barabote, R. D., Johnson, O. L., Zetina, E., San Francisco, S. K., Fralick, J. A. and San Francisco, M. J. D. (2003):** *Erwinia chrysanthemi tolC* is involved in resistance to antimicrobial plant chemicals and is essential for phytopathogenesis. *Journal of Bacteriology* 185: 5772-5778.
- Barkai-Golan, R. (2001):** Host protection and defense mechanisms. *in: Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables*, chapter 6, 6-93, 1<sup>st</sup> edition 442 p.
- Bartz, J.A. (1999):** Suppression of bacterial soft rot in potato tubers by application of Kasugamycine. *American Journal of Potato Research* 76: 127-136.
- Bell, A., Mück, O. and Schuler, B. (2000):** Les richesses du sol: les plantes à racines et tubercules en Afrique, une contribution au développement des technologies de récolte et d'après-récolte. German Foundation for International Development, 330 p.
- Bell, K. S., Sebaihia, M., Pritchard, L., Holden, M. T. G., Hyman, L. J., Holeva, M. C., Thomson, N. R., Bentley, S. D., Churcher, L. J. C., 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. C., Birch, P. R., Parkhill, J. J. and Toth, I. K. (2004):** Genome sequence of the enterobacterial phytopathogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and characterization of virulence factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101: 11105-11110.
- Beri, H. (2005):** Chemical and molecular analysis of the cell wall composition of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in relation to resistance to *Ralstonia solanacearum*, causal agent of bacterial wilt. Thèse de doctorat, Hannover, Allemagne, 211 p.
- Bezanger-Beauquesne, L., Pinkas, M., Torck, M. et Troitin, F. (1990):** Plantes médicinales des régions tempérées. Edition Maloine 384 p.
- Blum, A., Monir, M., Wirsansky, I. and Ben-Arzi, S. (2005):** The beneficial effects of tomatoes. *European Journal of Internal Medicine* 16: 402-404.
- Boccaro, M., Vedel, R., Lalo, D., Lebrun, M. H. and Lafay, J. F. (1991):** Genetic diversity and host range in strains of *Erwinia chrysanthemi*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 4: 293-299.

- Boşgelmez-Tinaz, G. (2003):** Quorum sensing in gram-negative bacteria. Turkish Journal of Biology 27: 85-93.
- Brencic, A. and Winans, S. C. (2005):** Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews 69: 155-194.
- Brenner, D. J., Fanning, G. R. and Steigerwalt, A. G. (1972):** Deoxyribonucleic acid relatedness among species of *Erwinia* and between *Erwinia* species and other *Enterobacteriaceae*. Journal of Bacteriology 110: 12-17.
- Bruneton, J. (2001):** Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux. Editions Tec & Doc, Paris, 2<sup>ème</sup> édition 564 p.
- Bustan, A., Sagia, M., De Malach, Y. and Pasternak, D. (2004):** Effects of saline irrigation water and heat waves on potato production in an arid environment. Field Crops Research 90: 275-285.
- Byers, J. T., Lucas, C., Salmond, G. P. C. and Welch, M. (2002):** Nonenzymatic turnover of an *Erwinia carotovora* quorum-sensing signaling molecule. Journal of Bacteriology 184: 1163-1171.
- Castro, M. S. and Fontes, W. (2005):** Plant defense and antimicrobial peptides. Protein and Peptide Letters 12: 11-16.
- Chaffei, C., Suzuki, A., Masclaux-Daubresse, C., Ghorbel, M. H. et Gouia, H. (2006):** Implication du glutamate, de l'isocitrate et de la malate déshydrogénases dans l'assimilation de l'azote chez la tomate stressée par le cadmium. Comptes Rendus Biologies 329: 790-803.
- Chatterjeet, A. K. and Starr, M. P. (1973):** Transmission of lac by the sex factor E in *Erwinia* strains for humain clinical sources. Infection and Immunity 8: 563-572.
- Chibane, A. (1999)<sub>a</sub>:** Techniques de la production de la pomme de terre au Maroc. Bulletin de Transfert de Technologie en Agriculture, N°52, 4 p.
- Chibane, A. (1999)<sub>b</sub>:** Tomate sous-serre. Bulletin de Transfert de Technologie en Agriculture, N°57, 4 p.
- Chrispeels, M. J. and Raikhel, N. V. (1991):** Lectins, lectin genes, and their role in plant defense. The Plant Cell 3: 1-9.
- Cladera-Olivera, F., Caron, G. R., Motta, A. S., Souto, A. A. and Brandelli, A. (2006):** Bacteriocin-like substance inhibits potato soft rot caused by *Erwinia carotovora*. Canadian Journal of Microbiology 52: 533-539.
- Condemine, G., Castillo, A., Passeri, F. and Enard, C. (1999):** The PecT repressor coregulates synthesis of exopolysaccharides and virulence factors in *Erwinia chrysanthemi*. Molecular Plant-Microbe Interactions 12: 45-52.
- Costa, J. M. and Loper, J. E. (1994):** Derivation of mutants of *Erwinia carotovora* subsp. *betavasculorum* deficient in export of pectolytic enzymes with potential for biological control of potato soft rot. Applied and Environmental Microbiology 60: 2278-2285.

- Cothner, E. J. and Blakeney, A. B. (1987):** The specific detection of indole production by *Erwinia* species and some other *Enterobacteria* on agar. *Journal of Applied Bacteriology* 63: 329-334.
- Crété, P. (1965) :** Précis de botanique. Tome II ; Systématique des angiospermes. Edition Masson et C<sup>ie</sup> 425 p.
- Darasse, A., Kotoujansky, A. and Bertheau, Y. (1994):** Isolation by genomic substraction of Dna probes specific for *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 298-306.
- Davenport, J. R. and Bentley, E. M. (2001):** Does potassium fertilizer form, source and time of application influence potato yield and quality in the Columbia basin? *American Journal of Potato Research* 78: 311-318.
- De Boer, S. H. (2002):** Relative incidence of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in stolon end and peridermal tissue of potato tubers in Canada. *Plant Disease* 86: 960-964.
- De Boer, S. H. (2004):** Blackleg of potato. *The Plant Health Instructor*. DOI:10.1094/PHI-I-2004-0712-01.
- De Boer, S. H., Verdonck, L., Vrugink, H., Harju, P., Bang, H. O. and De Ley, J. (1987):** Serological and biochemical variation among potato strains of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and their taxonomic relationship to other *E. carotovora* strains. *Journal of Applied Bacteriology* 63: 487-495.
- Degefu, Y., Jokela, S., Tokola, E-J. and Virtanen, E. (2006):** DNA based detection of blackleg and soft rot disease causing *Erwinia* strains in seed potatoes. *Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote* 21: 1-6.
- Dickey, R. S. (1979):** *Erwinia chrysanthemi* : a comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. *Phytopathology* 69: 324-329.
- Dorel, C., Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Robert-Baudouy, J. and Lojkowska, E. (1996):** Production of *Erwinia chrysanthemi* pectinases in potato tubers showing high or low level of resistance to soft-rot. *European Journal of Plant Pathology* 102: 511-517.
- Dow, M., Newman, M-A. and Von Roepenack, E. (2000):** The induction and modulation of plant defense responses by bacterial lipopolysaccharides. *Annual Review of Phytopathology* 38: 241-261.
- Doymaz, I. (2007):** Air-drying characteristics of tomatoes. *Journal of Food Engineering* 78: 291-297.
- Duarté, X., Anderson, C. T., Grimson, M., Barabote, R. D., Strauss, R. E., Gollahon, L. S. and San Francisco, M. J. D. (2000):** *Erwinia chrysanthemi* strains cause death of human gastrointestinal cells in culture and express an intimin-like protein. *Federation of European Microbiological Societies Letters* 190: 81-86.
- Dupuis, B., Michelante, D., Garcia-Albeniz, N. and Nimal, C. (2005):** Le point sur les infections par *Erwinia* spp. en plant de pommes de terre. *Journée d'étude Pomme de terre-CRA-W Gembloux* 1-7.

