



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Djilali Bounaama de Khemis-Miliana

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre

Département Des Sciences Agronomiques

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Production Végétale

Thème :

*Étude de la résistance variétale de la pomme de terre
envers les bactéries pectinolytiques*

Présenté par :

M^{elle} : DAOUDINesrine

M^{elle} : MEKAKI Siham

Examiné par le jury composé de:

Président : Mr KELKOULI.M

MAA

UDBKM

Promoteur : Mr MAROK .M.A

MCB

UDBKM

Examinatrice : Mme AFKIR.K

MAA

UDBKM

Année Universitaire : 2019-2020

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail

Nous tenons à remercier sincèrement et profondément notre encadreur MR MAROK pour la qualité de son encadrement, sa disponibilité, ses conseils et ses recommandations ainsi que pour toute l'aide qu'il nous a fourni

Nous exprimons également notre profond respect aux membres du jury Monsieur KALKOULI et madame

AFKIR pour avoir accepté de juger et d'évaluer ce modeste effort

l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant le cycle d'étude sans oublier

Enfin, on est profondément reconnaissantes à toute personne qui nous a aidés de près ou de loin, durant ce passage.

Merci 

Dédicace

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie
que je dédie ce travail à :*

A mon père avec tous mes sentiments de respect et d'amour.

A ma mère ma source de bonheur et la prunelle de mes yeux

A Mes très chères sœurs : Halima- Sara -Meriem

Ainsi qu'à toute les familles Daoudi et louazani

Un salut spécial à mon oncle Khaled et a sa femme

A mes amis : Siham -Mebarka -Latifa -Naima -Nawal- Amina

*Toutes mes salutations à tous mes collègues de la promotion master
production végétale pour les sympathiques moments que nous avons
passés ensembles*

Nesrine



Dédicace

*JE dédie ce modeste travail à :
Ma très chère et douce mère et mon père qui m'ont toujours
encouragées de poursuivre mes études malgré les difficultés que j'ai
rencontrées, que Dieu les gardes en bonne santé.*

Avant tous, je dédie à :

Mon cher binôme : Nesrine

A mes très chers frères

A mes très chers amis

Sans oublier tous mes amis surtout : Mebarka –Latifa -Naima –hiba

A toutes les familles Mekaki.

Siham



Résumé

Les bactéries pectinolytiques appartenant aux genres *Pectobacterium* et *Dickeya*, sont responsables des maladies de la jambe noire et de la pourriture molle sur la pomme de terre respectivement lors de la culture et du stockage des tubercules, ce qui provoque des dégâts importants et des pertes économiques considérables. Notre travail consiste à réaliser une étude *in vivo* en testant les souches des bactéries pectinolytiques sur différentes variétés de pomme de terre afin d'étudier la résistance variétale de pomme de terre envers certains agents bactériens pectinolytiques et aussi pour l'évaluation l'agressivité de ces souches bactériennes. D'autre part, faire une analyse bibliographique de trois articles portant sur le même axe de notre étude. La comparaison des objectifs et des résultats de ces articles permet en premier lieu de mieux comprendre les mécanismes de pathogénicité de *Pectobacterium* et *Dickeya* sur la pomme de terre, puis de bien connaître la résistance variétale de pomme de terre face à ces agents pectinolytiques.

Mots clés : *Pectobacterium ssp*, *Dickeya sp*, pomme de terre, pourriture molle, jambe noire.

Abstract

Pectinolytic bacteria belonging to the genera *Pectobacterium* and *Dickeya*, are responsible for blackleg and soft rot diseases on potatoes during cultivation and storage of tubers respectively, causing severe damage and considerable economic losses. Our work consists of carrying out an *in vivo* study by testing strains of pectinolytic bacteria on different potato varieties in order to study the varietal resistance of potatoes to pectinolytic bacterial agents and also to evaluate the aggressiveness of these bacterial strains. On the other hand, to make a bibliographical analysis of three articles dealing with the same axis of our study. Comparison of the objectives and results of these articles will allow us to better understand the pathogenicity mechanisms of *Pectobacterium* and *Dickeya* on potatoes, and to gain a good understanding of the varietal resistance of potatoes to these pectinolytic agents.

Key words : *Pectobacterium ssp*, *Dickeya sp*, potato, soft rot, blackleg.

ملخص

البكتيريا المحللة للبكتين، التي تنتمي إلى الأجناس *Dickeya* و *Pectobacterium* هي المسؤولة عن أمراض الساق السوداء والعفن الطري على البطاطس أثناء زراعة وتخزين الدرناات، مما يتسبب في أضرار جسيمة وخسائر اقتصادية. يتمثل عملنا في إجراء دراسة في الجسم الحي عن طريق اختبار سلالات البكتيريا المحللة للبكتين على أنواع مختلفة من البطاطس من أجل دراسة المقاومة المتنوعة للبطاطس تجاه البكتينولتيك البكتيري وأيضاً تجاه السلالات البكتيرية. من ناحية أخرى، قمنا بإجراء تحليل ببليوغرافي لثلاث مقالات على نفس محور دراستنا. تسمح مقارنة أهداف ونتائج هذه المقالات، جزئياً، بفهم آلية إمراضية بكتوباكثيريوم وديكيا على البطاطس بشكل أفضل، ومن ناحية أخرى لفهم المقاومة المتنوعة للبطاطا لهذه العوامل المحللة للبكتين بشكل أفضل.

الكلمات المفتاحية: بكتوباكثيريوم، ديكيا، بطاطس، تعفن ناعم، الساق السوداء

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralité sur la pomme de terre

I-1 Historique et Origine	3
I-2- Taxonomie	3
I-3 Description morphologique	4
I -3-1 partie aérienne	4
I -3-2 Partie souterraine	5
I -3-2-1 Structure de tubercule de pomme de terre	6
I-4 Cycle de reproduction	10
I-4-1 Cycle sexué	10
I-4-2 cycle végétatif	11
I-4 -2-1 La dormance	12
I-4-2-2 La germination	12
I-4-2-3 La croissance	12
I-4-2-4 La tubérisation	12
I-4-2-5 La maturation des tubercules	13
I-5 Principales variétés cultivées en Algérie	13
I-6 Production de pomme de terre	14
I-6 -1 Importance mondiale.....	14
I-6 -2 En Algérie.....	15
I-6 -3 An Ain Defla.....	16

chapitre II : Généralité sur les bactéries pectinolytiques

II-1 Définition	18
II-2 Description des <i>Erwinia</i> pectinolytiques	18
II-3 Taxonomie	18
II-4 Les différentes espèces pectinolytiques	19
II-4-1 <i>Pectobacterium carotovorum</i>	19
II-4-1-1 <i>Pectobacterium carotovorum</i> ssp. <i>atrosepticum</i>	20
II-4-1-2 <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>Carotovorum</i>	20
II-4-1-3 <i>Pectobacterium carotovora</i> ssp. <i>betavascularum</i>	21
II-4-2 <i>Dickeya</i> sp.....	21
II-5 Répartition géographique des pathogènes	21
II-6 Les facteurs de développement et dissémination.....	22
II-6-1 Les conditions environnementales favorable	22
II-6-1-1 Température	22
II-6-1-2 Humidité	22

II-6-1-3 L'anaérobiose	22
II-6-2 Source d'inoculum et facteurs de contamination.....	22
II-6-2-1 Rôle de tubercule mère.....	22
II-6-2-2 Rôle de sol	23
II-6-2-3 Rôle de l'eau	23
II-6-2-4 Rôle de l'air	23
II-6-2-5 Transmission par le matériel et les pratiques agricoles	23
III-Maladies de pommes de terre liées aux espèces pectinolytiques.....	24
III-1 Pourriture molle	24
III-2 Jambe noire.....	24
III-3 Cycle de développement de la pourriture moelle bactérienne	26
III-4 Les Symptômes	27
III-4-1 Symptômes sur les parties aériennes.....	27
III-5-2 Symptômes sur les tubercules	28
III-5 Méthodes de control	28
5-1 Pratiques culturelles et sanitaires.....	28
5-2 Lutte chimiques	29
5-3 Lutte biologique.....	29

Analyse d'article

Article I-Présence de bactéries pectinolytiques causant la jambe noire et la pourriture molle de la pomme de terre au Kenya	31
I-1 Résumé	31
I-2 Méthodes	31
I-3 Résultats	33
I-4 Conclusion.....	38
Article II Sensibilité de la pomme de terre aux pourritures de tiges provoquées par <i>Dickeya</i> spp.	39
II-1 Résumé.....	39
II-2 Méthodes	39
II-3 Résultats	40
II-4 Discussion	43
II-5 Conclusion	44
Article III-Pomme de terre: l'Empire <i>Pectobacterium</i> contre-attaque	46
III-1 Résumé	46
III-2 Matériels et méthodes	46
III-3 Résultats et discussion.....	49
III-4 Conclusion	53

Conclusion

Liste des références

Liste des abréviations :

CNCC : centre national de contrôle et de certification des semences et Plants

DSA : Direction des Services Agricoles

FAO : Food and Agriculture Organisation

Pa: *Pectobacterium atrosepticum*

Pc: *Pectobacterium carotovorum*

Pa: *Pectobacterium atrosepticum*

Pcb: *Pectobacterium carotovora ssp. Betavasculorum*

Pba: *Pectobacterium carotovora ssp. Atroseptica*

Pcc : *Pectobacterium carotovora ssp. Carotovora*

RT-PCR : Réverse transcription -Polymérase Chain réaction

qtx : Quintaux

Ssp : Sous-espèce

Liste des figures

Figure 01: les caractéristiques morphologiques de la pomme de terre.....	06
Figure 02 : Principaux organes extérieurs du tubercule de pomme de terre.....	07
Figure 03 : Coupe longitudinale d'un tubercule de pomme de terre	08
Figure 04 : Représentation graphique de la composition biochimique moyenne d'un tubercule de pomme de terre (<i>Solanum tuberosum L</i>).....	09
Figure 05 : Les différentes méthodes de multiplication de la pomme de terre.....	10
Figure 06 : cycle de pomme de terre par reproduction sexué.....	11
Figure 07: schéma de développent des tubercules de pomme de terre.....	13
Figure 08 : Symptômes de macération induits par <i>Pectobacterium atrosepticum</i> sur demi-tubercules.....	20
Figure 09 : symptômes typiques de <i>Pectobacterium carotovorum ssp carotovorum</i> sur Tubercules de pomme de terre.....	21
Figure10 : Symptômes des maladies de pourriture molle et jambe noire.....	25
Figure11 : cycle de développement de pourriture molle.....	26
Figure12 : Symptôme de jambe noire	27
Figure 13 : Symptômes de la jambe noire sur les tiges des plants de pommes de terre dans les champs	34
Figure 14 : Symptômes de pourriture molle les tubercules dans les champs de pommes de terre.....	34
Figure 15 : Amplification par PCR de <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>Wasabiae</i>	35
Figure 16 : Essais en pot.....	37
Figure 17 : Trancher les essais de pourriture.....	38

Figure 18 : Evolution du pourcentage de tiges présentant des symptômes de pourritures aériennes dans les essais A1 et A 2 d 'étude de la sensibilité des variétés à <i>Dickeya</i> spp.....	41
Figure 19 : pourcentage maximum de tiges infectées par variété	42
Figure 20 : Essai B1et B2 : évolution du pourcentage de tiges présentent des symptômes de pourritures aériennes dues aux différents isolats testés.....	42
Figure 21 : Pourcentage maximum de tiges infectées par isolat (moyennes des essais B1 et B2)	43
Figure 22 : colonies de <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp . <i>brasiliense</i> creusant sur milieu CVP.....	47
Figure 23 :Gel d'électrophorèse de trois PCR amplifiant spécifiquement <i>P. wasabiae</i> (100 bp), <i>P. c.</i> subsp. <i>brasiliense</i> (377 bp) <i>P. atrosepticum</i> (400 bp).....	48
Figure 24 : Arbre phylogénique de ressemblance maximale obtenu par la méthode de neighbor joining des parties de séquences de sept gènes constitutifs de différentes souches de <i>Pectobacterium</i> sp. et <i>Dickeya</i> sp.....	49
Figure 25 : Expérience en chambre de culture.....	51
Figure 26 : Inoculation artificielle sur tranches de pomme de terre avec les souches bactériennes suivantes : <i>P. c.</i> subsp. <i>brasiliense</i> ACW88/157-2 (A), et 99/39-31-1 (B et C), et contrôle eau (D).....	52

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification de <i>Solanum tuberosum</i>	04
Tableau 02 : Les valeurs nutritionnelles moyennes pour 100g de pomme de terre	09
Tableau 03 : les Principales variétés de pomme de terre cultivées en Algérie.....	14
Tableau 04 : Production mondiale de la pomme de terre entre (2011_ 2018).....	15
Tableau 05 : Evolution de la production de la pomme de terre en Algérie entre (2011_2018)	16
Tableau 06 : évolution de production de la pomme de terre de wilaya d'Ain Defla (2011_2017)	17

Introduction

Introduction

Introduction

La pomme de terre est une plante vivace, herbacée, dicotylédone et tubéreuse de la famille (*Solanum tuberosum* L) elle s'adapte à des situations très diverses : du cercle polaire à l'équateur en jouant sur les saisons, les variétés, l'altitude...etc. Elle joue un rôle clé dans le système alimentaire mondial. C'est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde. Parmi 153 pays producteurs de pomme de terre, la production mondiale a atteint le chiffre record de 385,074 millions de tonnes (Mt) en 2014 (FAO, 2018).

Dans les pays développés, la consommation de pommes de terre augmente considérablement et représente plus de la moitié de la récolte mondiale. Comme elle est facile à cultiver et que sa teneur énergétique est élevée, c'est une culture commerciale précieuse pour des millions d'agriculteurs (Tria, 2011).

En Algérie, la filière pomme de terre, dans tous ses volets semences et consommation, a un poids économique considérable et occupe une place stratégique dans les nouvelles politiques de renouveau agricole et rurale. Elle est en première ligne dans la lutte contre la faim et la pauvreté dans le monde. En 1962, la production de pommes de terre en Algérie était de 250 000 tonnes par an, dont un tiers destiné à l'exportation. En 2011, la quantité produite est passée à 3,99 millions de tonnes sur une surface de 161 200 ha, elle occupe la deuxième place en Afrique après l'Egypte (FAO,2011).

La demande nationale en pomme de terre est assurée à 100% par la production nationale qui avait atteint 47 millions de quintaux (qtx) en 2017, La stabilité du marché en ce qui concerne ce légume a permis de rassurer les agriculteurs en les encourageant à élargir les superficies cultivées qui sont passées de 105.121 hectares en 2009 à 148.692 hectares en 2017 (FAO 2018).

La wilaya d'Ain Defla est parmi les zones potentielles pour la production de la pomme de terre en Algérie. En 2018 elle était classée comme deuxième wilaya productrice après la wilaya d'El oued avec 35% de la production nationale (DSA Ain Defla, 2018).

La pomme de terre est l'une des cultures maraîchères les plus touchées par une flore parasitaire et microbienne importante. Les bactéries pectinolytiques, anciennement regroupées sous le genre *Erwinia* sp. Sont responsables de deux maladies de la pomme de terre. D'une part, la maladie de la « jambe noire » qui se caractérise par la pourriture des tiges de la plante et, d'autre part, la maladie de la « pourriture molle », qui s'attaque aux tubercules. Ces deux maladies sont présentes dans tous les pays où la pomme de terre est cultivée et provoquent d'importantes pertes économiques (De Werra et al.,2015).

Introduction

Les *Erwinia* sont responsables de dégâts sur pomme de terre sous des climats chauds et tempérés. Les symptômes de jambe noire induits varient d'une pourriture humide à sèche des tiges selon les conditions climatiques alors que les tubercules peuvent être atteints de pourritures molles au champ et en conservation. Des récents travaux de taxonomie ont abouti à un remaniement du nom en clature des pathogènes responsables qui appartiennent dorénavant à deux genres : *Pectobacterium* et *Dickeya*. La contamination des plantes en culture et des tubercules à la récolte se fait à partir de différentes sources d'inoculum (tubercules, sol, rhizosphères, tas de déchets, repousses) (**Hélias, 2008**).

Après infection de la plante, les bactéries peuvent coloniser l'ensemble du système vasculaire de la plante. Il en résulte alors, en cas de faible humidité relative du sol, un flétrissement du feuillage par obstruction de la circulation de la sève brute dans le xylème. En cas de hausse de l'humidité relative, les bactéries peuvent pénétrer de manière invasive dans les tissus parenchymateux et produire des enzymes pectinolytiques en abondance, principalement des pectate lyases et des polygalacturonases. Ces enzymes vont ensuite dépolymériser la pectine des parois cellulaires des tissus de la pomme de terre et induire une pourriture brune foncée sur les parties basses de la tige communément appelée jambe noire, ainsi que des pourritures humides du tubercule (**De Werra et al., 2015**).

L'objectif initial de notre travail était de faire une étude comparative sur la résistance de quelques variétés de pomme de terre envers une collection des souches bactériennes pectinolytiques. Les résultats obtenus nous ont permis de faire une comparaison remarquable sur l'agressivité et la pathogénicité de ses souches bactériennes et aussi on a remarqué qu'il existe une différence de sensibilité ou de résistance entre différentes variétés de pomme de terre.

Partie bibliographique

I-Généralité Sur La pomme de terre**I-1- Historique et Origine**

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) constitue la principale denrée alimentaire non céréalière et une ressource financière des populations à l'échelle mondiale (**Rousselle et al., 1996**). Elle est la quatrième culture la plus importante dans le monde après le riz, le maïs et le blé (**Masclet, 2017**).

La pomme de terre est originaire des Andes dans le sud-ouest de l'Amérique du sud où son utilisation remonte à environ 9 000 ans avant J.C. (**Spire et Rousselle 1996**).

Il n'y a pas de document sur la date précise d'arrivée de cette plante sur l'Europe, il est probable qu'à l'époque, personne n'imaginait l'importance que pourrait prendre cette production agricole. On pense cependant que la pomme de terre arriva quelque année avant la fin du XVI^{ème} siècle et ceci par deux entrées; la première l'Espagne 1570 et la seconde des îles Britanniques (1588-1593) (**Rousselle et al., 1996**).

En Algérie, la pomme de terre a probablement été introduite une première fois au XVI^{ème} siècle par les maures andalous qui ont propagé dans la région les autres cultures tels que la tomate, le poivron, le maïs, le tabac. Puis cette culture est tombée dans l'oubli n'ayant pas suscité d'intérêt. Dans la deuxième moitié du XIX^{ème} siècle, les colons vont la cultiver pour leur usage, car les algériens y sont réticents malgré les disettes successives. C'est la dernière grande famine des années 1930 à 1940 qui viendra à bout de cette opposition (**Meziane, 1991**).

I-2- Taxonomie :

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) appartient à la famille des Solanacées Genre *Solanum* (**Quezel et Santa, 1963**). Elle comprend 1000 espèces dont plus de 200 sont tubéreuses (**Dore et al., 2006 ; Hawkes, 1990**). On pensait autrefois que la pomme de terre était issue d'une plante sauvage unique, l'espèce *S. tuberosum*.

Mais dès 1929, les botanistes avaient montré que cette origine était plus complexe et que l'on retrouvait parmi les ancêtres des espèces de pomme de terre cultivées, des plantes sauvages différentes (**Rousselle et al., 1992 ; Dore et al., 2006**).

Selon **Hawkes (1990)** cette espèce est classée comme suit :

Tableau.1- Classification de *Solanum tuberosum* (**Hawkes, 1990**)

Règne	Métaphytes (Végétaux supérieurs)
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Polemoniales</i>
Famille	<i>Solanaceae</i>
Genre	<i>Solanum</i> L.
Sous-Genre	<i>Potatoe</i> (G. Don) D'Arcy
Section	<i>Petota</i> Dumort
Sous-section	<i>Potatoae</i>
Super-série	<i>Rotata</i>
Série/Groupe	<i>Tuberosa</i> (cultivées)
Espèce	<i>Solanum tuberosum</i>

I-3-Description morphologique

La pomme de terre est une plante vivace qui se propage par multiplication végétative et qui est cultivée comme une espèce annuelle (**Rousselle et al., 1992**). La plante comporte à la fois des tiges aériennes et des tiges souterraines (figure01). C'est une plante à fleurs gamopétales, dicotylédones, son port est plus ou moins dressé suivant les variétés (**Darpoux et Dubelley, 1967**).

I -3-1 partie aérienne:

A- Tiges

Chaque plante est composée d'une ou plusieurs tiges herbacées de port plus ou moins dressé, le nombre de tiges est influencé par le calibre du plant (figure01), son âge physiologique, les conditions de conservation et de germination (**Grisson, 1998**)

B-Feuilles

Elles sont alternées de types composés constituées d'importants nombres de folioles, emportés sur un pétiole terminé par une foliole l'unique. Les folioles présentent de nombreux caractères distinctifs, mais assez fluctuants, notamment leur nombre, forme, couleur, pilosité et longueur des pétioles et pétiolules. Les jeunes feuilles sont densément recouvertes de poils soit longs et droits, soit courts et de type glandulaire (trichomes) (**Djabbour, 2015**). La nervation des feuilles est de type réticulé avec une plus grande densité de nervures vers le bord du limbe (**Rousselle et al., 1996**).

C- Fleurs

Les fleurs de la pomme de terre sont disposées sur une inflorescence en cyme bipare, portée par un pédoncule plus ou moins long, fixé généralement au sommet de la tige. Elle est construite par 5 sépales, 5 pétales, 5 étamines, les fleurs ont des couleurs différentes blanches, bleutées, violacées et rouge-violacées la coloration des fleurs est en fonction des variétés (**G rison, 1983**).

D-Fruits

Le fruit est une baie sphérique ou ovoïde de 1 à 3 centimètres de diamètre(figure01), de couleur verte ou brun violacé, jaunissant à maturité. Il contient généralement plusieurs dizaines de graines, petites, plates, réniformes, baignant dans une pulpe mucilagineuse provenant de la transformation de l'endocarpe du fruit (**Rousselle et al., 1996**).

I -3-2- Partie souterraine:

Selon **Boufares (2012)**, L'appareil souterrain comprend les tubercules qui donnent à la pomme de terre sa valeur alimentaire. Cette partie composant le tubercule mère des séché(figure01), avec des racines et des stolons qui prennent naissance au niveau des nœuds basaux des tiges (**Mazoyer, 2002**).

Les racines de pomme de terre sont constituées par des entre nœuds, courts et portent des bourgeons ce qu'on appelle les « yeux » situés dans des petites dépressions. Ces bourgeons se développent et donnent les germes et les futures tiges aériennes. Les racines prennent, naissance au niveau des nœuds enterrées par des tiges feuillées, et au niveau des nœuds des stolons ou au niveau des yeux du tubercule (**Chabbah,2016**).

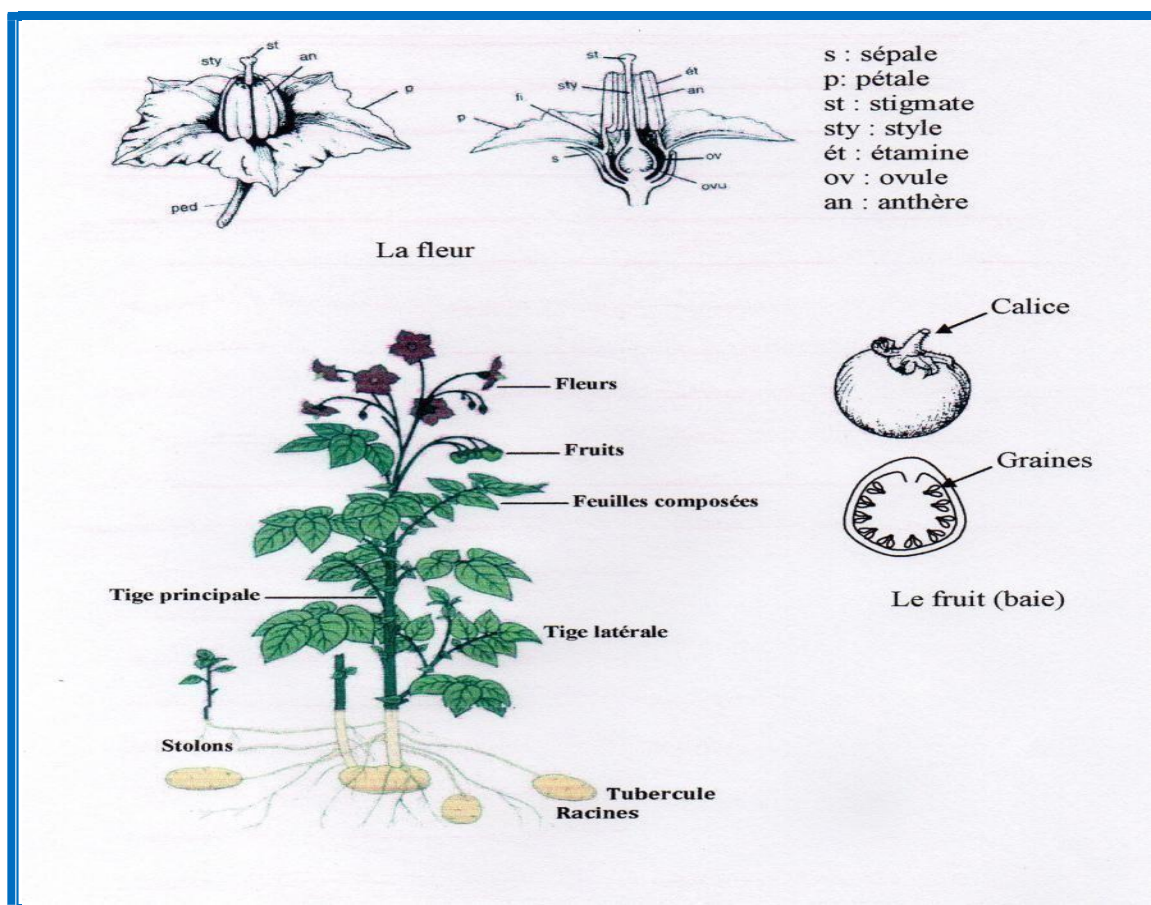


Figure 01 : Les caractéristiques morphologiques de la pomme de terre (FAO,2008)

I-3-2-1-Structure de tubercule de pomme de terre :

1- Structure externe :

Le tubercule de la pomme de terre est une tige souterraine contient des entre nœuds courts et épais. Il y en a deux extrémités :

- **Le talon** : (ou hile) qui est rattachée par la plante mère par le stolon (figure02).
- **Couronne** : c'est un bourgeon terminal à extrémité apicale du tubercule opposée au talon(figure02).
- **Les yeux** sont nombreux, disposés en spirale sur la surface ou le calibre du tubercule (figure02), sont fréquents surtout dans la région de la couronne ; Ces yeux présentent plusieurs bourgeons qui donnent des germes. Ces derniers produisent des tiges principales et latérales, des stolons et des racines (**Kechid, 2005**).