- Durafourd, C. et Lapraz, J-C. (2002):** Traité de phytothérapie clinique ; médecine et endobiogénie.  
Edition Masson 352 p.
- El-Hendawy, H. H., Osman, M. E. and Ramadan, H. A. (2002):** Pectic enzymes produced *in vitro* and *in vivo* by *Erwinia* spp. isolated from carrot and pepper in Egypt.  
Journal of Phytopathology 150: 431-438.
- El Tassa, S. O. M. and Duarte, V. (2006):** Identificação de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* Através de PCR-RFLP do Gene *recA*.  
Fitopatologia Brasileira 31: 23-28.
- Expert, D. (1999):** Withholding and exchanging iron; interactions between *Erwinia* spp. and their plant hosts.  
Annual Review of Phytopathology 37: 307-334.
- FAO (2005):** FaoStat Database. Available from <http://faostat.fao.org>.
- Farrar, J. J., Nunez, J. J. and Davis, R. M. (2000):** Influence of soil saturation and temperature on *Erwinia chrysanthemi* soft rot of carrot.  
Plant Diseases 84: 665-668.
- Finotti, E., Bertone, A. and Vivanti, V. (2006):** Balance between nutrients and anti-nutrients in nine italian potato cultivars.  
Food Chemistry 99: 698-701.
- Franza, T., Mahé, B. and Expert, D. (2005):** *Erwinia chrysanthemi* requires a second iron transport route dependent of the siderophore achromobactin for extracellular growth and plant infection.  
Molecular Microbiology 55: 261-275.
- Franza, T., Sauvage, C. and Expert, D. (1999):** Iron regulation and pathogenicity in *Erwinia chrysanthemi* 3937; role of the fur repressor protein.  
Molecular Plant-Microbe Interactions 12: 119-128.
- Friedman, M. (2004):** Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds.  
Journal of Chromatography A 1054: 143-155.
- Gardan, L., Gouy, C., Christen, R. and Samson, R. (2003):** Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavasculorum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov.  
International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 53: 381-391.
- Ghanekar, A. S., Padwal-Desai, S. R. and Nadkarni, G. B. (1984):** The involvement of phenolics and phytoalexins in resistance of potato to soft rot.  
Potato Research 27: 189-199.
- Gilbert, G. (2001):** Ces intrus qui mangent nos carottes.  
Journées agricoles de Montréal-Laval-Lanaudière, 1<sup>er</sup> Février 2001.
- Gouesbet, G., Jebbar, M., Bonnassie, S., Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Himdi-Kabbab, S., Blanco, C. (1995):** *Erwinia chrysanthemi* at high osmolarity: influence of osmoprotectants on growth and pectate lyase production.  
Microbiology 141: 1407-1412.

- Grison, C. (1983):** La pomme de terre : caractéristiques et qualités alimentaires. Association pour la Promotion Industrie Agriculture (APRIA). Institut Technique de la Pomme de Terre. Edition TEC & DOC, 292 p.
- Gurib-Fakim, A. (2006):** Medicinal plants; Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27: 1-93.
- Hasegawa, H., Chatterjee, A., Cui, Y. and Chatterjee, A. K. (2005):** Elevated temperature enhances virulence of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* strain EC153 to plants and stimulates production of the quorum-sensing signal, *N*-acyl homoserine lactone, and extracellular proteins. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 4655-4663.
- Hauben, L., Moore, E. R. B., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonck, L. and Swings, J. (1998):** Phylogenetic position of phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. *Systematic Applied Microbiology* 21: 384-397.
- Hélias, V. (1999):** Mise au point d'outils de caractérisation et de détection d'*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* agent de la jambe noire et de la pourriture molle de pomme de terre. Application à l'étude de la transmission de la bactérie, *via* la plante, du tubercule mère vers les tubercules fils en cours de culture. Thèse de Doctorat, Renne, France, 190 p.
- Hélias, V., Andrivon, D. and Jouan, B. (2000):** Development of symptoms caused by *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* under field conditions and influence of their effects on the yield of individual potato plants. *Plant pathology* 49: 23-32.
- Hélias, V., Croizat, F. and Montfort, F. (2005):** Evaluation of a new polypectate formulation for isolation of soft rot *Pectobacterium* on CVP medium. European Association for Potato Research, Bilbao 17-22.
- Hildenbrand, S. and Ninnemann, H. (1994):** Kinetics of phytoalexin accumulation in potato tubers of different genotypes infected with *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 44: 335-347.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., and Williams, S. T. (1994):** Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th edition Williams & Wilkins, 787 p.
- Hossain, M. D. M., Shibata, S., Aizawa, S-I. and Tsuyumu, S. (2006):** Motility is an important determinant for pathogenesis of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 66: 134-143.
- Hsu, J. C. and Camper, N. D. (1973):** Pure culture studies of *Erwinia carotovora* with 3, 5-Diiodo-4-Hydroxybenzonnitrile. *Applied Microbiology* 26: 814-819.
- Huang, H-E., Ger, M-J., Chen, C-Y., Yip, M-K., Chung, M-C. and Feng, T-Y. (2006):** Plant ferredoxin-like protein (PFLP) exhibits an anti-microbial ability against soft-rot pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* *in vitro* and *in vivo*. *Plant Science* 171: 17-23.

- Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Condémine, G., Nasser, W. and Reverchon, S. (1996):** Regulation of pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi*. Annual Review of Microbiology 50: 213-257.
- Hyman, L. J., Toth, I. K. and Pérombelon, M. C. M. (1998):** Isolation and identification section 6, 66-77. in: Methods for the detection and quantification of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*) on potatoes: a laboratory manual. Pérombelon, M. C. M. and Van Der Wolf, J. M. (1998). Scottish Crop Research Institute Occasional Publication N° 10, 82 p.
- Hyytiäinen, H. (2005):** Regulatory networks controlling virulence in the plant pathogen *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*. Thèse de doctorat, Helsinki, Finlande, 57 p.
- Ibrahim, M., Jouan, B., Samson, R., Poutier, F. and Saily, M. (1978):** Prospect of a pathogenicity test concerning *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* and *Erwinia carotovora* var. *carotovora* on half potato tubers, variation according to variety of bacterial species and strains, inoculum dose, temperature, variety of potatoes, physiological age of tubers and delay between injury and inoculation. Proceeding 4<sup>th</sup> International Plant Conference plant pathogenic Bacteria. Angers, 591-602.
- Ito, S-I., Ihara, T., Tamura, H., Tanaka, S., Ikeda, T., Kajihara, H., Dissanayake, C., Abdel-Motaal, F. F. and El-Sayed, M. A. (2007):**  $\alpha$ -Tomatine, the major saponin in tomato, induces programmed cell death mediated by reactive oxygen species in the fungal pathogen *Fusarium oxysporum*. Federation of European Biochemical Societies Letters 581: 3217-3222.
- Jackson, A. O. and Taylor, C. B. (1996):** Plant-Microbe interactions: Life and death at the interface. The Plant Cell 8: 1651-1668.
- Jabeen, N., Ajaz Rasool, S., Ahmad, S., Ajaz, M. and Saeed, S. (2004):** Isolation, identification and bacteriocin production by indigenous diseased plant and soil associated bacteria. Pakistan Journal of Biological Sciences 7: 1893-1897.
- Jafra, S., Przynsowa, J., Czajkowski, R., Michta, A., Garbeva, P. and Van der Wolf, J. M. (2006):** Detection and characterization of bacteria from the potato rhizosphere degrading *N*-acyl-homoserine lactone. Canadian Journal of Microbiology 52: 1006-1015.
- Janse, J. D. and Ruissen, M. A. (1988):** Characterization and classification of *Erwinia chrysanthemi* strains from several hosts in the Netherlands. Phytopathology 78: 800-808.
- Jarvis, W. R et Mc Keen, C. D (1991):** Maladies de la tomate. Agriculture Canada Publication, Ottawa, 76 p.
- Johnson, A. A. T. and Veilleux, R. E. (2003):** Integration of transgenes into sexual polyploidization schemes for potato (*Solanum tuberosum* L.). Euphytica 133: 125-138.
- Jouzier, E. (2005):** Solanacées médicinales et philatélie. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux 144: 311-332.

- Kariola, T., Palomäki, T. A., Brader, G. and Palva, E. T. (2003):** *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia*-derived elicitors HrpN and PehA trigger distinct but interacting defense responses and cell death in *Arabidopsis*.  
Molecular Plant-Microbe Interactions 16: 179-187.
- Kim, J. F., Ham, J. H., Bauer, D. W., Collmer, A. and Beer, S. V. (1998):** The *hrpC* and *hrpN* operons of *Erwinia chrysanthemi* EC16 are flanked by *plcA* and homologs of hemolysin/adhesin genes and accompanying activator/transporter genes.  
Molecular Plant-Microbe Interactions 11: 536-567.
- Kwon, S-W., Go, S-J., Kang, H-W., Ryu, J-C. and Jo, J-K. (1997):** Phylogenetic analysis of *Erwinia* species based on 16S rRNA genes sequences.  
International Journal of Systematic Bacteriology 47: 1061-1067.
- Künstler, A., Fodor, J., Hafez, Y. M., Kiraly, Z. and Hevesi, M. (2005):** Relationship between H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-detoxication, tolerance to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and virulence of some phytopathogenic bacteria.  
Acta Biologica Szegediensis 49: 89-90.
- Kyöstiö, S. R. M., Cramer, C. L. and Lacy, G. H. (1991):** *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* extracellular protease ; characterization and nucleotide sequence of the gene.  
Journal of Bacteriology 173: 6537-6546.
- Lacroix, C et Vézina, L. (2003):** Techniques de laboratoire pour le diagnostic des bactéries phytopathogènes.  
Laboratoire de diagnostic en phytoprotection pour la détection et l'identification des bactéries phytopathogènes, 50p.
- Lapwood, D. H., Read, P. J. and Spokes, J. (1984):** Methods for assessing the susceptibility of potato tubers of different cultivars to rotting by *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica* and *carotovora*.  
Plant Pathology 33: 13-20.
- Larpent, J. P. (1997):** Les agents de la pourriture molle, *in*: Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire.  
Edition TEC & DOC 194-198.
- Lee, Y-A. and Yu, C-P. (2006):** A differential medium for the isolation and rapid identification of a plant soft rot pathogen, *Erwinia chrysanthemi*.  
Journal of Microbiological Methods 64: 200-206.
- Lelliott, R. A. and Dickey, R. S. (1984):** Genus VII. *Erwinia* Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers and Smith 1920. *in*: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 469-476. Edited by Krieg, N. R and Holt, J. G. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Liao, C-H. and Shollenberger, L. M. (2004):** Enumeration, resuscitation and infectivity of the sublethally injured *Erwinia* cells induced by mild acid treatment.  
Phytopathology 94: 76-81.
- Liu, Q., Tarn, R., Lynch, D. and Skjodt, N. M. (2007):** Physicochemical properties of dry matter and starch from potatoes grown in Canada.  
Food Chemistry, article *in press* 11 p.