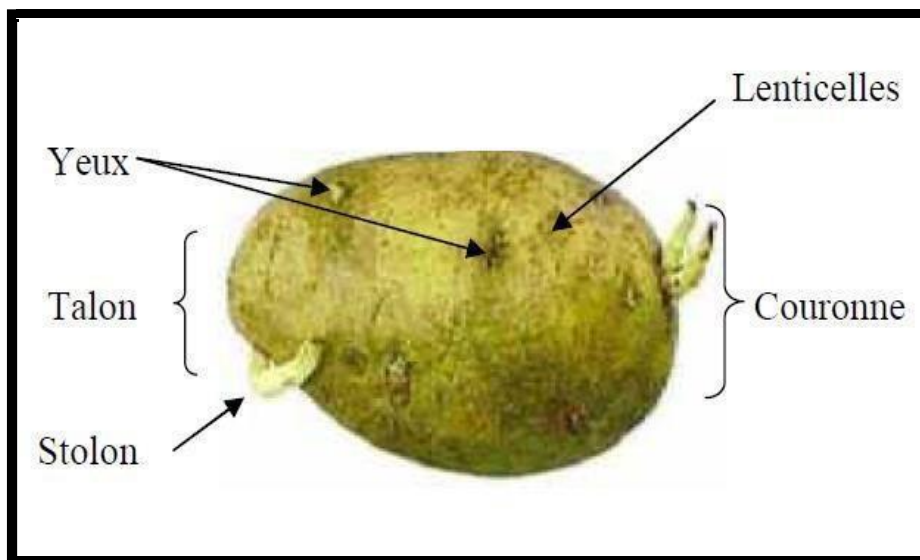


Figure 02 : Principaux organes extérieurs du tubercule de pomme de terre (Chabbah,2016).

2 -Structure interne :

En coupe longitudinale d'un tubercule mature (Figure3.) On distingue de l'extérieur vers l'intérieure : le péricarde, cortex ou parenchyme corticale, l'anneau vasculaire composé de phloème externe, de xylème et de parenchyme. On peut également remarquer la zone pérимédullaire contenant le phloème interne et en fin, la molle ou parenchyme (Rousselle et al., 1996).

Les différents parenchymes (cortical, périvasculaire, pérимédullaire, médullaire) contiennent des grandes quantités des grains d'amidon qui diffèrent par leur taille (diamètre de 7 à 32 µm) et leur forme (ovoïde, sphérique) (Rousselle et al., 1996).

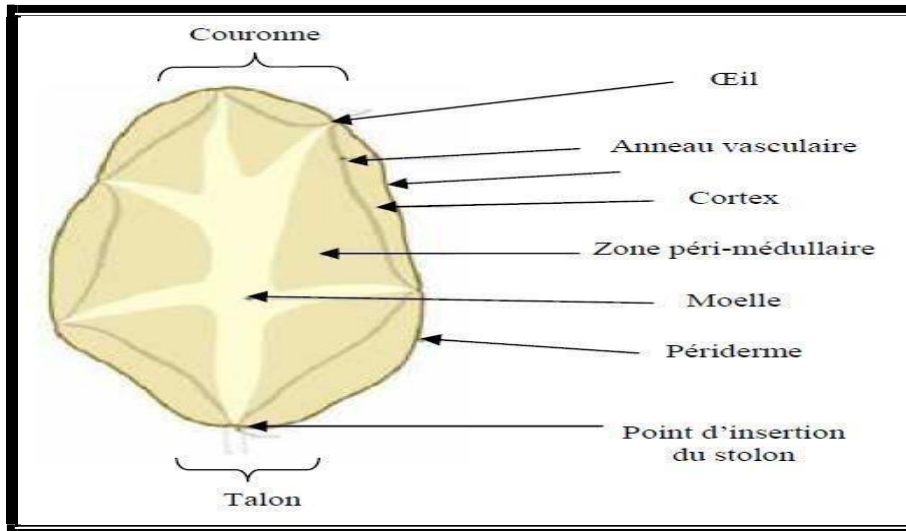


Figure 03 : Coupe longitudinale d'un tubercule de pomme de terre (Chabbah, 2016).

3-Valeur nutritionnelle :

La pomme de terre est un aliment de base majeur répond aux besoins nutritionnels de l'homme. Dans de nombreux pays, elle sert d'aliment de base en raison de son excellente nutrition contenue (Warsito et Van de Fliert, 2006).

Le tubercule est constitué, principalement, d'eau (environ 75% du poids). Le reste est formé par la matière sèche (figure04) : acides aminés, protéines, amidon, sucres (saccharose, glucose, fructose), vitamines (C, B₁), sels minéraux (K, P, Ça, Mg), acides gras et organiques (tableau 02) (Rousselle et al., 1992).

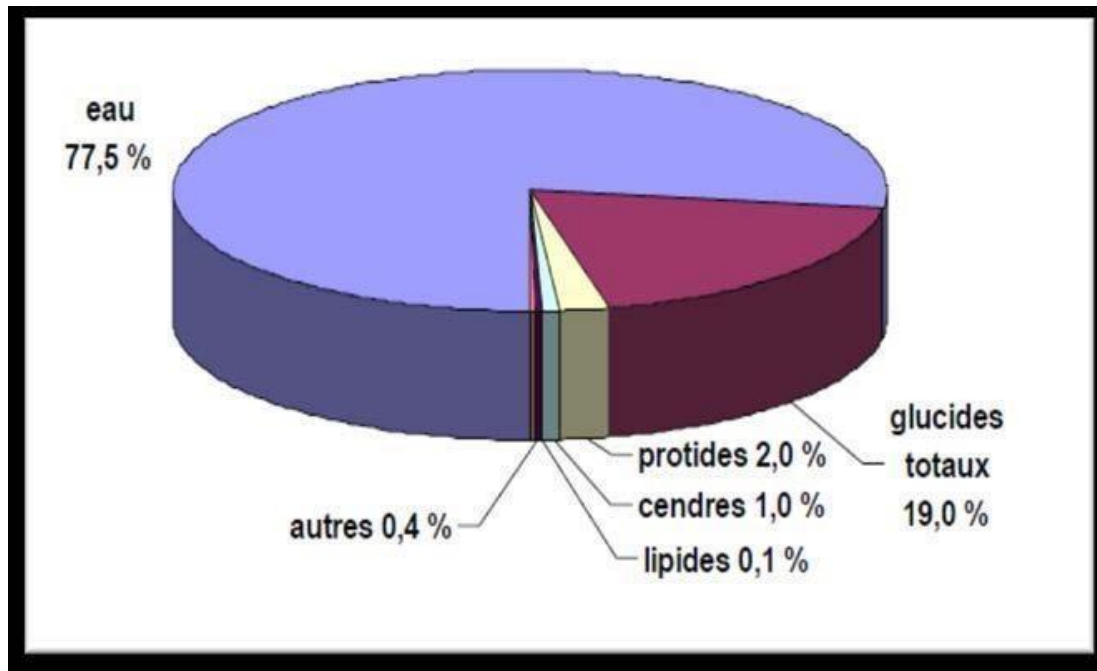


Figure 04 : Représentation graphique de la composition biochimique moyenne d'un tubercule de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). (FAO, 2008)

Tableau 02 : Les valeurs nutritionnelles moyennes pour 100g de pomme de terre (Feytaud,1949).

Eau		77g
Elements enormities	Protides	2g
	Glucides	20g
	Lipides	0,1g
	Vitamine B1	0,12mg
	Vitamine B2	0,04mg
	Vitamine C	14mg
	Vitamine B6	0,03mg
Les compose minireaux	Fer	1 mg
	Phosphor	60mg
	Potassium	450mg
	calcium	15 mg
	Magnesium	30 mg
	sodium	20 mg
fibers		0,7g

I-4- Cycle de reproduction

On peut multiplier la pomme de terre par graines, par boutures ou par tubercules (figure05). Le semis (avec graines) ne se pratique que dans le but d'obtenir de nouvelles variétés, la multiplication par boutures se pratique lorsqu'on ne dispose que de quelques tubercules de variétés méritantes et qu'on désire obtenir, la même année, un grand nombre de nouveaux tubercules, la multiplication la plus courante se fait par tubercules (Vreugdenhil et al., 2007).

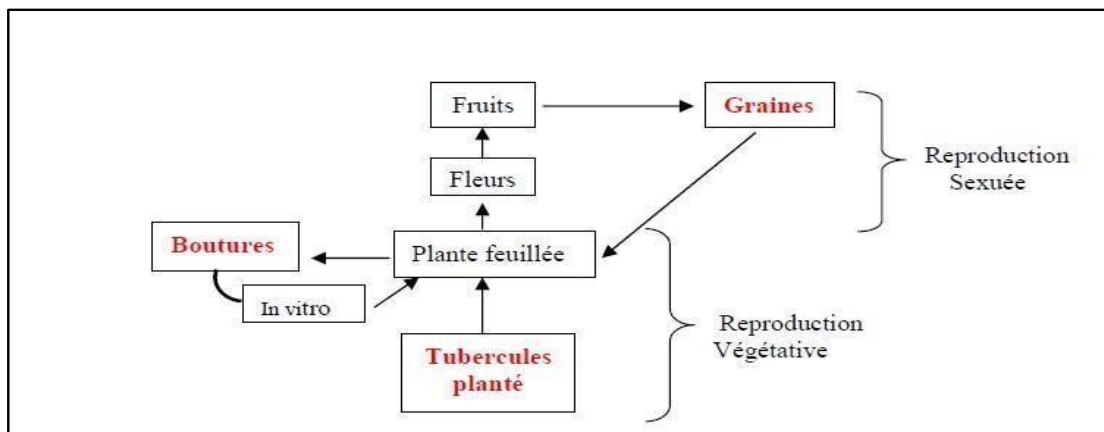


Figure 05 : Les différentes méthodes de multiplication de la pomme de terre (Chabbah, 2016)

I-4-1- Cycle sexué

Le fruit est une baie sphérique ou ovoïde de 1-3 cm de diamètre, de couleur verte brun violacé jaunissant à la maturité (Bernhard, 1998). Elle peut contenir jusqu' à 200 graines (Rousselle et al., 1996).

La pomme de terre est très peu produite par graines dans la pratique agricole, en même temps la graine est l'outil de création variétale (Rousselle et al., 1996).

La germination est épigée et les cotylédons sont portés au-dessus du sol, par le développement de l'hypocotyle, en conditions favorables (figure 05). Quand la jeune plante à seulement quelque centimètre de hauteur, les stolons commencent à se développer d'abord au niveau des cotylédons puis aux aisselles situées au-dessus, et s'enfoncent dans le sol pour donner des tubercules (Bernhard, 1998).

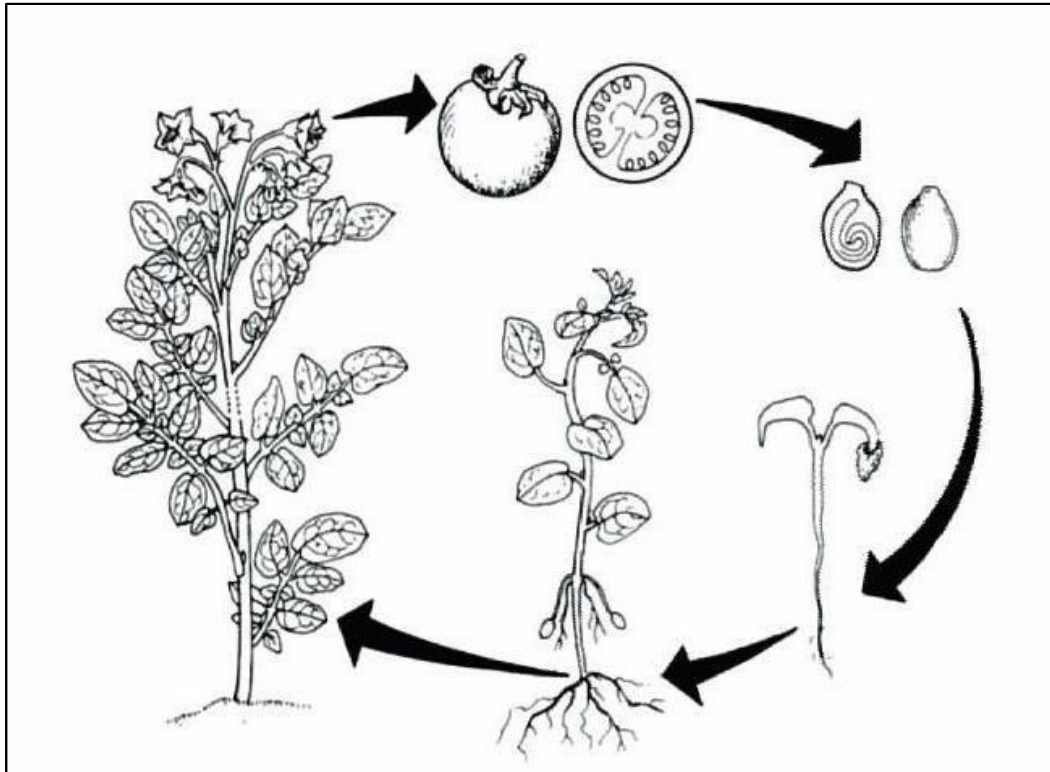


Figure 06 : cycle de pomme de terre par reproduction sexuée (Rousselle et al., 1996).