- Lopez, M. J., Beltra, R., Liébana, E. and Marcilla, P. (1990):** Inhibition of *Erwinia carotovora* pv *carotovora* populations in potato tubers by chemicals.  
8<sup>th</sup> Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Agadir, Morocco 375-376.
- Lottmann, J., Heuer, H., De Vries, J., Mahn, A., Düring, K., Wackernagel, W., Smalla, K. and Berg, G. (2000):** Establishment of introduced antagonistic bacteria in the rhizosphere of transgenic potatoes and their effect on the bacterial community.  
Federation of European Microbiological Societies Ecology 33: 41-49.
- Lyew, D., Gariépy, Y., Raghavan, G. S. V. and Kushalappa, A. C. (2001):** Changes in volatile production during an infection of potatoes by *Erwinia carotovora*.  
Food Research International 34: 807-813.
- Mae, A., Heikinheimo, R. and Palva, T. (1995):** Structure and regulation of the *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora* SCC3193S cellulose gene *celV1* and the role of cellulose in phytopathogenicity.  
Molecular and General Genetics 247: 17-26.
- Maggio, A., De Pascale, S., Angelino, G., Ruggiero, C. and Barbieri, G. (2004):** Physiological response of tomato to saline irrigation in long-term salinized soils.  
European Journal of Agronomy 21: 149-159.
- Medina, L. F. C., Stefani, V. and Brandelli, A. (2004):** Use of 1,4-naphthoquinones for control of *Erwinia carotovora*.  
Canadian Journal of Microbiology 50: 951-956.
- Mills, A. A. S., Platt (Bud), H. W. and Hurta, R. A. R. (2006):** Sensitivity of *Erwinia* spp. to salt compounds *in vitro* and their effect on the development of soft rot in potato tubers in storage.  
Postharvest Biology and Technology 41: 208-214.
- Montesano, M. (2002):** Molecular characterization of plant defense responses to *Erwinia carotovora*.  
Academic Dissertation, University of Helsinki 60 p.
- Montesinos, E., Bonaterra, A., Badosa, E., Francés, J., Alemany, J., Llorente, I. and Moragrega, C. (2002):** Plant-microbe interactions and the new biotechnological methods of plant disease control.  
International Microbiology 5: 169-175.
- Muraschi, T. F., Friend, M. and Bolles, D. (1965):** *Erwinia*-Like microorganisms isolated from animal and human hosts.  
American Society for Microbiology 13: 128-131.
- Nassar, A., Bertheau, Y., Dervin, C., Narcy, J-P. and Lemattre, M. (1994):** Ribotyping of *Erwinia chrysanthemi* strains in relation to their pathogenic and geographic distribution.  
Applied and Environmental Microbiology 60: 3781-3789.
- Nayak, C. A., Suguna, K., Narasimhamurthy, K. and Rastogi, N. K. (2007):** Effect of gamma irradiation on histological and textural properties of carrot, potato and beetroot.  
Journal of Food Engineering 79: 765-770.
- Nechadi, S., Benddine, F., Moumen, A. and Kheddami, M. (2002):** Etat des maladies virales de la tomate et stratégie de lutte en Algérie.  
European and Mediterranean Plant Protection Organization bulletin 32: 21-24.

- Newman, M-A., Von Roepenack, E., Daniels, M. and Dow, M. (2000):** Lipopolysaccharides and plant responses to phytopathogenic bacteria. *Molecular Plant Pathology* 1: 25-31.
- O'Callaghan, M., Gerard, E. M., Waipara, N. W., Young, S. D., Glare, T. R., Barrell, P. J. and Conner, A. J. (2004):** Microbial communities of *Solanum tuberosum* and magainin-producing transgenic lines. *Plant and Soil* 266: 47-56.
- O'Hara, C. M., Steigerwalt, A. G., Hill, B. C., Michael, M. J. and Brenner, D. J. (1998):** First report of a human isolate of *Erwinia persicinus*. *Journal of Clinical Microbiology* 36: 248-250.
- O'Neill, R. and Logan, C. (1975):** A comparison of various selective isolation media for their efficiency in the diagnosis and enumeration of soft rot coliform bacteria. *Journal of Applied Bacteriology* 39: 139-146.
- Oliveira, A. M. R., Duarte, V., Silveira, J. R. P. and Moraes, M. G. (2003):** Incidence of pectolytic *Erwinias* associated with blackleg of potato in Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira* 28: 49-53.
- Pajeroska-Mukhtar, K. (2005):** Isolation and characterization of potato homologues of *Arabidopsis thaliana* genes operating in defense signal transduction. Thèse de doctorat, Köln, Pologne, 165 p.
- Patel, N. and Rajput, T. B. S. (2007):** Effect of drip tape placement depth and irrigation level on yield of potato. *Agricultural Water Management* 88: 209-223.
- Peralta, I. E., Knapp, S. and Spooner, D. M. (2005):** New species of wild tomatoes (*Solanum* Section *Lycopersicon*: Solanaceae) from northern Peru. *Systematic Botany* 30: 424-434.
- Pérombelon, M. C. M. (1992):** Diversity in *Erwinias* as plant pathogens. *Plant Pathogenic Bacteria*, Versailles (France), 9-12.
- Pérombelon, M. C. M. (2002):** Potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology* 5: 1-12.
- Pérombelon, M. C. M. and Kelman, A. (1980):** Ecology of the soft rot *Erwinias*. *Annual Review of Phytopathology* 18: 361-87.
- Philouze, J. (1996):** La tomate et son amélioration génétique. *in*: Technologie des légumes Tirilly, Y. et Bourgeois, C. M. Edition TEC & DEC 111-121.
- Pissavin, C., Robert-Baudouy, J. and Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. (1998):** Biochemical characterization of the pectate lyase PelZ of *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Biochimica et Biophysica Acta* 1383: 188-196.
- 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. Thèse PhD., Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, Rennes, France.

- Priou, S., Ani, K. and Jouan, B. (1992):** Comparaison of the effectiveness of two methods of screening potato to soft rot induced by *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*.  
*in*: Proceeding of the joint conference of the EAPR breeding and varietal assessment section and the EUCARPIA potato section, Landerneau, France, 139-140.
- Rabot, B., Pasco, C. and Schmidt, J. (1994):** Assessing six australian potato cultivars for resistance to *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*.  
Potato Research 37: 197-203.
- Radtke, W. et Rieckmann, W. (1991):** Maladies et ravageurs de la pomme de terre.  
Editions Th.Mann .Gelsenkirchen-Buer 169 p.
- Rousselle-Bourgeois, F and Priou, S. (1995):** Screening tuber-bearing *Solanum* spp. for resistance to soft rot caused by *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*.  
Potato Research 38: 11-118.
- Sahlin, E., Savagea, G. P. and Liste, C. E. (2004):** Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing.  
Journal of Food Composition and Analysis 17: 635-647.
- Samson, R., Legendre, J. B., Christen, R., Achouak, W. and Gardan, L. (2004):** Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Brenner *et al.* 1973) Hauben *et al.* 1998 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species: *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zaeae* sp. nov.  
International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 54: 1-13.
- Schober, B. M. and Zadoks, J. C. (1999):** Water and temperature relations of soft rot bacteria, growth and disease development.  
Annual Applied Biology 134: 59-64.
- Seo, S-T., Furuya, N., Takeshita, M. and Takanami, Y. (2002):** Differentiation of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *carotovora* by enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR.  
Journal of Faculty of Agriculture, Kyushu University 47: 1-6.
- Selmaoui, K., Benkirane, R. et Douira, A. (2004):** Production des enzymes pectinolytiques et cellulolytiques par un ensemble de champignons responsables des pourritures des pommes en conservation.  
Enzymologie et métabolisme Congrès international de Biochimie, Marrakech, Maroc 170-174.
- Sepulchre, J-A., Reverchon, S. and Nasser, W. (2006):** Modeling the onset of virulence in a pectinolytic bacterium.  
Journal of Theoretical Biology 244: 239-257.
- Sharga, B. M. and Lyon, G. D. (1998):** *Bacillus subtilis* BS 107 as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria.  
Canadian Journal of Microbiology 44: 777-783.
- Smadja, B., Latour, X., Trigui, S., Burini, J-F., Chevalier, S. and Orange, N. (2004):** Thermodependence of growth and enzymatic activities implicated in pathogenicity of two *Erwinia carotovora* subspecies (*Pectobacterium* spp).  
Canadian Journal of Microbiology 50: 19-27.

- Smith, C. and Bartz, J. A. (1990):** Variation in the pathogenicity and aggressiveness of strains of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* isolated from different hosts. *Plant Disease* 74: 505-509.
- Spire, D. et Rousselle, P. (1996):** Origine socio-historique. *in*: P. Rousselle, Robert, Y. et J.C. Crosnier (Eds), la pomme de terre : production, amélioration, ennemis et maladies, utilisation. Editions INRA-ITCF 607 p.
- Spencer, R. C. J. (2003):** Ozone as a post-harvest treatment for potatoes. Thesis for the degree of Master of Science, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada 152 p.
- Thomson, S. V., Hildebrand, D. C. and Schroth, M. N. (1981):** Identification and nutritional differentiation of the *Erwinia* sugar beet pathogen from members of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology* 71: 1037-1041.
- Tolan, J. S and Finn, R. K. (1987):** Fermentation of D-xylose and L-arabinose to ethanol by *Erwinia chrysanthemi*. *Applied and Environmental Microbiology* 53 : 2033-2038.
- Toor, R. K. and Savage, G. P. (2005):** Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International* 38: 487-494.
- Toth, I. K., Thorpe, C. J., Bentley, S. D., Mulholland, V., Hyman, L. J., Perombelon, M. C. and Salmond, G. P. (1999):** Mutation in a gene required for lipopolysaccharide and enterobacterial common antigen biosynthesis affects virulence in the plant pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12: 499-507.
- Toth, I. K., Bell, K. S., Holeva, M. C. and Birch, P. R. J. (2003):** Soft rot *Erwiniae*: From genes to genomes. *Molecular Plant Pathology* 4: 17-30.
- Touzé, T., Gouesbet, G., Boiangiu, C., Jebbar, M., Bonnassie, S. and Blanco, C. (2001):** Glycine betaine loses its osmoprotective activity in a bspA strain of *Erwinia chrysanthemi*. *Molecular Microbiology* 42: 87-99.
- Von Bodman, S. B., Bauer, W. D. and Coplin, D. L. (2003):** Quorum-sensing in plant-pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 41: 455-82.
- Van Dam, J., Kooman, P. L. and Struik, P. C. (1996):** Effects of temperature and photoperiod on early growth and final number of tubers in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Potato Research* 39: 51-62.
- Walton, J. D. (1997):** Biochemical Plant Pathology. *Plant Biochemistry* 487 p.
- Wang, S., Panter, K. E., Gaffield, W., Evans, R. C. and Bunch, T. D. (2005):** Effects of steroidal glycoalkaloids from potatoes (*Solanum tuberosum*) on *in vitro* bovine embryo development. *Animal Reproduction Science* 85: 243-250.

- Ward, L. J. and De Boer, S. H. (1994):** Specific detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* with a digoxigenin-labeled DNA probe. *Phytopathology* 84: 180-186.
- Wegener, C. B. and Olsen, O. (2004):** Heterologous pectate lyase isoenzymes are not different in their effects on soft rot resistance in transgenic potatoes. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 65: 59-66.
- Welch, M., Dutton, J. M., Glansdorp, F. G., Thomas, G. L., Smith, D. S., Coulthurst, S. J., Barnard, A. M. L., Salmond, G. P. C. and Spring, D. R. (2005):** Structure-activity relationships of *Erwinia carotovora* quorum sensing signaling molecules. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 15: 4235-4238.
- Winslow, C-E, A., Broadhurst, J., Buchanan, R. E., krumwiede Jr, C., Rogers, L. A. and 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: 505-566.
- Wolters, P.J and Collins, W.W. (1994):** Evaluation of diploid potato clones for resistance to tuber soft rot induced by strains of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *E. carotovora* subsp. *carotovora* and *E. chrysanthemi*. *Potato Research* 37: 143-149.
- Yaganza, E-S. (2005):** Utilisation post-récolte de sels organiques et inorganiques pour lutter contre la pourriture molle de la pomme de terre: base physico-chimique. Thèse Ph.D. Université Laval, Québec, Canada 188 p.
- Yaganza, E-S., Rioux, D., Simard, M., Arul, J. and Tweddell, R. J. (2004):** Ultrastructural alterations of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* caused by treatment with aluminum chloride and sodium metabisulfite. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 6800-6808.
- Yahiaoui-Zaidi, R. (2004):** Contribution à l'étude des *Erwinia* pectinolytiques isolées chez *Solanum tuberosum* L. en Algérie. Thèse Doctorat, Université de Sétif, Algérie 187 p.
- Yahiaoui-Zaidi, R., Jouan, B. and Andrivon, D. (2003):** Biochemical and molecular diversity among *Erwinia* isolates from potato in Algeria. *Plant Pathology* 52: 28-40.
- Yang, B. Y., Brand, J. M., Gray, J. S. S. and Montgomery, R. (2001):** Extracellular polysaccharides of modified strains of *Erwinia* spp. *Carbohydrate Research* 333: 295-302.
- Yap, M-N., Barak, J. D. and Charkowski, A. O. (2004):** Genomic diversity of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and its correlation with virulence. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 3013-3023.
- Young, J. M. and Park, D-C. (2007):** Relationships of plant pathogenic *Enterobacteria* based on partial *atpD*, *carA*, and *recA* as individual and concatenated nucleotide and peptide sequences. *Systematic and Applied Microbiology*, article *in press* 12 p.

**Zherebilo, O. E., Kucheryava, N., Gvozdyak, R. I., Ziegler, D., Scheibner, M. and Auling, G. (2001):** Diversity of polyamine patterns in soft rot pathogens and other plant-associated members of the *Enterobacteriaceae*.  
Systematic and Applied Microbiology 24: 54-62.

**Zimnoch-Guzowska, E., Lebecka, R. and Pietrak, J. (1999):** Soft rot and blackleg reactions in diploid potato hybrids inoculated with *Erwinia* spp.  
American Journal of Potato Research 76: 199-207.

## Annexes

## Annexe 1

Tableau 1 : Principaux pays producteurs de la pomme de terre (FAO, 2005)

Pays	Production en millions de tonnes
Chine	73,461.500
Fédération de Russie	37,279.820
Inde	25,000.000
Ukraine	19,462.400
USA	19,090.750
Allemagne	11,624.200
Pologne	10,369.000
Biélorussie	8,185.010
Pays-Bas	6,777.000
France	6,680.820
Royaume-Uni	5,815.400
Bengladesh	4,855.380
Canada	4,386.490
Iran	4,284.300
Turquie	4,170.000
Roumaine	3,738.590
Pérou	3,289.700
Brésil	3,128.490
Belgique	2,780.870
Japon	2,752.000

Tableau 2 : Symptômes et dégâts des principaux ravageurs et maladies de la pomme de terre (Radtke et Rieckmann, 1991 ; Chibane, 1999<sub>a</sub> ; Bell *et al.*, 2000)

Maladie	Micro-organisme	symptômes
<b>Maladies fongiques</b>		
Mildiou	<i>Phytophthora infestans</i>	Feuillage : apparition de taches jaunâtres qui brunissent rapidement. Un duvet fin, blanc grisâtre dissémine les spores. Les tiges attaquées noircissent, et la plante est détruite en quelques jours. Tubercule : taches diffuses brunâtres sur l'épiderme. La chair présente des zones à texture granuleuse de couleur brun-rouille, des pourritures secondaires s'installent par la suite.
Altérnariose	<i>Alternaria solani</i>	Feuillage : taches arrondies, brunes à noires, avec des cercles concentriques. Tubercule : plages brunes légèrement déprimées à la surface.
Oidium	<i>Erysiphe polyphaga</i>	Feuillage : jaunissement prématuré des feuilles suivi d'une nécrose, et formation de plages cotonneuses d'un mycélium blanc à gris-blanc.
Sclérotiniose	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Feuillage : destruction progressive des tissus, les tiges plient et se fanent et les pousses et les feuilles meurent.
Pourriture grise (moisissure grise)	<i>Botrytis cinerea</i>	Feuillage : taches brun-noir entourées d'un halo jaune avec un duvet caractéristique gris foncé ; Tubercule : dépression cannelée des tubercules.
Flétrissement fusarien	<i>Fusarium oxysporum</i>	Mêmes symptômes que la fusariose, seule une culture au laboratoire sur milieu artificiel permet un diagnostic sûr.
Verticilliose	<i>Verticillium spp</i>	Feuillage : flétrissement des folioles, plus tard la plante se fane, coloration brune du système vasculaire de la tige. Tubercule : tubercules de petite taille, flasques et ridés.
Dartrose	<i>Colletotrichum coccodes</i>	Feuillage : jaunissement, enroulement puis dessèchement des feuilles. Tubercule : consistance en caoutchouc des tubercules suivi de leur momification, ratatinement et pourrissement.
Rhizoctone	<i>Rhizoctonia solani</i>	Tige : apparition de plusieurs petits tubercules aériens de couleur violacée. Nécrose des racines et pourriture du collet. Tubercule : formation de sclérotés noirs de forme irrégulière, le péricarpe se trouvant au dessus des sclérotés n'est pas affecté.