I-4-2-Le cycle végétatif :

Le tubercule n'est pas seulement un organe de réserve, c'est aussi un organe qui sert à la multiplication végétative, cette dernière se déroule en cinq étapes : la dormance, la germination, la croissance, la tubérisation et la maturation (figure 07).

I.4.2.1. La dormance :

Après la récolte, la plupart des variétés de pommes de terre traversent une période où le tubercule ne germe pas, quelles que soient les conditions de température, d'éclairage et d'humidité. Il s'agit de la période de dormance, et sa durée dépend beaucoup de la variété et des conditions d'entreposage, et surtout de la température. Pour hâter la germination, on peut traiter chimiquement les tubercules de semence ou les exposer alternativement à des températures élevées et basses (**Anonyme, 2003**)

I.4.2.2 La germination :

A la fin de repos végétatif, le germe rentre en croissance s'il n'y a pas dormance induite par les conditions du milieu (**Madec, 1966**). **Madec et Perennec (1962)** ont dénommé stade d'incubation, le stade de tubérisation des germes, et période (phase) d'incubation, le temps s'écoulant entre le départ de la germination et la formation des nouvelles ébauches du tubercule par les germes.

I.4.2.3 La croissance

Une fois le tubercule mis en terre au stade physiologique adéquat, les germes se transforment en dessous du sol en tiges herbacées pourvues de feuilles ce qui rend la plante autotrophe dès que la surface foliaire atteint 300 à 400 cm (**Rousselle et al., 1996**).

Les bourgeons axillaires donnent, au-dessus du sol des rameaux, et en dessous, des stolons (**Soltner, 2005**).

I.4.2.4 La tubérisation

Ce phénomène de tubérisation commence d'abord par un arrêt d'élongation des stolons après une période de croissance. La tubérisation est réalisée dès que le diamètre des ébauches est le double de celui des stolons qui les portent. Outre les processus de multiplication cellulaire, le grossissement des ébauches de tubercules s'effectue par accumulation dans les tissus des substances de réserve synthétisées par le feuillage. Ce grossissement ralentit puis s'arrête au cours de la sénescence du feuillage (**Bernhards, 1998**).

I.4.2 .5 La maturation des tubercules

Elle se caractérise par la sénescence de la plante, par la chute des feuilles ainsi que l'affaiblissement du système racinaire et les tubercules atteignent leur maximum de développement (**Perennec et Madec, 1980**).

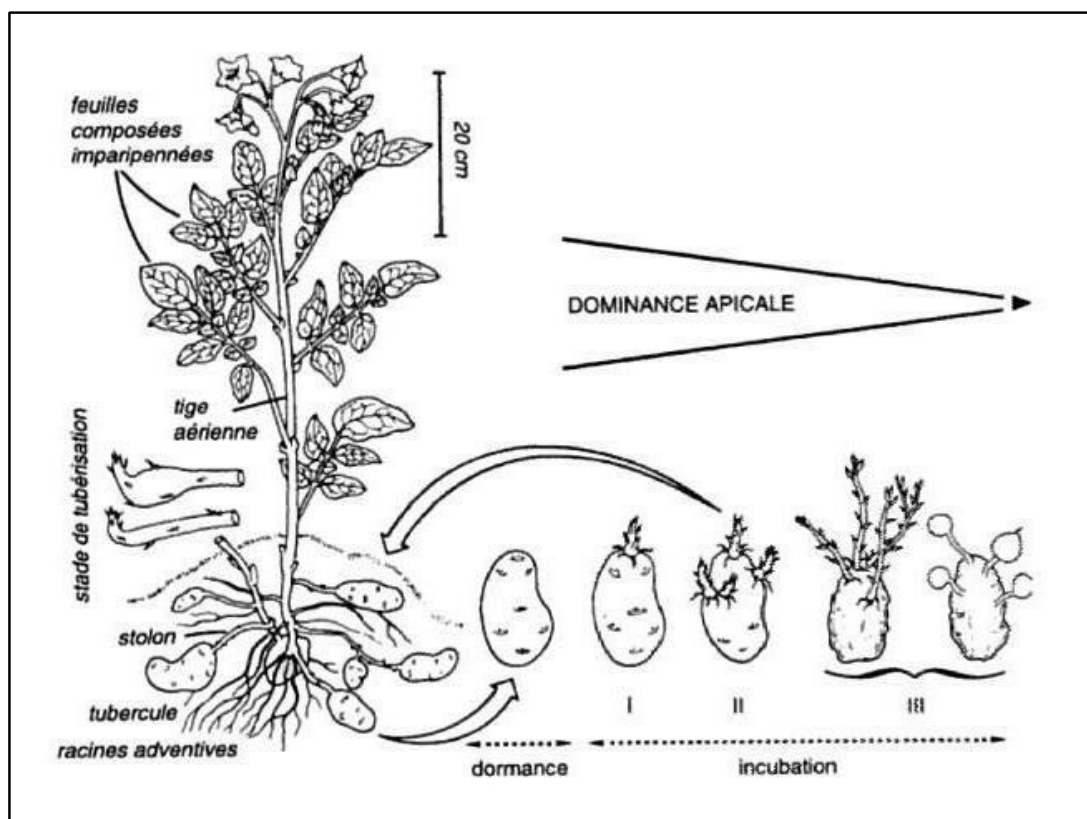


Figure 07 : schéma de développement des tubercules de pomme de terre (**Rousselle et al.,1996**).

I-5 Principale variété cultivée en Algérie

En 2013, le catalogue officiel algérien des variétés de pomme de terre contient 152 variétés qui sont autorisées à la production et à la commercialisation (tableau03), en Algérie dont 22 destinées à la transformation (**Chabbah, 2016**).

Elle est précédée de deux ans au cours desquels les caractères d'utilisation, le rendement, le comportement vis-à-vis des parasites sont évalués par le centre national de contrôle et de certification des semences et plants (**CNCC**). Les variétés sont déterminées par :

La forme du tubercule et La durée de culture.

La couleur de la peau et de la chair.

La durée de conservation.

La date de mise sur le marché.

Tableau 03 : Représente Les principales variétés de pomme de terre cultivées en Algérie (CNCC de Tiaret en BENOUIS ET DERRADJI, 2015).

Variétés rouges	Variétés blanches
Bertina	Safran
Amorosa	Spunta
Cardinal	Diamant
Condor	Sahel
Désirée	Lola Apollo
Cléopatra	Ajax
Resolie	Yesmina
Thalassa	

I-6-Production de pomme de terre

I-6-1- Importance mondiale

La pomme de terre est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde et la production mondiale a atteint le chiffre record de 388 190 674 de tonnes en 2007. Dans les pays développés, la consommation de pommes de terre augmente considérablement et représente plus de la moitié de la récolte mondiale. Comme elle est facile à cultiver et que sa teneur énergétique est élevée, c'est une culture commerciale précieuse pour des millions d'agriculteurs. (FAO,2018)

Tableau 04 : Production mondiale de la pomme de terre entre 2011-2018 (FAO, 2019).

Année	Superficies (ha)	Production (tonnes)	Rendement (Tonnes/ha)
2011	18 694745	367889898	19.6788
2012	18 689631	361003266	19.3157
2013	18 498639	365087514	19.7359
2014	18 029774	369966532	20.5198
2015	17 998732	365748227	20.3208
2016	17 551476	356952488	20.3375
2017	17623660	373774234	21.2087
2018	7 578672	68168914	0.9441

En 2017, la production mondiale de pommes de terre est estimée à 373774234 tonnes, pour une surface cultivée de 17 623 660 hectares, soit un rendement moyen de 21.2087 tonnes par hectare (tableau 04). C'est la Chine qui occupe le premier rang des pays producteurs avec une production qui atteint 99.065724 tonnes en 2017. (FAO, 2018).

I-6-2 En Algérie

Selon les historiens, l'entrée de la pomme de terre en Algérie remonte au milieu de la première décennie du dix-neuvième siècle. Elle a été cultivée principalement pour l'exporter vers le marché français. Après l'indépendance, elle est devenue un produit important pour la consommation locale. La demande en cette culture s'est alors accrue ; elle représente la première culture maraîchère du point de vue superficie et production (Chehat, 2008).

La demande en cette culture s'est alors accrue. Elle représente la première culture maraîchère du point de vue superficie et production, avec une superficie plantée de 148822 Ha et une production de 4606402 tonnes en 2017, avec un taux de rendement de 30.9524 tonnes/ha (tableau 05).

La filière pomme de terre dans tous ses volets semences et consommation occupe aujourd'hui une place stratégique dans la nouvelle politique du renouveau agricole et

rural, où sa culture reste parmi les espèces maraîchères, qui occupe une place primordiale tant par l'importance qu'elle occupe dans l'alimentation. (Madrp, 2014).

Tableau 05 : Evolution de la production de la pomme de terre en Algérie entre (2011_2018) (FAOSTAT, 2019).

Année	Superficies (ha)	Production (tonnes)	Rendement (Tonnes/ha)
2011	131903	3862194	29.2806
2012	138666	4219476	30.4291
2013	161156	4886538	30.3218
2014	156176	4673516	29.9247
2015	153313	4539577	29.6099
2016	156308	4759677	30.4506
2017	148822	4606402	30.9524
2018	49665	653322	1.0916

I-6-3 En Ain Defla

Le sol de la wilaya d'Ain Defla est une terre de choix pour la production de la pomme de terre. Selon les données statistiques des services agricoles de la wilaya (tableau 05), elle couvre près de 35% des besoins nationaux, c'est la deuxième zone productrice au niveau national après EL Oued. (DSA, 2018).

Tableau 06 : Evolution de la production de Pomme de terre de wilaya d'Ain defla entre 2011_2017 (DSA, 2018).

Année	Superficie (ha)	Production (qtx)	Rendement (qtx/ha)
2011	18 385	5 601 681	305
2012	24 013	7 316 309	305
2013	24 525	7 092 875	289
2014	21 882	6 197 030	283
2015	21 569	6 433 126	298
2016	20 000	6 879 362	344
2017	15 800	5 128 700	325

II- Généralités sur les bactéries pectinolytiques

II-1 Définition

Les genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp, (anciennement appelés *Erwinia* pectinolytiques), regroupent l'ensemble des bactéries, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, *Erwinia* est le principal genre bactérien responsable de désastres agricoles sur beaucoup de cultures, causant ainsi des nécrose 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**).

II-2 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 3,0µm de diamètre .Les cellules sont mobiles par des flagelles péritriches. Elles sont caractérisées par un métabolisme fermentatif ; le type respiratoire est aéro- anaérobies facultatif ,Elles peuvent être isolées, par paires et quelque fois en courtes chaînes. La température optimale de croissance de ces espèces est de 27 et 30 à 32°C, leur température maximale varie de 32 à 42°C. Elles possèdent une forte activité pectinolytique due à la production de pectinases (**Murashi et al., 1965 ; Yahiaoui-Zaidi et al.,2003 ; Lautier, 2007**).

II-3 Taxonomie :

La position taxonomique et la spéciation au sein du genre *Erwinia* ont été longtemps l'objet de controverses et de polémiques à cause de l'hétérogénéité des souches d'un même taxon (**Paulin et al.,2001 ; Haubenetswings,2005 ; Costa et al., 2006**). La première description des bactéries pectinolytiques remonte à 1901 à partir d'une pourriture humide de la carotte et fût nommée *Bacillus carotovorus*. (**Skerman et al., 1980**).

Chapitre II Généralités sur les bactéries pectinolytiques

Le nom *Erwinia* fut proposé pour la première fois par (Winslow et al.,1917) en honneur du phytopathologiste Erwin F .Smith, ce genre permit de regrouper les entérobactéries pathogènes, saprophytes et épiphytes des plantes (Pérombelon et Kelman, 1980 ; Toth et Birch, 2005).

En 1945 Waldee, proposa la création du genre *Pectobacterium* pour classer les *Erwinia* pectinolytiques (espèces *Carotovora* et *Chrysanthemi*) dans un groupe séparé des autres *Erwinia* ,agents de nécroses sèches et flétrissements. Cette suggestion a été appuyée par les travaux de (Brenner et al., 1973).

En 1968, 04 grands groupes furent créés : Le groupe *Amylovora* constitué d'espèces non pectinolytiques, le groupe *Herbicola* qui contient des *Erwinia* a pigment jaune, le groupe *carotovora* qui en globe les bactéries pectinolytiques et en fin un quatrième groupe composé d'espèces atypiques (Mergaert, 1984).

D'autres auteurs (Kwon et al.,1997 ; Hauben et al.,1998) s'appuyant sur le séquençage des ARNr 16 Sont proposé de déplacer les *Erwinia* pectinolytiques vers le genre *Pectobacterium*, rejoignant ainsi Waldee (1945).

Le nouveau nom en clature suggérée par ces auteurs et consignée dans la seconde édition du Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology) est: *Pectobacterium carotovora* subsp. *atrosepticum*, *Pectobacterium carotovora* subsp. *Carotovorum* et *Pectobacterium chrysanthemi* (Hauben et al., 2005).

Ces phytopathogènes ont été par la suite subdivisées en deux groupes différents : *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica* et *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora*, puis respectivement *Pectobacterium atrosepticum* et *Pectobacterium carotovorum* (Garden et al.,2003). Tandis qu'*Erwinia chrysanthemi* est devenu un nouveau genre (*Dickeya* spp) (Samson et al., 2005).

Les espèces *Dickeya* spp associées à la pomme de terre sont *D. dadantii*, *D. zea*, *D. dianthicola* (Samson et al.,2009), ainsi qu'une dernière espèce nommée *solani* (Parkinson et al.,2009 ; Cahill et al.,2010 ; Toth et al.,2011).

II-4- Les différentes espèces pectinolytiques

II-4-1 *Pectobacterium carotovorum*

Les analyses moléculaires, phénotypiques, sérologiques et phylogénétiques ont prôné une nouvelle classification, avec trois sous-espèces ; *Pectobacterium carotovorum* ssp. *atrosepticum*

Chapitre II Généralités sur les bactéries pectinolytiques

(*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*. (Ladjouzi,2007)

II-4-1 *Pectobacterium carotovorum atrosepticum* (*Pca*)

D'après Hiliase, (2008) ,*P .atrosepticum* est la nouvelle appellation d *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* répertoriée dorénavant en espèce ,*P atrosepticum* et généralement associée au symptôme de la jambe noire de la pomme de terre dans les régions tempérées .Elle se développe préférentiellement entre 15 et 25C°entraînant des pourritures des tubercules et des tiges ,en climat tempéré ,la bactérie à pour hôte principal la pomme de terre (**Pérombelon et Kelman ,1976**) bien que des souches aient été occasionnellement isolées de tomates et de poivrons (figure 8).



Figure 08 : Symptômes de macération induits par *Pectobacterium atrosepticum* sur demi-tubercules (Carvalho et Mello, 2008)

II-4-1 *Pectobacterium carotovorum* ssp *carotovorum*

P.c. subsp *carotovorum*, anciennement *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* est distribué dans une aire géographique étendue ,aussi bien dans les zones tempérées que tropicales et sur une gamme d'hôtes très large (**Hélias, 2008**).

Erwinia carotovora ssp. *carotovora* (*Ecc*) est responsable des maladies de pourriture molle sur beaucoup de plantes hôtes(figure 09). Elle est aussi responsable de la pourriture aérienne des tiges (la jambe noire aérienne). Elle se développe à des températures s'allant de 20 à 37- 40C° (**Rousselle et al.,1996 ; Carvalho et Mello, 2008**).



Figure 09 : Symptômes typiques de *Pectobacterium carotovorum ssp. carotovorum* sur tubercules de pommes de terre (Carvalho et Mello, 2008).

II-4-1 *Pectobacterium carotovora ssp. betavascularum*

Elle est l'agent responsable de nécrose vasculaire des racines de la betterave à sucre, et est négligemment isolée de tourne sol, Artichaut et pommes de terre. *Pcb* se développe à 36°C, produit des composés réducteurs du saccharose, ne possède pas la gélatinase et produit de l'acide diméthyl- α -glucoside, inuline, lactose et raffinose (Gardan et al., 2003).

II-4-2 *Dickeya* sp

Les *E. chrysanthemi* sont désormais intégrées dans le nouveau genre *Dickeya*. Avec une température de croissance optimale élevée (35-37°C) *Dickeya* a été jusqu'à présent sur-tout identifiée sous les climats chauds et en serre. Parmi les six nouvelles espèces décrites dans ce nouveau genre, *Dickeya zea* et *Dickeya dianthicola* sont pathogènes sur la pomme de terre. Alors que *D. zea* est plus particulièrement décrite dans des régions chaudes, *D. dianthicola* est plus fréquente dans des zones tempérées comme en Europe (Hélias, 2008). En cas d'infection par *Dickeya* spp. Les symptômes de pourriture peuvent apparaître plus haut dans la plante alors que la base de la tige reste saine (Rouffiange et al., 2013).

II-5-Répartition géographique des pathogènes

La répartition géographique de bactéries pectinolytiques est essentiellement liée aux conditions du milieu (exigences thermiques) et de la présence ou non des hôtes sensibles tels que la pomme de terre. *P. atrosepticum* est présente dans les régions tempérées. Son développement est optimal entre 20 et 40°C. *Dickeya* spp. Son tissu de climats tropicaux, subtropicaux ou tempérés chauds.

Carotovorum possède une gamme de températures plus large : entre 25 et 40°C et peut donc développer des symptômes durant les périodes chauds dans des climats plus tempérés d'Europe occidentale. De plus, les populations varient en fonction des conditions d'humidité du milieu. Elles sont globalement faibles dans les sols secs et nombreuses lorsque les conditions sont humides ou si les sols sont irrigués (**Rouffiange et al., 2013**)

II-6-Les facteurs de développement et dissémination

II-6-1-Les conditions environnementales favorable:

II-6-1-1 Température

L'accroissement de la température ambiante et des quantités d'eau libres induit une raréfaction de l'air du sol, accélérant ainsi la multiplication bactérienne, ce qui augmente l'intensité et la sévérité des macérations (**Schaerer,2010**).

II-6-1-2 Humidité

La présence de film d'eau à la surface des tubercules entraîne le maintien des conditions d'anaérobiose favorisant ainsi la multiplication bactérienne et l'initiation de la pourriture (**Czajkowski et al.,2011**).

II-6-1-3 L'anaérobiose

L'anaérobiose affaiblit la résistance de l'hôte par son effet défavorable sur la synthèse des phytoalexines, et composés phénoliques (**Pérombelon,2002**).

II-6-2-Source d'inoculum et facteurs de contamination

II-6-2-1 Rôle de tubercule mère

D'après **Hélias, (2008)**, Le tubercule qui peut assurer la survie des bactéries au cours de la conservation et leur transmission aux tubercules fils, lors de la culture suivante, constitue la source d'inoculum la plus connue. Les bactéries peuvent être localisées dans le système vasculaire, les lenticelles ou à la surface des tubercules (**Nielsen, 1978 ; Pérombelon,2000**).

Si elles tendent à disparaître rapidement de la surface des tubercules en conditions sèches, les populations bactériennes sont capables de se maintenir pendant les six à sept mois de stockage à un niveau de contamination sensiblement au sein des lenticelles. Par ailleurs, les blessures occasionnées lors de la manipulation des tubercules (plantation, récolte, tri) constituent autant de portes d'entrée qui permettent la pénétration de *Pectobacterium* et *Dickeya*. Ce type de contamination se produit principalement lors du contact de tubercules sains avec des tubercules

Chapitre II Généralités sur les bactéries pectinolytiques

malades. Par ailleurs, les bactéries persistent mieux au niveau des blessures profondes où elles sont bien protégées de la dessiccation après leur cicatrisation (**Hélias, 2008**).

II-6-2-2 Rôle de sol

La survie des *Pectobacterium* et *Dickeya* dans le sol est limitée à 1 semaine jusqu'à 6 mois, selon les conditions environnementales (température, humidité et pH du sol) (**Toth et al., 2011**).

Les *Pectobacterium* sont des organismes du «sol» dont le niveau de population augmente fortement en présence d'exsudats racinaires de plantes (adventices ou cultures). Inversement, en cas d'absence ou de quantités moindres de nutriments liées à la récolte ou la maturité des plantes, la population bactérienne diminue jusqu'à un niveau non détectable (**Hélias, 2008**).

II-6-2-3 Rôle de l'eau

La propagation des bactéries à partir de tubercules mère peut se faire via l'eau les rendant ainsi considérablement mobiles (**Van der Wolf et al., 2008**). Les *Pectobacterium* sp sont retrouvées dans l'eau des drains sous terrains des champs plusieurs années après culture. Les aérosols générés par la pluie ou l'arrosage par aspersion des tiges malades, ou lors du défanage avant récolte peuvent également disperser les inoculum sur plusieurs centaines de mètres (**Hélias, 2008**).

II-6-2-4 Rôle de l'air

Harrison et al., (1977) ainsi que **Bedin (1988)** montrent que les insectes présents dans l'air tels que les diptères et notamment les drosophiles sont également cités comme sources de contamination suite à leur passage d'une plante infectée à une plante saine.

II-6-2-5 Transmission par le matériel et les pratiques agricoles

Le passage de machines agricoles contaminées lors de la culture constitue un autre moyen de dissémination des bactéries. La plantation, la récolte et le tri mécanique des tubercules peuvent également être la cause de la propagation des pathogènes entre les lots de pomme de terre et au sein des stocks. Cette contamination a principalement lieu lors du contact de tubercules sains avec des tubercules ou du matériel infectés (**Van Vuurde et al., 1994**), les niveaux de contamination étaient trois fois plus élevés pour les tubercules récoltés, calibrés et conditionnés en utilisant les pratiques mécaniques par rapport aux tubercules récoltés manuellement (**Deboer, 2002**).

III-Maladies de pommes de terre liées aux espèces pectinolytiques

Les genres pectinolytiques de *Pectobacterium* et *Dickeya* sont rendus responsables de nombreuses maladies de la pomme de terre. D'une part, il y'a la jambe noire et les flétrissements bactériens qui sévissent au champ avant ou durant la récolte. D'autres parts, la pourriture molle occasionne lors du stockage des symptômes sur tubercules (**Dupuis et al.,2005**).

III-1-Pourriture molle

Les espèces *Pectobacterium carotovorum* (*Pc*), *Pectobacterium atrosepticum* (*Pa*) *Pectobacterium brasiliense* et le nouveau genre *Dickeya spp* sont les principaux agents responsables de la pourriture molle sur tubercules (**Mantsebo et al., 2014**).

La pourriture molle est l'une des plus importantes maladies bactériennes de la pomme de terre à l'échelle mondiale (**Yanganza,2005**). Les blessures mal cicatrisées, les lenticelles et le stolon des tubercules sont les voies d'accès majeures du pathogène (**Fox et al.,1972**).

III-2 Jambe noire

La maladie de la jambe noire est principalement provoquée par les espèces *P. atrosepticum*, mais sous certaines conditions elle est aussi due à *P. carotovorum* et *Dickeya sp* (**Johanna et al., 2009**).

La plantation d'un tubercule infecté peut provoquer des manques à la levée et un retard de croissance (**Seebold, 2014**). En conditions humides, la maladie se manifeste sous forme d'une nécrose sur les tiges qui prennent alors une couleur noire, la pourriture se propage du tubercule mère jusqu'à la tige (figure 10). Dans les conditions sèches, les symptômes ont tendance à conduire à un retard de croissance, jaunissement et dessèchement des tiges et feuilles (**Humphris et al.,2015**). Le flétrissement du feuillage est dû à l'obstruction de la circulation de la sève brute dans le xylème, ce dernier étant colonisé par les bactéries (**De Werra et al.,2015**).

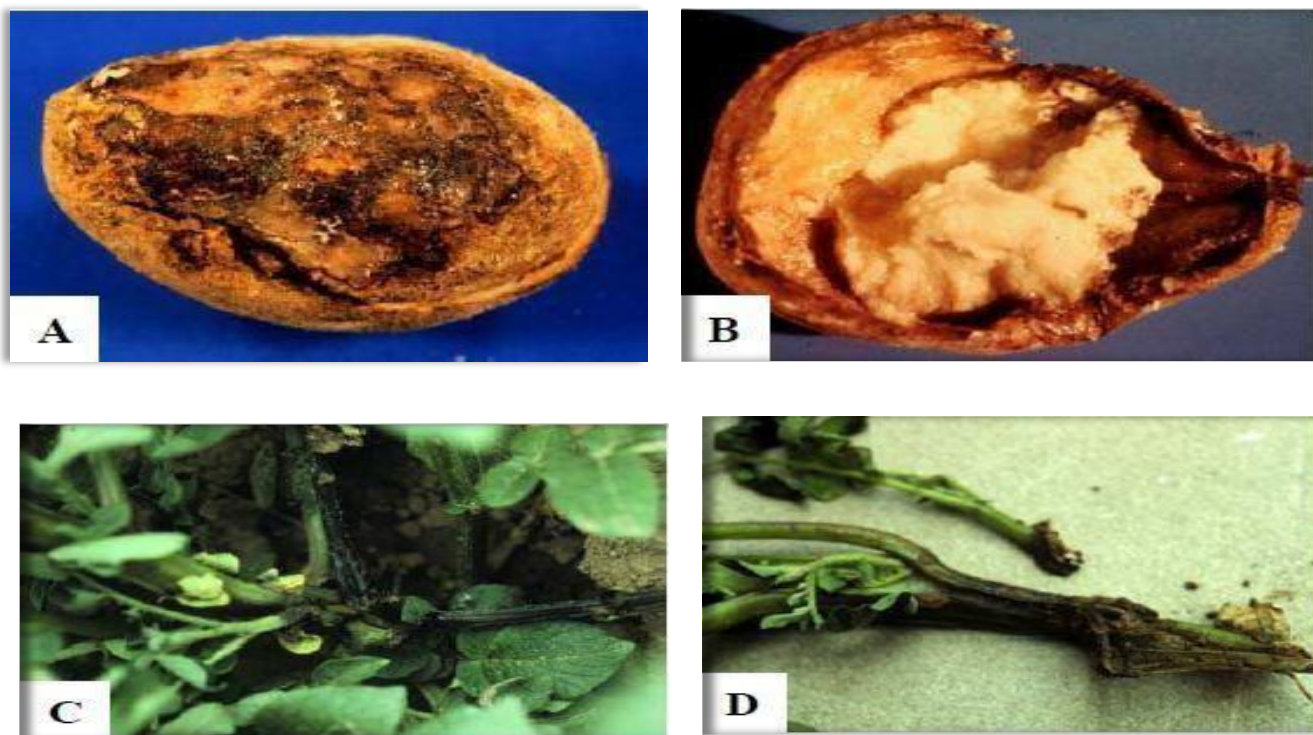


Figure10 : Symptômes des maladies de pourriture molle et jambe noire

A : Macération à l'extérieur du tubercule

B : Symptômes à l'intérieur du tubercule (Howard et al., 1994).