Rhizoctone violet	<i>Rhizoctonia crocorum</i>	Tubercule : mycélium brun violet disposé en mailles de filet. Présence de sclérotés bruns à rougeâtres.
Fusariose	<i>Fusarium spp</i>	Feuillage : flétrissement des feuilles en gardant leur couleur verte, brunissement des vaisseaux conducteurs au niveau des tiges. Tubercule : taches brunes légèrement déprimées, souvent entourées par des rides concentriques, portant des coussinets blanchâtres.
Pourriture rose	<i>Phytophthora erythroseptica, Phytophthora erythroseptica</i>	Tubercule : taches brunâtres, lenticelles colorées en noir. Tubercules tendres et élastiques au toucher.
Pourriture aqueuse	<i>Phytium ultimum</i>	Tubercule : la peau est tendue, le tissu atteint est gris avec une odeur caractéristiques de hareng. Présence d'un mycélium blanc.
Galle verruqueuse	<i>Synchytrium endobioticum</i>	Tubercule : présence d'excroissances verruqueuses, crevassées et spongieuses, les tumeurs sont jaunâtres puis deviennent brun foncé.
Gale argentée	<i>Helminthosporium solani</i>	Tubercule : taches claires, argentées et irrégulière, déshydratation des tubercules et formation de conidiophores noirs sur les parties mortes.
Gale poudreuse	<i>Spongospora subterranea</i>	Tubercule : pustules jaune-blancs, la peau éclate en divers endroits.
<b>Maladies bactériennes</b>		
Gale commune	<i>Streptomyces scabies</i>	Tubercule : pustules à la surface et parfois en profondeur du tubercule.
Bactériose annulaire	<i>Corynebacterium sepedonicum</i>	Feuillage : flétrissement total des tiges et des feuilles sans jaunissement Tubercule : formation d'une zone vitreuse brune étroite.
Jambe noire et pourriture molle	<i>Pectobacterium spp.</i>	Tubercule : dépressions circulaires à partir desquelles la pourriture peut se répandre rapidement. Les tissus infectés sont humides et prennent une couleur allant du blanc au marron crème.
Pourriture brune	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	Tubercule : un liquide visqueux suinte à travers les yeux des tubercules fortement atteints. Une section transversale du tubercule montre la décoloration des faisceaux vasculaires.
Pourriture annulaire	<i>Clavibacter michiganensis ssp sepedonicus</i>	Tubercule : anneaux vasculaires brunis, décomposition de l'anneau vasculaire qui devient gris, jaunâtre, marron ou brun rougeâtre.
<b>Viroses</b>		
Virus de l'enroulement	PLRV	Feuillage : enroulement et jaunissement des feuilles qui prennent un port érigé ; Tubercule : Durcissement du tubercule mère.
Mosaïque (bigarrure)	Virus Y (PVY)	Feuillage : les feuilles deviennent cassantes, se plient et se dessèchent, la croissance de la plante est ralenti et le port est affaissé.
Virus A	PVA	Feuillage : plages plus claires et irrégulières entre les nervures, gaufrage des folioles.
Virus X	PVX	Feuillage : décoloration en forme de mosaïque légère entre les nervures.
Virus M	PVM	Feuillage : décoloration des nervures des folioles apicales, enroulement en cuillère des folioles et aplatissement de la pousse centrale
Virus S	PVS	Feuillage : éclaircissement des feuilles, faible enfoncement des nervures, légère rugosité et tendance de la pointe des feuilles.
<b>Ravageurs animaux</b>		
<b>Acariens</b>		
Acarien des racines	<i>Rhizoglyphus echinopus (R. robini)</i>	Tubercule : tubercules fendillés avec des couloirs remplis d'une farine granuleuse jaune-brun.
Tétranyque tisserand	<i>Tetranychus urticae</i>	Feuillage : taches jaunes puis brun-noir, dessèchement des feuilles atteintes le long des tiges.
<b>Pucerons</b>		
Puceron vert du pêcher	<i>Myzus persicae</i>	Déformation du limbe et écoulement de miellat sur les feuilles entravant ainsi l'assimilation.
Puceron du nerprun	<i>Aphis nasturtii</i>	Déformation des feuilles et écoulement du miellat.
Dryophore	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Larves et adultes rongent d'abord le long des folioles puis le limbe.
<b>lépidoptères</b>		
Teigne de la pomme de terre	<i>Phthorimaea operculella</i>	Feuillage : les larves vivent en mineuse au niveau des feuilles, surtout les plus basses et les plus larges. La plante flétrit et meurt. Tubercule : les larves creusent des galeries à l'intérieur des tubercules qui constituent des ports d'entrée pour d'autres contaminants.
<b>Nématodes</b>		
Nématode doré de la pomme de terre	<i>Globodera rostochiensis (Heterodera rostochiensis)</i>	Les premiers symptômes sont des retards de croissance et une végétation rabougrie. Feuillage : rapetissement des feuilles et des pousses et enroulement des folioles, les racines infectées présentent des nœuds ou des galles.
Nématode à kyste blanc de la pomme de terre	<i>Globodera pallida (Heterodera pallida)</i>	Tubercule : les tubercules présentent des galles et se déforment perdant ainsi leurs qualités commerciales.



Tableau 3 : Principaux pays producteurs de la tomate (FAO, 2005)

Pays	Production en millions de tonnes
Chine	31,644.040
USA	11,043.300
Turquie	9,700.000
Egypte	7,600.000
Inde	7,600.000
Italie	7,187.020
Espagne	4,651.000
Iran	4,200.000
Brésil	3,396.770
Mexique	2,800.120
Fédération de Russie	2,295.900
Grèce	1,713.580
Ukraine	1,471.800
Ouzbékistan	1,317.160
Chili	1,230.000
Maroc	1,205.510
Portugal	1,085.270
Tunisie	960.000
Syrie	945.500

Tableau 4 : Caractères généraux du genre *Erwinia* (Holt et al., 1994)

a) Caractères cultureux, physiologiques et biochimiques :

Micro-organisme															
	<i>E. amylovora</i>	<i>E. ananas</i>	<i>E. carotovora</i>	<i>E. chrysanthemi</i>	<i>E. cypripedii</i>	<i>E. herbicola</i>	<i>E. mallatovora</i>	<i>E. nigrifluens</i>	<i>E. quercina</i>	<i>E. rhapontici</i>	<i>E. rubrifaciens</i>	<i>E. salicis</i>	<i>E. stewartii</i>	<i>E. tracheiphila</i>	<i>E. uredoovora</i>
<b>Test</b>															
Mobilité	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Culture en anaérobiose	w	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	w	+	w	+
Besoins en facteurs de croissance	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-
Pigmentation rose diffusible	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Pigmentation bleue	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pigmentation jaune	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Colonies muqueuses	+	+	d	d	d	d	+	-	+	+	+	+	+	-	-
Croissance à 36°C	-	+	d	+	+	+	-	+	+	d	+	-	d	-	+
Production d'H <sub>2</sub> S	-	d	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-
Réduction du saccharose	+	+	d	-	-	d	+	-	+	d	-	+	d	d	+
Production d'acétoïne	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	d	+
Uréase	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Dégradation des pectates	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Oxydation du gluconate	-	-	-	-	+	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-
Gaz à partir du glucose	-	-	d	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hydrolyse de la caséine	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Culture dans du KCN	-	-	d	d	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Liquéfaction de la gélatine	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Phénylalanine désaminase	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indole	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Réduction des nitrates	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Croissance dans NaCl à 5%	nd	+	+	d	+	+	-	nd	nd	+	nd	nd	+	-	+
Désoxyribonucléase	-	-	-	-	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	+
Phosphatase	nd	nd	-	+	d	nd	nd	nd	nd	d	nd	nd	nd	nd	nd
Lécithinase	nd	nd	-	+	-	nd	-	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd

Tableau 4 (bis)

b) Production d'acides à partir de substrats organiques :

Micro-organisme \ Test	<i>E. amylovora</i>	<i>E. ananas</i>	<i>E. carotovora</i>	<i>E. chrysanthemi</i>	<i>E. cyripedii</i>	<i>E. herbicola</i>	<i>E. mallotivora</i>	<i>E. nigrifluens</i>	<i>E. quercina</i>	<i>E. rhapontici</i>	<i>E. rubrifaciens</i>	<i>E. salicis</i>	<i>E. stewartii</i>	<i>E. tracheiphila</i>	<i>E. uredovora</i>
Substrat organique															
Mélibiose	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+
Inositol	-	+	d	d	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
Raffinose	-	+	+	+	-	d	-	+	-	+	-	+	+	-	+
Inuline	-	d	-	d	-	+	-	-	-	+	-	-	d	-	+
Amidon	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Maltose	-	+	d	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
L-arabinose	d	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+
Sorbitol	d	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Mannose	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Mannitol	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Cellobiose	-	+	+	+	+	-	(+)	-	-	+	-	-	-	-	+
Lactose	-	+	+	d	-	d	-	-	-	+	-	-	+	-	+
Rhamnose	-	d	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+
Esculine	-	d	+	+	+	d	-	+	+	+	-	+	-	-	d
Salicine	-	+	+	+	+	d	-	+	+	+	-	+	-	-	d
Xylose	-	+	+	+	+	+	+	+	-	d	-	-	+	-	+
Tréhalose	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+
Dulcitol	-	-	-	-	-	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-
Glycérol	-	+	d	+	d	-	(+)	+	+	+	d	d	-	-	+
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Dextrine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Mélézitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	+
$\alpha$ -méthyl-D-glucoside	-	-	d	-	-	-	-	-	+	d	+	-	-	-	-