C et D : Jambe noire à la base des tiges (Grisson,1983).

III-3 Cycle de développement de pourriture molle bactérienne

Les bactéries provoquant la pourriture molle sont pectolytiques-saprophytes et ont donc un métabolisme complexe utilisant des plantes vivantes ou mortes (**Pérombelon,2002**).

La pourriture molle des tubercules et la jambe noire sont souvent déjà associées au champ. les tubercules atteints tôt peuvent être complètement détruits jusqu'à la récolte. Selon le mode de contamination, la pourriture débute au bout du stolon ou aux lenticelles(figure 11). 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 répendent 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 (**Yahiaoui- Zaidi, 2004**).

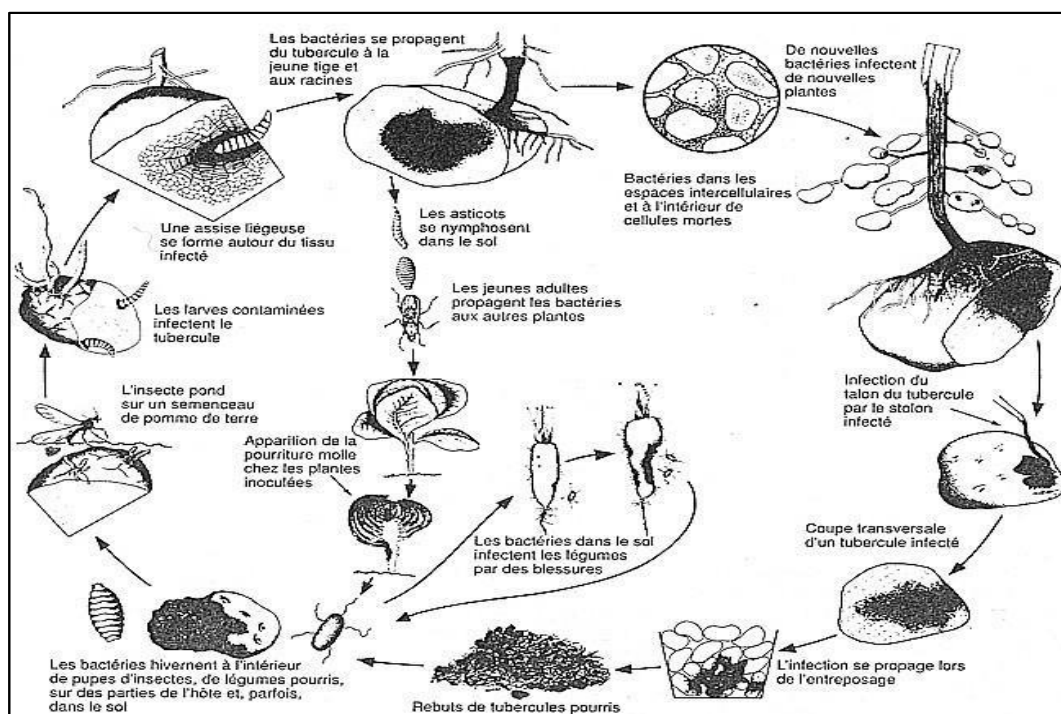


Figure 11 : cycle de développement de pourriture molle (**Howard et al.,1994**)

III-4 Les Symptômes

III-4-1 Symptômes sur les parties aériennes

Les symptômes causés par les *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. Pectinolytiques s'expriment en végétation et/ou en conservation. L'apparition et la nature des symptômes dépendent essentiellement des conditions environnementales (température, humidité).

Le symptôme le plus typique est celui de la jambe noire, variant d'une pourriture humide brun foncé à noire de la base des tiges à des nécroses plus ou moins sèche (figure 12), elle est provoquée par les bactéries, qui, après avoir attaqué le tubercule mère, en va hissent et dégradent une ou plusieurs tiges grâce à leur activité pectinolytiques (Pérombelon et Kelman, 1987).

Dans certains cas, seules des nécroses interne s éventuellement doublées d'un phénomène des tige creuse » se développent (Hélias, 2008).

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



Figure 12 : Symptôme de jambe noire, variant de pourritures humides brun foncé à noire de la base des tiges à des nécroses plus ou moins sèches et/ou tiges creuses
A : Flétrissement et jaunissement du feuillage **B** : Pourriture molle de la tige
C : nécroses sur tige (Hélias, 2008).

III-4-2 Symptômes sur les tubercules

Les tubercules peuvent également être atteints de symptômes qui se développent en cours de culture ou de conservations ou la forme de pourritures molles et humides souvent nauséabondes (**Hélias, 2008**). La maladie est provoquée par les trois bactéries (*Pba*, *Pcc* et *Dickeya spp.*) Qui peuvent agir séparément ou simultanément (**Perombelon, 2002 ; Toth et al., 2003 ; Van Der Wolf et Deboer 2007**).

Des petites tâches diffuses d'aspect graisseux qui commencent généralement par apparaître au tour des lenticelles, des blessures ou du talon. Ensuite elles s'étendent rapidement à l'intérieur du tubercule. La bactérie dégrade les tissus du tubercule provoquant une macération du parenchyme. La pourriture molle de couleur claire brunit jusqu'au noir. Au niveau des tissus du tubercule, la production des poches gazeuses sont à l'origine d'une odeur nauséabonde très prononcée (**Pérombelon et Kelman, 1980**).

Les tissus infectés sont nettement délimités des parties saines. En conditions sèches, les lésions peuvent devenir creuses, dures et sèches.

Dans d'autres cas, l'infection est stoppée et la zone malade. Elle se dessèche en laissant une zone creuse remplie d'une masse de matériel mort, dur et noir.

Des bactéries pectinolytiques variées (*Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*) peuvent être impliquées dans la pourriture des tubercules en conservation, particulièrement lorsque les températures sont élevées, mais les *Pectobacterium spp.* restent les agents les plus fréquents et les plus dommageables (**Hélias, 2008**).

III-5 Méthodes de control

Les principaux facteurs de développement de *Pectobacterium spp.* et *Dickeya spp.* sont l'humidité et les conditions asphyxiantes qui favorisent leur multiplication et leur dissémination. La lutte phylactique contre ces pathogènes concerne toutes les étapes de la culture de pomme de terre (**Hélias, 2008**).

5-1-Pratiques culturales et sanitaires

- ✓ Eviter les conditions de culture humides qui influencent les niveaux de contamination par l'intermédiaire des lenticelles (**Hélias et al., 2000**).
- ✓ Utilisation de matériel axénique et d'équipement agricole propre

Chapitre II Généralités sur les bactéries pectinolytiques

- ✓ L'utilisation de plants certifiés selon des normes strictes de qualité sanitaire est indispensable. (Hélias,2008).
- ✓ Se débarrasser des plantes infectées, pour éviter les contaminations (Elphinstone et Pérombelon, 1986).
- ✓ Éviter l'irrigation excessive de la culture prévient le développement de conditions anaérobiques dans le sol. Une fertilisation raisonnée sans excès d'azote est par ailleurs recommandée (Hélias,2008).
- ✓ Récolter à maturité et avec beaucoup de soins en évitant les blessures qui constituent autant de portes d'entrée (Pérombelon et Kelman, 1980).
- ✓ Il est important de minimiser les blessures des tubercules dues à la mécanisation de la récolte à la mise conservation. Éviter de récolter en conditions humides permet en outre de réduire les contaminations lenticellaires lors du brassage des tubercules (Hélias,2008).

5-2-Lutte chimiques

- ✓ Un composé chimique : le 5-nitro-8-hydroxyquinoline est capable de diminuer l'incidence de pourriture molle sur les tubercules fraîchement blessés (Harris, 1979).
- ✓ La poudre blanchissante stable (SBP) qui contient 35 % de chlore est testée pour son efficacité dans le contrôle de la jambe noire et de la pourriture molle
- ✓ Fertilisation par le chlorure et le sulfate de potassium (Davenport et Bentley, 2001).
- ✓ 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).

5-3-Lutte biologique

- ✓ *Pectobacterium betavasculorum* produit des antibiotiques qui répriment la croissance de *P. carotovorum* au niveau des blessures des tubercules (Costa et Ioper, 1994).
- ✓ Certains bactériophages possèdent un pouvoir inhibiteur sur *P. carotovorum* (Bahi et al., 2005).
- ✓ Amélioration de la résistance de pomme de terre aux *Eca* par expression du lysozyme T4 sur tubercules (Lottmann et al., 2000).
- ✓ Action et efficacité des antibiotiques produits par *Bacillus subtilis* sur *P. carotovorum*.

Partie Experimentale

La partie expérimentale de notre mémoire n'a pas pu être réalisée en raison des conditions de confinement liées à la pandémie du COVID -19. Pour ces raisons, notre mémoire s'est concentré sur l'analyse d'articles scientifiques.

Analyse d'article

Article 1

I- Présence de bactéries pectinolytiques causant la jambe noire et la pourriture molle de la pomme de terre au Kenya

I-1 Résumé

La pomme de terre (*Solanum tuberosum*) est la deuxième culture la plus importante après le maïs au Kenya et joue un rôle majeur dans la production et la sécurité alimentaire nationale. Malgré son importance, la production est limitée par un certain nombre de facteurs, dont les maladies. Les maladies causées par les bactéries sont une contrainte majeure de la production biotique. La pourriture molle et les maladies de la jambe noire sont considérées comme des contraintes importantes causant des pertes considérables dans de nombreux systèmes de production. Cependant, il existe peu d'informations sur la pourriture molle et la jambe noire dans les systèmes de production de pommes de terre au Kenya. Une enquête limitée a été menée entre septembre et octobre 2016 et entre décembre 2016 et janvier 2017 dans quatre grandes régions de culture de la pomme de terre afin de déterminer l'identité des bactéries pectinolytiques responsables de la jambe noire et de la pourriture molle de la pomme de terre au Kenya. Des tubercules et des tiges présentant des symptômes de jambe noire et de pourriture molle ont été collectés dans 91 exploitations sélectionnées au hasard. L'identification des agents pathogènes a été réalisée à l'aide de méthodes phénotypiques qui impliquaient la culture sur un milieu semi-sélectif, des tests biochimiques, des tests de pathogénicité et des méthodes basées sur l'ADN. Les résultats ont permis d'identifier la présence de *Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum* (6 isolats) dans les quatre régions et de *Pectobacterium wasabiae* (5 isolats) pour la première fois à Elgeiyo Marakwet. L'identité des douze isolats n'a pas pu être précisée et doit donc faire l'objet d'une enquête plus approfondie.

I-2 Méthodes

- Des échantillons de la pomme de terre ont été recueillis à partir de quatre grandes régions productrices de pommes de terre du Kenya. les échantillons présentant des symptômes de

pourriture molle sur les tubercules et des symptômes de la jambe noire sur les tiges ont été collectés pour analyse en laboratoire.

-Les échantillons ont été préparés et cultivés sur un milieu de cristal violet polypectate (CVP) par la suite incubés à 27 ° C pendant 48 h, puis vérifiés la présence de colonies pectinolytiques. La purification des colonies bactériennes a été effectuée par ensemencement d'une seule colonie sur des boîtes pétri contenant de la gélose nutritive stérile en préparant une suspension bactérienne de 10⁷ cellules/ml dans une solution de tampon phosphate à pH 7,4. Chaque isolat a été stocké à 20°C dans 10% de glycérol.

- les tests biochimiques effectués sont : métabolisme oxydatif/fermentatif du glucose ; Oxydase ; catalase avec 3% de peroxyde d'oxygène ; test sucrose et la production d'indole à partir du tryptophane.

-Tests de pathogénicité tels que décrits par **Naqqash et al., (2016)** et **Ismail et Mostafa (2012)**. : Les tubercules de semence certifiés (shangi) obtenus auprès du Centre international de la pomme de terre (CIP), Kenya, ont été stérilisés avec de l'alcool à 70%, rincés avec de l'eau distillée stérile et coupés de manière aseptique en tranches de 1 cm d'épaisseur. Les tranches de pomme de terre ont été placées dans des boîtes de Pétri stériles contenant du papier filtre stérilisé imbibé de 2 ml d'eau distillée stérile.

Les tests des caractéristiques de la pourriture molle ont été effectués en deux répétitions. Des tranches de pommes de terre ont été inoculées en étalant une colonie bactérienne sur la surface à l'aide d'une anse stérile. Les tranches inoculées ont été maintenues dans des conditions humides et incubées à 27 ° C pendant 5 jours.

Les cultures bactériennes qui produisaient des symptômes caractéristiques de pourriture molle sur des tranches de pomme de terre ont été sélectionnées et retenues comme étant positives.

Pour le test de la jambe noire et de la pourriture de la tige, les tubercules de semence certifiés avec 3 - 5 bourgeons ont été stérilisés avec de l'alcool à 70% et rincés avec de l'eau distillée stérile. Les tubercules ont été piqués avec une aiguille pour créer des blessures infectieuses. Les tubercules blessés ont été trempés pendant 15 min dans des suspensions bactériennes contenant 1x10⁷ cellules/ml. Les tubercules inoculés ont été plantés dans des pots contenant du sol stérile amendé avec de l'engrais au Di-ammonium phosphate (Mavuno®) dans des conditions sous serre maintenues à 25 - 30°C pendant 90 jours. L'arrosage des plantes a été effectué 3 jours par semaine. Des observations ont été réalisées pour les symptômes de la jambe noire et de la pourriture molle

dans les 21 jours précédant l'inoculation.

Caractérisation moléculaire :

L'ADN génomique a été extrait de cellules bactériennes en utilisant une méthode d'extraction d'ADN standard telle que décrite par **Sambrook et Russell (2001)**. La quantité et la qualité de l'ADN ont été vérifiées dans un gel d'agarose à 0,8%. Des amplifications utilisant la PCR conventionnelle ont été effectuées pour identifier davantage les isolats qui étaient devenus positifs par des méthodes phénotypiques. Les réactions ont été effectuées avec des concentrations finales telles que décrites par **Pritchard et al. (2012) et Kim et al. (2012)** avec des amorces pour (EXPCCF / EXPCCR), *Pectobacterium wasabiae* (PW7011F / PW7011R) et *Dickeya* spp. (ADE1 / ADE) et BRIF / LIR pour *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Brasiliense* 2).

Les profils Thermiques utilisés tels que décrits par **Pritchard et al., (2012)**, en utilisant un ABI GENE Thermocycler ®. Toutes les amorces proviennent d'Inqaba Biotech, en Afrique du Sud. Une aliquote de 5 µl issus des produits de PCR amplifiés, a été coloré avec GelRed® (10000 unités), les produits sont séparés sur 1,5% (w / v) gel d'agarose dans 1x tampon Tris Borate EDTA. Les produits ont été visualisés sous Gel Doc-It Imaging system® (800) 452 - 6788, Upland -CA, États-Unis.

Les tailles d'amplicon ont été établies par comparaison à une échelle moléculaire standard de 100 pb (Fermentas®).

La RT-PCR pour identification de *Dickeya dianthicola* a été réalisé en utilisant un apprêt et une sonde spécifique pour *Dickeya dianthicola* (DIA-A F / DIA-ARDIA-A P) comme décrit par **Pritchard et al., (2012)**.

la réaction contenait 25 mM de MgCl₂, Mélange dNTP 10 mM, 5 µ M amorces avant et arrière, 5 µ Sonde M, 0,63 U ADN polymérase (AmpliTaq® Gold) et 50 ng / ul de matrice. Les conditions de réaction ont été fixées à une phase de dénaturation de 10 min à 95 ° C et 40 cycles de PCR de 15 s à 95 ° C suivis de 60 s à 60 ° C (**Pritchard et al., 2012**) dans le détecteur de séquence Realplex Eppendorf AG® (Allemagne) utilisant la TaqMan.

I-3 Résultats

Un total de 91 échantillons a été collectés sur le terrain, présentant des symptômes typiques de la jambe noire, de la pourriture molle des tubercules ou de la pourriture de la tige (Figure 13 et 14)

Analyse d'article

Les bactéries pectinolytiques sécrètent des enzymes efficaces de dégradation de la paroi cellulaire (Pritchard et al., 2012), responsable de la macération des tissus qui donne généralement des caractéristiques d'aspect imbibé d'eau, visqueux et pourri de la plante infectée ainsi que la coloration noire du tubercule mère jusqu'à la tige.

les échantillons ont montré ces symptômes sur le terrain (Figure 13) tandis que les tubercules infectés étaient mous, aqueux avec une masse pourrie (Figure. 14).



Figure 13 : Symptômes de la jambe noire sur les tiges des plants de pommes de terre dans les champs



Figure 14: Symptômes de pourriture molle les tubercules dans les champs de pommes de terre.

Analyse d'article

Des tests biochimiques ont été effectués pour caractériser davantage les isolats et pour séparer le putatif *Pectobacterium* spp. et le *Dickeya* spp. Les résultats ont montré que neuf isolats ne produisaient pas d'indole et pourraient appartenir au genre *Pectobacterium* et 12 isolats étaient indole positifs, indicatifs au genre *Dickeya* bien que *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Brasiliense* les souches peuvent également être indole positives (Lee et al., 2014). Selon Dickey (1978), les bactéries pectinolytiques sont négatives pour l'oxydase car elles manquent d'enzyme cytochrome oxydase qui catalyse le transport d'électrons entre les donneurs dans les bactéries et un colorant redox-tétra-méthyl-p-phénylène-diamine pour produire une couleur violette, mais peut varier sur l'indole et d'autres tests. Plus *Pectobacterium* spp. et les souches sont négatives pour l'indole. Ils n'ont pas l'enzyme tryptophanase qui décompose l'acide aminé tryptophane en indole. *Dickeya* spp. et certaines *PC* subsp. *Brasiliense* les souches sont indole positives car elles contiennent l'enzyme tryptophanase (Ma et al., 2007 ; Lee et Yu 2006 ; Lee et coll, 2014).

Les 26 isolats positifs aux tests de pourriture des tranches (Figure 17) dont les 12 qui présentaient des symptômes de la jambe noire et de la pourriture de la tige (Figure 18) ont été soumis à une PCR conventionnelle pour une identification plus approfondie. Six isolats (23%) amplifiés avec succès avec la paire d'amorces EXPCCF / EXPCCR pour produire l'amplicon attendu de 550 pb de *PC* subsp. *carotovorum* tandis que cinq (19%) amplifiés avec des amorces PW7011F / PW7011R pour produire l'amplicon attendu de 140 pb pour *PC* subsp. *wasabiae* (Figure 15).

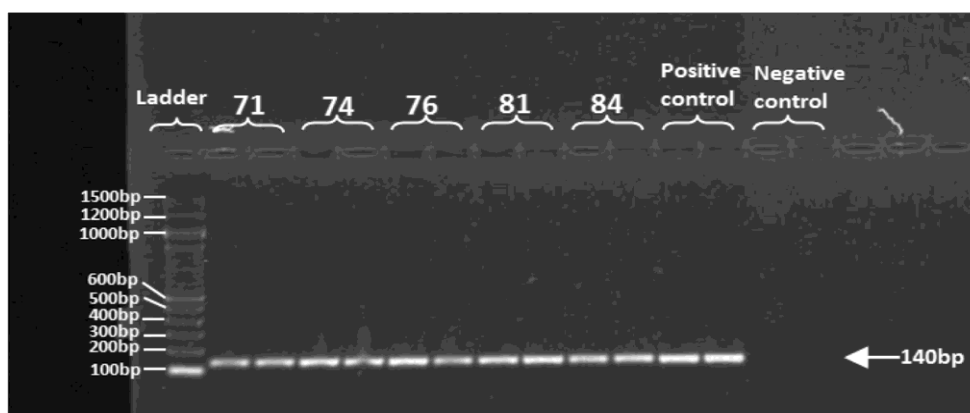


Figure 15 : Amplification par PCR de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Wasabiae* ; 71, 74, 76, 81, 84 sont des échantillons d'Elgeiyo Marakwet. Tailles de bande comparées à une échelle de 100 pb. les isolats ont donné la taille attendue de 140 pb.

Cependant, nous n'avons pas pu confirmer en utilisant l'ensemble d'amorces disponible le groupe de 12 isolats qui étaient indole positif comme potentiel *Dickeya spp.* (*E. chrysanthemi*) ou *Pectobacterium carotovorum* les bactéries pectinolytiques sont négatives pour l'oxydase car elles manquent d'enzyme cytochrome oxydase qui catalyse le transport d'électrons entre les donneurs dans les bactéries et un colorant red ox-tétra-méthyl-p-phénylyne-diamine pour produire une couleur violette, mais peut varier sur l'indole et d'autres tests. Plus *Pectobacterium spp.* et les souches sont négatives pour l'indole. Ils n'ont pas l'enzyme tryptophanase qui décompose l'acide aminé tryptophane en indole. *Dickeya spp.* et certaines *PC subsp. Brasiliense* les souches sont indole positives car elles contiennent l'enzyme tryptophanase (Ma et al., 2007 ; Lee et Yu 2006 ; Lee et coll,2014). positifs aux tests de pourriture des tranches (Figure. 17) dont les 12 qui présentaient des symptômes de la jambe noire et de la pourriture de la tige (Figure.16) ont été soumis à une PCR conventionnelle pour une identification plus approfondie. Six isolats (23%) amplifiés avec succès avec la paire d'amorces EXPCCF / EXPCCR pour produire l'amplicon attendu de 550 pb de *PC subsp. carotovorum* tandis que cinq (19%) amplifiés avec des amorces PW7011F / PW7011R pour produire l'amplicon attendu de 140 pb pour *PC subsp. wasabiae* (Figure 15). Cependant, nous n'avons pas pu confirmer en utilisant l'ensemble d'amorces disponible le groupe de 12 isolats qui étaient indoles positifs comme potentiel *Dickeya spp.* (*E. chrysanthemi*) ou *Pectobacterium carotovorum subsp. brasiliense*.

Une PCR conventionnelle a été réalisée pour ce groupe d'isolats en utilisant *Dickeya* jeu d'amorces génériques ADE1 / ADE2 et BRIf / LIr spécifique pour *Pectobacterium carotovorum subsp. brasiliense* (Pritchard et coll, 2012). Hormis le témoin positif (*Dickeya dianthicola* souche GBBC 322), aucun des isolats de ce groupe n'a donné la taille de produit attendue de 420 pb pour *Dickeya spp.*, à la place, les isolats ont produit des bandes comprises entre 1000 et 1500 pb. Sur le test pour *Pectobacterium carotovorum subsp. Brasiliense* tous les douze isolats étaient également négatifs. Réisolement des agents pathogènes des plantes hôtes et des tranches de pomme de terre qui avaient est devenu positif pour *P. carotovorum* et *P. wasabiae* était fait pour identifier l'agent causal spécifique de la maladie de la jambe noire et de la pourriture molle dans ces échantillons de pomme de terre. Toutes les bactéries réisolées ont été testées par PCR conventionnelle comme décrit par Pritchard et coll, (2012) et des tests biochimiques tels que décrits par Pérombelon (2002).

Les six échantillons qui étaient auparavant devenus positifs pour *P. carotovorum* sont restés positifs pour ce test tandis que les cinq qui étaient devenus positifs pour *P. wasabiae*

Analyse d'article

est également resté positif pour ce test. Ces isolats étaient également positifs aux tests O / F mais négatifs aux tests indole et oxydase. Les résultats combinés des tests phénotypiques et basés sur l'ADN montrent que des bactéries pectinolytiques positives pour l'indole sont présentes au Kenya, mais leur identité doit être étudiée plus avant. Les résultats de notre étude sont en ligne avec les résultats de **Onkendi et coll, (2014)** cette *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* est le principal agent pathogène trouvé dans les pommes de terre touchées par la jambe noire et la pourriture molle au Kenya. On estime que cette maladie bactérienne représente jusqu'à 1/4 des pertes annuelles de pommes de terre (**Onkendi et al., 2014**). Notre étude par les résultats phénotypiques (test indole) peut indiquer que les bactéries pectinolytiques virulentes sont répandues et ne font probablement pas partie du genre *Pectobacterium*. Il faut toutefois préciser que certaines souches de PC subsp. *Brasiliense* sont également positives à l'indole (**Lee et al., 2014**), nécessitant une étude plus approfondie de ces isolats (Figure 16 et 17).



Figure 16 : Essais en pot.