+ :  $\geq 80$  % des souches positives- :  $\geq 80$  % des souches négatives

d : entre 21 % et 79 % des souches positives

(+) : réaction positive retardée

w : faible

nd : not done (données non disponibles)

**Tableau 5 :** Identification biochimique et physiologique des *Erwinia pectinolytiques* (Hyman *et al*, 1998)

<i>Erwinia pectinolytiques</i>	<i>Ecc</i>	<i>Eca</i>	<i>Ecb</i>	<i>Eco</i>	<i>Ecw</i>	<i>Ech</i>	<i>Ecy</i>	<i>Erh</i>
<b>Test</b>								
Formation de cavités sur milieu CVP (27°C, 48h)	+	+	+	+	+	+	-	-
Croissance à 37°C	+	-	+	+	-	+	+	d
Croissance dans 5% de NaCl	+	+	nd	nd	nd	-	d	+
Sensibilité à l'érythromycine	-	-	-	nd	-	+	+	+
Production de substances réductrices du sucrose	-	+	+	+	-	-	-	d
<b>Production de :</b>								
Indole	-	-	-	-	-	+	-	-
Phosphatase	-	-	-	nd	-	+	d	d
<b>Production d'acides à partir de :</b>								
Lactose	+	+	d	+	+	-	-	+
Maltose	-	+	+	d	nd	-	+	+
$\alpha$ -methyl-D-glucoside	-	+	+	+	-	-	-	d
Tréhalose	+	+	+	nd	nd	-	nd	nd
Cellobiose	+	+	-	+	nd	d	+	+
Sorbitol	-	-	-	+	nd	-	+	+
Inuline	-	-	+	-	-	d	nd	nd
Raffinose	+	+	-	nd	-	+	nd	nd
Palatinose	-	+	+	+	nd	nd	nd	nd
Mélibiose	+	+	-	+	-	nd	nd	nd
D-arabitol	-	-	-	+	nd	nd	nd	nd
<b>Utilisation d'acides organiques :</b>								
Citrate	+	+	-	+	+	+	nd	nd
Malonate	-	-	-	-	nd	+	nd	nd

+ :  $\geq 80$  % des souches positives  
 - :  $\geq 80$  % des souches négatives  
 d : 21-79% des souches positives  
 nd : not done (données non disponibles)

**Tableau 6 :** Tests d'identification des biovars d'*Erwinia chrysanthemi* selon Ngwira et Samson en 1990 (Hélias, 1999)

Tests biochimiques	bv 1	bv 2	bv 3	bv 4	bv 5	bv 6	bv 7	bv 8	bv 9
Production d'acides à partir de :									
D (-) arabinose	-	+	+	+	-	-	-	+	-
Mélibiose	+	-	+	+	+	+	-	+	-
Raffinose	+	-	+	+	+	+	-	+	-
Mannitol	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Inuline	+	-	-	-	+	-	+	-	+
Dégradation de l'arginine	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D (-) tartrate	+	-	-	+	-	-	+	-	+
Croissance à 39°C	-	+	+	+	+	+	-	+	-

bv : biovar

## Annexe 2

La plupart des milieux de cultures sont stérilisés à l'autoclave, à une température de 120°C pendant 20 minutes.

### I) Milieux gélosés pour la culture et la conservation des *Erwinia pectinolytiques*

#### Milieu King B (pH 7,2)

Composition	Par litre
Peptone	20 g
Phosphate de K dibasique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	1,145 g
Sulfate de Mg (MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O)	1,5 g
Glycérol	15 ml
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

#### Milieu Gélose Nutritive (pH 7,2)

Composition	Par litre
Peptone	5 g
Extrait de levure	2 g
Extrait de bœuf	1 g
NaCl	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

#### Milieu LPA (Levure Peptone Agar) (pH 7,2)

Composition	Par litre
Peptone	5 g
Extrait de levure	3 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

#### Milieu LB (Luria Bertani) (pH 7,2)

Composition	Par litre
Tryptone	10 g
Extrait de levure	5 g
NaCl	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

#### Bouillon LP (Levure Peptone)

Composition	Par litre
Peptone	5 g
Extrait de levure	3 g
Eau distillée	1000 ml

## II) Milieux utilisés pour l'identification biochimique des *Erwinia* pectinolytiques

### II-1) Milieux pour la mise en évidence des *Erwinia* pectinolytiques

#### Milieu Hugh et Leifson (pH 6,8-7,0)

Composition	Par litre
Tryptone	2 g
Extrait de levure	1 g
NaCl	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,3 g
Bleu de bromothymol	0,03 g
Glucose	10 g
Agar	3 g
Eau distillée	1000 ml

#### Milieu de Sutton (pH 7,2)

Composition	Par litre
NaOH 1N	6 à 10 ml
CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O (10%)	6 à 21 ml
Bleu de bromothymol (0,5%)	6 ml
Extrait de levure	5 g
Polypectate de sodium	15 g
Eau distillée	1000 ml

#### Milieu PH (Pectine Hildebrand) (pH 8,4)

Composition	Par litre
Bleu de bromothymol	0,015 g
CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O (10%)	10 ml
Agar (4 %)	100 ml
Acide polygalacturonique	22 g
Eau distillée	1000 ml

#### Milieu CVP (Crystal Violet Pectate)

Composition	Par litre
<b>Mélange A</b>	
CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O (10%)	10,2 ml
Tryptone	1 g
Tri-sodium citrate	5 g
NaNO <sub>3</sub>	2 g
Crystal Violet (0,075%)	2ml
Agar	4 g
Eau distillée	500 ml
<b>Mélange B</b>	
NaOH (5M)	2 ml
Pectine	18 g
Eau distillée	500 ml

#### Milieu eau peptonée nitraté (pH 6,8-7,2)

Composition	Par litre
peptone	10 g
KNO <sub>3</sub>	1 g
Eau distillée	1000 ml

## Réactifs de révélation de l'activité nitrate réductase

Composition	Par litre
<b>Réactif A</b>	
Acide sulfanilique	8 g
Acide acétique	1000 ml
<b>Réactif B</b>	
Acide $\alpha$ -naphtylique	5 g
Acide acétique 5N	1000 ml

## Milieu d'hydrolyse de l'amidon (pH 7,0-7,4)

Composition	Par litre
<b>Solution de sels</b>	
FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,1 g
MnCl <sub>2</sub> , 4H <sub>2</sub> O	0,1 g
ZnSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,1 g
Eau distillée	100 ml
Conserver à 4°C	
<b>Solution 1</b>	
Amidon soluble	10 g
Eau distillée	500 ml
<b>Solution 2</b>	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	1 g
NaCl	1 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 g
CaCO <sub>3</sub>	2 g
Solution de sels	1 ml
Eau distillée	500 ml
Agar	20 g

## Solution Tampon Phosphate

Composition	Par litre
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 12H <sub>2</sub> O	2,7 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 2H <sub>2</sub> O	0,4 g
Eau distillée	1000 ml

II-2) Milieux pour la distinction entre les espèces *E. carotovora* et *E. chrysanthemi*

## Milieu Lécithinase

Composition	Par litre
Tryptone	10 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
NaCl	2 g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,1 g
Glucose	2 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

**Milieu Phosphatase (pH 7,0)**

Composition	Par litre
Peptone	10 g
Extrait de boeuf	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

**Milieu Urée-Indole**

Composition	Par litre
L-tryptophane	3 g
Urée	20 g
Hydrogénophosphate de potassium	1 g
DiHydrogénophosphate de potassium	1 g
NaCl	5 g
Alcool (95%)	10 ml
Rouge de phénol	25 mg
Eau distillée	1000 ml

**Milieu Indole**

Composition	Par litre
Tryptone	10 g
L-tryptophane	1 g
Eau distillée	1000 ml

**Réactif de Kovac**

Composition	Par litre
Paradiméthylamino-benzaldéhyde	50 g
Alcool isoamylique	750 ml
HCl concentré	250 ml

**II-3) Milieux pour la différenciation entre *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* et *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*****Milieu ALMT (Ayers Malonate Lactose L (-) Tryptophane) (pH 6,8)**

Composition	Par litre
<b>Milieu Ayers</b>	
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5 g
KCl	0,1 g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,1 g
Bleu de bromothymol (0,5%)	4 ml
Eau distillée	500 ml
<b>Milieu MLT</b>	
Lactose	5 g
Malonate de sodium	3 g
L (-) tryptophane	1 g
Bleu de bromothymol (0,5%)	8 ml
Eau distillée	500 ml

**Réactif de Benedict**

<b>Composition</b>	<b>Par litre</b>
Citrate de Na ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	173 g
Carbonate de Na ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )	85.5 g
Sulfate de Cu ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	17,3 g
Eau distillée	1000 ml

**Milieu  $\alpha$ -méthyl-D-glucoside (pH 7,0-7,2)**

<b>Composition</b>	<b>Par litre</b>
Peptone	10 g
NaCl	5 g
$\alpha$ -méthyl-D-glucoside	10 g
Bleu de bromothymol (0,5%)	6 ml
Eau distillée	1000 ml

**Bouillon transformation du sucrose en substances réductrices (pH 7,0)**

<b>Composition</b>	<b>Par litre</b>
Sucrose	40 g
Peptone	10 g
Extrait de bœuf	5 g
Eau distillée	1000 ml

**Milieu Inuline**

<b>Composition</b>	<b>Par litre</b>
Tryptone	1 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2 g
Extrait de levure	0,5 g
Rouge de phénol	0,18 g
Inuline	3 g
Eau distillée	1000 ml

**Milieu Arginine (pH 7,1)**

<b>Composition</b>	<b>Par litre</b>
Peptone	1 g
NaCl	5 g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,3 g
Agar	3 g
Rouge de phénol (0,1%)	10 ml
L-Arginine	10 g
Eau distillée	1000 ml

**Milieu Logan**

<b>Composition</b>	<b>Par litre</b>
Agar nutritif	28 g
Extrait de levure	5 g
Glucose	5 g
Eau distillée	1000 ml



## Annexe 3

Tableau 7 : Mesure des poids de pourritures des demi-tubercules de pomme de terre

variété souche	Désirée	Diamant	Timate	Kondor
<i>Eca 100T</i>	2,18 ± 0,09 <sup>a</sup>	2,14 ± 0,20 <sup>a</sup>	2,49 ± 0,42 <sup>a</sup>	2,74 ± 0,39 <sup>a</sup>
<i>Ecc 98.1</i>	1,20 ± 0,06 <sup>e</sup>	1,31 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,40 ± 0,03 <sup>cd</sup>	1,51 ± 0,07 <sup>cd</sup>
<i>Ech 99.21</i>	1,51 ± 0,09 <sup>b</sup>	1,99 ± 0,26 <sup>a</sup>	1,30 ± 0,07 <sup>cde</sup>	1,58 ± 0,13 <sup>c</sup>
1	1,13 ± 0,02 <sup>e</sup>	1,14 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,13 ± 0,02 <sup>e</sup>	1,21 ± 0,02 <sup>e</sup>
2	2,04 ± 0,16 <sup>ab</sup>	2,04 ± 0,23 <sup>a</sup>	2,11 ± 0,23 <sup>b</sup>	2,08 ± 0,20 <sup>b</sup>
3	1,18 ± 0,02 <sup>e</sup>	1,12 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,15 ± 0,04 <sup>de</sup>	1,16 ± 0,03 <sup>e</sup>
4	1,16 ± 0,02 <sup>e</sup>	1,11 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,18 ± 0,03 <sup>de</sup>	1,13 ± 0,03 <sup>e</sup>
6	1,33 ± 0,09 <sup>d</sup>	1,23 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,36 ± 0,05 <sup>cde</sup>	1,35 ± 0,03 <sup>de</sup>
8	1,41 ± 0,04 <sup>cd</sup>	1,47 ± 0,10 <sup>b</sup>	1,55 ± 0,05 <sup>c</sup>	1,68 ± 0,11 <sup>c</sup>
9	2,18 ± 0,09 <sup>a</sup>	2,15 ± 0,31 <sup>a</sup>	2,43 ± 0,47 <sup>a</sup>	2,78 ± 0,37 <sup>a</sup>
11	2,08 ± 0,13 <sup>a</sup>	1,47 ± 0,22 <sup>b</sup>	2,16 ± 0,19 <sup>b</sup>	2,18 ± 0,18 <sup>b</sup>
12	1,12 ± 0,02 <sup>e</sup>	1,16 ± 0,04 <sup>c</sup>	1,23 ± 0,03 <sup>de</sup>	1,12 ± 0,03 <sup>e</sup>

Les lettres différentes représentent des résultats différents (p<0,05).

Tableau 8 : Mesure des volumes de pourritures des demi-tubercules de pomme de terre

variété souche	Désirée	Diamant	Timate	Kondor
<i>Eca 100T</i>	2,46 ± 0,33 <sup>a</sup>	2,26 ± 0,32 <sup>a</sup>	2,64 ± 0,46 <sup>a</sup>	2,79 ± 0,49 <sup>a</sup>
<i>Ecc 98.1</i>	1,27 ± 0,09 <sup>def</sup>	1,33 ± 0,05 <sup>cde</sup>	1,47 ± 0,06 <sup>de</sup>	1,52 ± 0,09 <sup>cd</sup>
<i>Ech 99.21</i>	1,50 ± 0,12 <sup>c</sup>	1,99 ± 0,24 <sup>b</sup>	1,38 ± 0,03 <sup>def</sup>	1,67 ± 0,15 <sup>c</sup>
1	1,14 ± 0,03 <sup>f</sup>	1,15 ± 0,03 <sup>e</sup>	1,15 ± 0,02 <sup>f</sup>	1,23 ± 0,04 <sup>de</sup>
2	2,13 ± 0,28 <sup>b</sup>	2,06 ± 0,36 <sup>ab</sup>	2,08 ± 0,30 <sup>c</sup>	2,16 ± 0,25 <sup>b</sup>
3	1,20 ± 0,02 <sup>ef</sup>	1,13 ± 0,02 <sup>e</sup>	1,18 ± 0,03 <sup>ef</sup>	1,18 ± 0,04 <sup>e</sup>
4	1,18 ± 0,02 <sup>ef</sup>	1,12 ± 0,03 <sup>e</sup>	1,23 ± 0,04 <sup>ef</sup>	1,15 ± 0,02 <sup>e</sup>
6	1,37 ± 0,09 <sup>cde</sup>	1,28 ± 0,04 <sup>de</sup>	1,45 ± 0,04 <sup>de</sup>	1,40 ± 0,02 <sup>cde</sup>
8	1,44 ± 0,05 <sup>cd</sup>	1,49 ± 0,14 <sup>cd</sup>	1,53 ± 0,08 <sup>d</sup>	1,65 ± 0,1 <sup>c</sup>
9	2,59 ± 0,21 <sup>a</sup>	2,08 ± 0,35 <sup>ab</sup>	2,45 ± 0,57 <sup>ab</sup>	2,82 ± 0,52 <sup>a</sup>
11	2,18 ± 0,13 <sup>ab</sup>	1,54 ± 0,17 <sup>c</sup>	2,15 ± 0,17 <sup>bc</sup>	2,14 ± 0,25 <sup>b</sup>
12	1,13 ± 0,02 <sup>f</sup>	1,18 ± 0,04 <sup>e</sup>	1,25 ± 0,03 <sup>def</sup>	1,11 ± 0,06 <sup>e</sup>

Les lettres différentes représentent des résultats différents (p<0,05).

Tableau 9 : Effet global des souches sur les poids et les volumes de pourriture des quatre cultivars de pomme de terre

Mesure Cultivar	Poids	Volume
Désirée	1,63 ± 0,55 <sup>a</sup>	1,54 ± 0,44 <sup>a</sup>
Diamant	1,55 ± 0,45 <sup>a</sup>	1,53 ± 0,44 <sup>a</sup>
Timate	1,66 ± 0,55 <sup>a</sup>	1,62 ± 0,54 <sup>a</sup>
Kondor	1,74 ± 0,63 <sup>a</sup>	1,71 ± 0,61 <sup>a</sup>

**Tableau 10** : Effet des différentes souches d'*Erwinia* pectinolytiques sur les poids et les volumes de pourriture des quatre cultivars de pomme de terre

Mesure Souche	Poids	Volume
<i>Eca 100T</i>	2,54 ± 0,43 <sup>a</sup>	2,37 ± 0,38 <sup>a</sup>
<i>Ecc 98.1</i>	1,40 ± 0,12 <sup>d</sup>	1,35 ± 0,12 <sup>d</sup>
<i>Ech 99.21</i>	1,63 ± 0,27 <sup>c</sup>	1,60 ± 0,29 <sup>c</sup>
<b>1</b>	1,17 ± 0,05 <sup>e</sup>	1,15 ± 0,04 <sup>e</sup>
<b>2</b>	2,11 ± 0,28 <sup>b</sup>	2,07 ± 0,19 <sup>b</sup>
<b>3</b>	1,17 ± 0,04 <sup>e</sup>	1,15 ± 0,03 <sup>e</sup>
<b>4</b>	1,17 ± 0,05 <sup>e</sup>	1,14 ± 0,04 <sup>e</sup>
<b>6</b>	1,37 ± 0,08 <sup>d</sup>	1,32 ± 0,07 <sup>d</sup>
<b>8</b>	1,52 ± 0,12 <sup>cd</sup>	1,53 ± 0,13 <sup>c</sup>
<b>9</b>	2,48 ± 0,48 <sup>a</sup>	2,38 ± 0,40 <sup>a</sup>
<b>11</b>	2,00 ± 0,32 <sup>b</sup>	1,97 ± 0,34 <sup>b</sup>
<b>12</b>	1,17 ± 0,07 <sup>e</sup>	1,16 ± 0,05 <sup>e</sup>

Les lettres différentes représentent des résultats différents ( $p < 0,05$ ).

## Annexes

**Tableau 11 : Poids des pourritures des différentes souches sur les quatre cultivars de pomme de terre**

variété souche	<i>Eca 100T</i>	<i>Ecc 98.1</i>	<i>Ech 99.21</i>	1	2	3	4	6	8	9	11	12
<b>Désirée</b>	2,46 ± 0,33 <sup>a</sup>	1,27 ± 0,09 <sup>b</sup>	1,50 ± 0,12 <sup>bc</sup>	1,14 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,13 ± 0,28 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,37 ± 0,09 <sup>b</sup>	1,44 ± 0,05 <sup>b</sup>	2,59 ± 0,21 <sup>ab</sup>	2,18 ± 0,13 <sup>a</sup>	1,13 ± 0,02 <sup>bc</sup>
<b>Diamant</b>	2,26 ± 0,32 <sup>a</sup>	1,33 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,99 ± 0,24 <sup>a</sup>	1,15 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,06 ± 0,36 <sup>a</sup>	1,13 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,12 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,28 ± 0,04 <sup>c</sup>	1,49 ± 0,14 <sup>b</sup>	2,08 ± 0,35 <sup>b</sup>	1,54 ± 0,17 <sup>b</sup>	1,18 ± 0,04 <sup>b</sup>
<b>Timate</b>	2,64 ± 0,46 <sup>a</sup>	1,47 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,38 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,15 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,08 ± 0,30 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,23 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,45 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,53 ± 0,08 <sup>ab</sup>	2,45 ± 0,57 <sup>ab</sup>	2,15 ± 0,17 <sup>a</sup>	1,25 ± 0,03 <sup>a</sup>
<b>Kondor</b>	2,79 ± 0,49 <sup>a</sup>	1,52 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,67 ± 0,15 <sup>b</sup>	1,23 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,16 ± 0,25 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,15 ± 0,02 <sup>bc</sup>	1,40 ± 0,02 <sup>ab</sup>	1,65 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,82 ± 0,52 <sup>a</sup>	2,14 ± 0,25 <sup>a</sup>	1,11 ± 0,06 <sup>c</sup>

Les lettres différentes représentent des résultats différents (p<0,05).

**Tableau 12 : Volumes des pourritures des différentes souches sur les quatre cultivars de pomme de terre**

variété souche	<i>Eca 100T</i>	<i>Ecc 98.1</i>	<i>Ech 99.21</i>	1	2	3	4	6	8	9	11	12
<b>Désirée</b>	2,18 ± 0,09 <sup>b</sup>	1,20 ± 0,06 <sup>d</sup>	1,51 ± 0,09 <sup>bc</sup>	1,13 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,04 ± 0,16 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,16 ± 0,02 <sup>ab</sup>	1,33 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,41 ± 0,04 <sup>c</sup>	2,18 ± 0,09 <sup>b</sup>	2,08 ± 0,13 <sup>a</sup>	1,12 ± 0,02 <sup>c</sup>
<b>Diamant</b>	2,14 ± 0,20 <sup>b</sup>	1,31 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,99 ± 0,26 <sup>a</sup>	1,14 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,04 ± 0,23 <sup>a</sup>	1,12 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,11 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,23 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,47 ± 0,10 <sup>bc</sup>	2,15 ± 0,31 <sup>b</sup>	1,47 ± 0,22 <sup>b</sup>	1,16 ± 0,04 <sup>b</sup>
<b>Timate</b>	2,49 ± 0,42 <sup>ab</sup>	1,40 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,30 ± 0,07 <sup>c</sup>	1,13 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,11 ± 0,23 <sup>a</sup>	1,15 ± 0,04 <sup>ab</sup>	1,18 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,36 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,55 ± 0,05 <sup>b</sup>	2,43 ± 0,47 <sup>ab</sup>	2,16 ± 0,19 <sup>a</sup>	1,23 ± 0,03 <sup>a</sup>
<b>Kondor</b>	2,74 ± 0,39 <sup>a</sup>	1,51 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,58 ± 0,13 <sup>b</sup>	1,21 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,08 ± 0,20 <sup>a</sup>	1,16 ± 0,03 <sup>ab</sup>	1,13 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,35 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,68 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,78 ± 0,37 <sup>a</sup>	2,18 ± 0,18 <sup>a</sup>	1,12 ± 0,03 <sup>c</sup>

Les lettres différentes représentent des résultats différents (p<0,05).

## Résumé

Les *Erwinia* pectinolytiques (*Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* et *Erwinia chrysanthemi*) sont responsables des maladies de la jambe noire au champ et de la pourriture molle en conservation, qui provoquent des dégâts substantiels aux cultures de pomme de terre. Face à l'absence de moyens de lutte efficaces contre ces maladies, il devient impératif de développer et de mettre au point des méthodes et des procédés de diagnostic et d'identification de ces pathogènes. Après isolement et identification de souches locales sur pommes de terre et tomates, 12 souches ont été identifiées comme étant des *Erwinia* pectinolytiques, dont 7 appartiennent à la sous-espèce *carotovora*, 3 à *atroseptica* et enfin 2 souches affiliées à *Erwinia chrysanthemi*. 10 souches sont isolées à partir des pommes de terre (variétés Diamant et Désirée), alors que 2 souches seulement sont sélectionnées à partir de la tomate. Ces résultats confirment la grande incidence des *Pectobacterium* sur pomme de terre par rapport aux autres hôtes. Les tests de pathogénicité réalisés sur demi-tubercules de pomme de terre, tomates et feuilles de tabac ont montré une différence dans la réponse de ces pathogènes vis-à-vis de ces différents hôtes. La sous-espèce *atroseptica* s'avère être la plus virulente sur pomme de terre, tandis que les *Ecc* sont moins virulents et montrent une grande variabilité. Les souches d'*Ech* présentent une virulence modérée. Par ailleurs, en se basant sur le volume et le poids des tissus pourris, les quatre cultivars de pomme de terre présentent des niveaux de sensibilité très proches. Les variétés Diamant puis Désirée sont les plus résistantes à la pourriture molle, tandis que Timate et Kondor sont les plus sensibles.

**Mots clefs :** *Erwinia* pectinolytiques, pourriture molle, pommes de terre, identification biochimique

## Abstract

The pectinolytic *Erwinia* (*Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*) are responsible of blackleg and soft rot diseases in field and storage respectively, which cause substantial damages on the potato crops. Facing of the absence of effective means of fight against these diseases, it becomes imperative to develop new methods and processes of diagnosis and identification of these pathogenic bacteria. After isolation and identification of local strains of pectinolytic *Erwinia* (*Pectobacterium*) from potatoes and tomatoes, 12 strains were identified as pectinolytic *Erwinia*, from which 7 belong to the subspecies *carotovora*, 3 to *atroseptica* and finally 2 strains are affiliated to *Erwinia chrysanthemi*. 10 strains are isolated from potatoes (Diamant and Désirée varieties), whereas only 2 strains are selected from tomato. These results confirm the great incidence of *Pectobacterium* on potato compared to other hosts. Pathogenicity tests realized on potato half-tubers, tomato and tobacco leaves showed a difference in the response of these pathogenic bacteria towards these various hosts. The subspecies *atroseptica* proves to be most virulent on potato, while *Ecc* is less virulent and show a great variability. *Ech* strains show a moderately virulence. In addition, basing on the volume and the weight of the rotted tissues, the four potato cultivars same very closes levels of sensivity. Diamant then Désirée varieties are the most resistant to soft rot, while Timate and Kondor are the more sensitives.

**Key words :** pectinolytic *Erwinia*, soft rot, potatoes, biochemical identification

## ملخص

البكتيريا المفككة للبكتين (*Erwinia chrysanthemi* و *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* و *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*) هي المسؤولة عن أمراض الساق السوداء في الحقل و العفن الطري عند التخزين والتي تلحق أضراراً بليغة في محاصيل البطاطس. مع غياب وسائل فعالة لمكافحة هذه الأمراض، يصبح من الضروري وضع أساليب وعمليات تشخيص وتحديد هذه البكتيريا المضرة. بعد عزل وتوصيف سلالات محلية من حبات البطاطس و الطماطم، 12 عينة اعتبرت من جنس *Erwinia* المسببة لأمراض العفن الطري والساق السوداء. من بينها 7 ينتمون إلى فرع *carotovora*، 3 إلى *atroseptica* و أخيراً سلالتين تابعتين إلى *Erwinia chrysanthemi*. 10 سلالات عزلت من البطاطس (أصناف Diamant و Désirée)، بينما لم يتم عزل سوى سلالتين من الطماطم. هذه النتائج تؤكد الإنتشار الواسع لجنس *Pectobacterium* عند البطاطس مقارنة بالنباتات الأخرى. تجارب القدرة الإمرضية على أصناف الدرناات للبطاطس، حبات الطماطم و أوراق التبغ أظهرت اختلافاً ملحوظاً فيما يخص تأثير هذه البكتيريا على مختلف النباتات. *E. c. atroseptica* تعتبر الأكثر شراسة و إمرضية، بينما تكون *E. c. carotovora* الأقل إمرضية و بالموازاة فهي تظهر تنوع كبير. أما عزلات *E. chrysanthemi* فهي تظهر إمرضية معتدلة و بالإضافة إلى ذلك، بناء على أوزان و مقادير الأنسجة المتعفة، أظهرت أصناف البطاطس الأربعة مستويات حساسية جد متقاربة. الأصناف الأكثر مقاومة لمرض العفن الطري هي Diamant ثم تليها Désirée، أما الأصناف الأكثر حساسية فهي Timate وبعدها Kondor.

**مفتاح الكلمات :** *Erwinia* المفككة للبكتين، العفن الطري، البطاطس، تحديد بيوكيميائي.