- 1 : plantes non infectées servant de témoins négatifs ; les plantes sont restées saines pendant les 90 jours entiers.
- 2, tubercule de semence infecté avec le témoin positif PD 1006 ; la plante est morte dans les 21 jours.
- 3, 4, 5, graine tubercules infectés par des colonies de culture pure d'Elgeiyo Marakwet les plantes présentaient des symptômes de pourriture molle et de pourriture noire de la base vers le haut dans les 21 jours

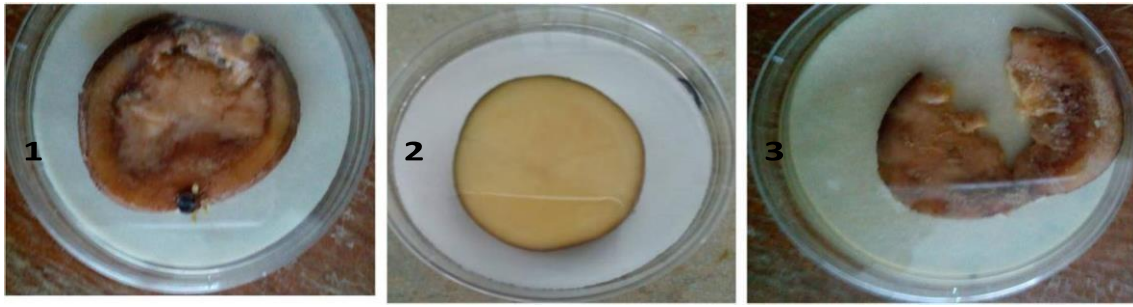


Figure17 : Trancher les essais de pourriture. 1, tubercule de semence infecté avec une colonie de culture pure provenant des échantillons du marché Elgeiyo. 2, tubercule de semence sain utilisé comme contrôle négatif. 3, tubercule infecté avec Pcc contrôle positif numéro de souche PD 1006. La pourriture a été observée dans les 72 h

I-4 Conclusion

En conclusion, l'étude a identifié *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* principal agent causal de la jambe noire et pourriture molle de la pomme de terre. Ce pathogène ainsi que *P. carotovorum* subsp. *Brasiliense* sont connus pour se produire dans Kenya (**Onkendi et al., 2014**). Nous avons également pu découvrir pour la première fois *P. carotovorum* subsp. *wasabiae* causant des symptômes de jambe noire et de pourriture molle au Kenya. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* a été trouvé dans les quatre régions tandis que *P. carotovorum* subsp. *wasabiae* n'a été trouvé qu'à Elgeiyo Marakwet. Des souches pectinolytiques positives pour l'indole ont été trouvées dans les quatre régions, leur identité exacte nécessite une étude plus approfondie ainsi que leurs mécanismes de survie et de virulence. De plus, l'analyse séquentielle de PEL gènes comme gènes domestiques (**Darrasse et al., 1994**) doit être fait pour finaliser et confirmer leurs identifications.

Article 2

II- Sensibilité de la pomme de terre aux pourritures de tiges provoquées par *Dickeya* spp

II-1-Résumé

Dickeya dianthicola et '*Dickeya solani*' sont les bactéries qui posent le plus de problèmes en production de plants de pommes de terre en Suisse. Elles provoquent au champ des symptômes de pourritures aériens de tiges communément appelées jambes noires. L'étude présentée ici a deux objectifs principaux : d'une part étudier la sensibilité à *Dickeya* spp. des variétés Agria, Victoria, Charlotte, Innovator, Arinda et Lady Claire, et d'autre part, étudier l'agressivité de trois isolats de *D. dianthicola* et trois isolats de '*D. solani*' sur la variété Agria. Pour cela, des essais en pots ont été mis en place en serre. La variété Agria semble plus sensible au développement de pourriture de tiges que les autres variétés testées. Les isolats les plus agressifs de '*D. solani*' ne sont pas plus virulents que les isolats de *D. dianthicola* les plus agressifs testés. L'agressivité des isolats de *D. dianthicola* semble plus variable que celle des '*D. solani*'. Enfin, le risque de développement de symptômes sur les tiges lié aux isolats de *Dickeya* spp. semble plus important que celui lié à la variété. En effet, la variété la plus sensible développe six fois plus de symptôme que la variété la moins sensible, tandis que l'isolat le plus agressif développe 40 fois plus de symptôme que l'isolat le moins agressif.

II-2-Méthodes

Le premier essai (A) porte sur la sensibilité variétale de six variétés : Agria, Victoria, Charlotte, Innovator, Arinda et Lady Claire. Cet essai est mené en serre et a été répété deux fois (essais A1 et A2). Vingt tubercules de chaque variété sont inoculés par trempage avec l'isolat *Dickeya dianthicola* 8823 à la concentration 10⁶ ufc/ml et chaque tubercule est ensuite planté en pot. Pour chaque variété, 20 plants servent de témoin et sont trempés dans de l'eau.

Le second essai (B), porte sur l'agressivité des isolats de *Dickeya* spp. six isolats de bactéries sont testés sur la variété de pommes de terre Agria à une concentration de 10⁶ ufc/ml :

Analyse d'article

Dickeya dianthicola 980, *Dickeya dianthicola* 8823, *Dickeya dianthicola* 12, '*Dickeya solani*' 2222, '*Dickeya solani*' 05026 et '*Dickeya solani*' 07044. Cet essai a également été mené en serre et répété à deux reprises (essais B1 et B2), 20 pots sont mis en place pour chacun des isolats ainsi que pour le témoin. L'inoculation des plants se déroule sur une période de 48 h et en 4 étapes : trempage dans l'eau pendant deux heures, ouverture des lenticelles pendant 22 heures (humidité relative proche de 100 % à 25 °C), trempage dans la suspension bactérienne pendant 12 heures et séchage pendant 12 heures. Cette méthode présente l'avantage de permettre l'inoculation d'un grand nombre de tubercules en un temps relativement court. Dès l'apparition des premiers symptômes de jambe noire, deux observations par semaine sont effectuées à chaque observation, le pourcentage de tiges infectées est calculé. Enfin, un calcul de l'aire sous la courbe de Progression de la maladie (AUDPC.rel). Nous avons utilisé la transformation angulaire afin que les données de pourcentages de tiges infectées satisfassent aux conditions d'application de l'analyse de la variance (ANOVA) Le logiciel statistiques (Statsoft , Tulsa, USA) est utilisé pour l'analyse statistique.

Pour chaque essai, une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs est réalisée. Le premier facteur correspond à la répétition de l'essai dans le temps. Le second facteur est la variété pour le premier essai et l'isolat de *Dickeya* spp. pour le deuxième essai. L'interaction entre les deux facteurs est également testée. S'il y a présence d'une différence significative ($p < 0,05$), un test de Newman et Keuls (comparaison de moyennes) s'ajoute à l'analyse.

II-3 Résultats

Les plantes des pots témoins n'ont pas développé de pourritures des tiges. Cela indique que les lots de tubercules utilisés sont sains et exclut tout développement de symptômes issus d'infections naturelles dans l'expérience.

Après analyse de l'aire sous la courbe de développement de la maladie aucune différence de sensibilité variétale n'est observée ($p > 0,05$). donc les différences d'expression de symptômes entre variétés sont trop faibles pour être détectées (AUDPC.rel ; figure 18).

Analyse d'article

Les observations des courbes de développement des symptômes au cours du temps indiquent que certaines variétés développent leurs symptômes tardivement, c'est particulièrement le cas d'Agria dans l'essai A2 (figure.18). Les écarts les plus importants entre la variété la plus et la moins sensible sont obtenus le dernier jour d'observations, respectivement 23 jours après levée pour l'essai A1 et 20 jours après levée pour l'essai A2. L'ANOVA réalisée sur ces données permet de mettre en évidence des différences de sensibilité entre variétés ($p < 0,001$). Aucune interaction entre l'essai et les variétés testées n'a été observée ($p > 0,05$).

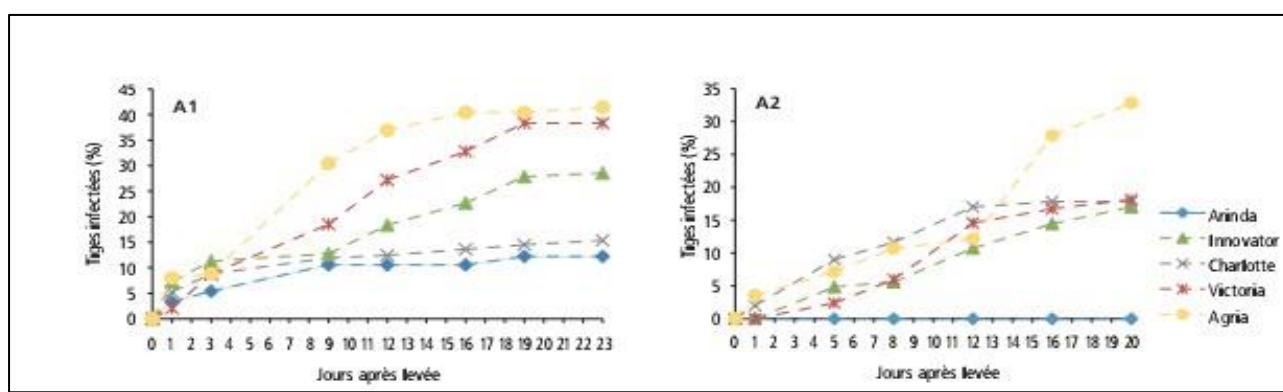


Figure 18 : Evolution du pourcentage de tiges présentant des symptômes de pourritures aériennes dans les essais A1 et A2 d'étude de la sensibilité des variétés à *Dickeya* spp

Agria s'est montrée en moyenne six fois plus sensible qu'Arinda, avec 37,4 % de tiges infectées contre 6,1 % pour Arinda. Entre ces deux extrêmes, on trouve Charlotte (16,6 % de tiges infectées) et Lad y Claire (17,3 %), ainsi qu'Innovator (22,6%) et Victoria (27,7 %) (figure 19)

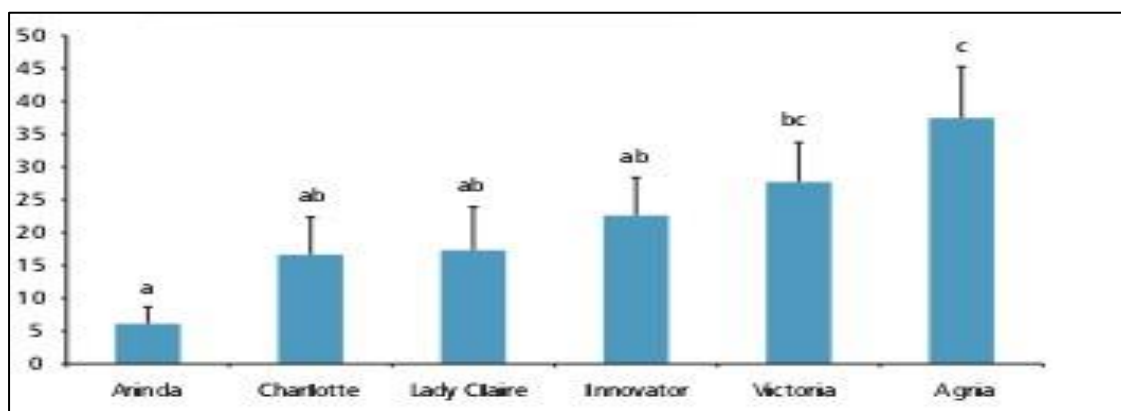


Figure 19 : pourcentage maximum de tiges infectées par variété (moyennes des essais A1 et A2). La variabilité est représentée par l'air standard et les groupes d'homogénéité sont représentés par des lettres minuscules au sommet des barres d'erreurs

Essai B : agressivité des isolats

L'analyse des données d'AUDPC.re1, indique une différence d'agressivité entre les isolats de *Dickeya* spp. testés ($p < 0,001$). Cependant, une interaction entre la variété et la répétition de l'essai est apparue ($p < 0,001$). L'isolat *D. dianthicola* 8823 semble être responsable de cette interaction car lorsqu'on le soustrait de l'ANOVA, l'interaction disparaît ($p > 0,05$). Cet isolat a en effet développé significativement moins de symptômes dans l'essai B1 que dans l'essai B2. La différence observée pourrait avoir pour origine une mauvaise conservation de l'échantillon de la souche utilisée dans le cadre de l'essai B1. Cet isolat ne sera donc plus pris en compte dans l'analyse statistique.

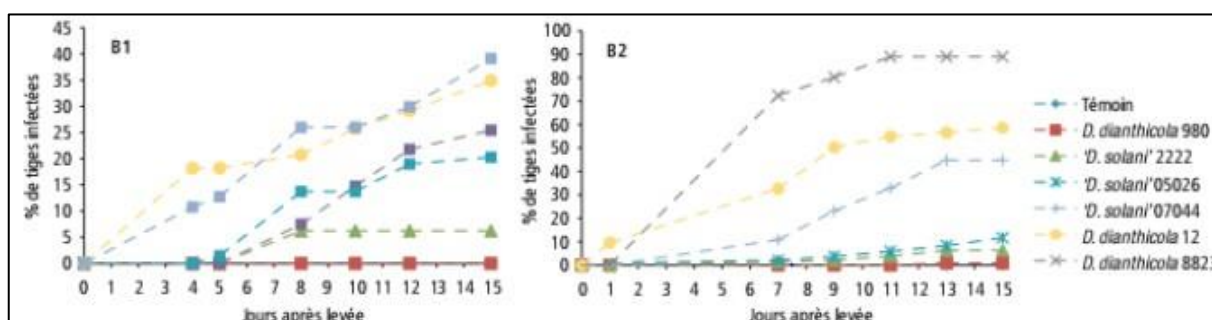


Figure 20 : Essai B1 et B2 : évolution du pourcentage de tiges présentant des symptômes de pourritures aériennes dues aux différents isolats testés.

Si, comme pour l'essai de sensibilité variétale, on analyse les données correspondant au jour où les écarts entre isolats sont les plus importants (15 jours après levée), on observe également des différences significatives entre isolats ($p < 0,01$). Les isolats *D. dianthicola* 980, '*D. solani*' 2222 et *D. dianthicola* 05026 sont moins agressifs que '*D. solani*' 07044 et *D. dianthicola* 12 (figure.22). La différence d'agressivité entre isolats d'une même espèce est plus grande pour les isolats de *D. dianthicola* (*D. dianthicola* 12 est 40 fois plus agressive que *D. dianthicola* 980) comparée aux isolats de '*D. solani*' ('*D. solani*' 07044 est six fois plus agressive que '*D. solani*' 2222).

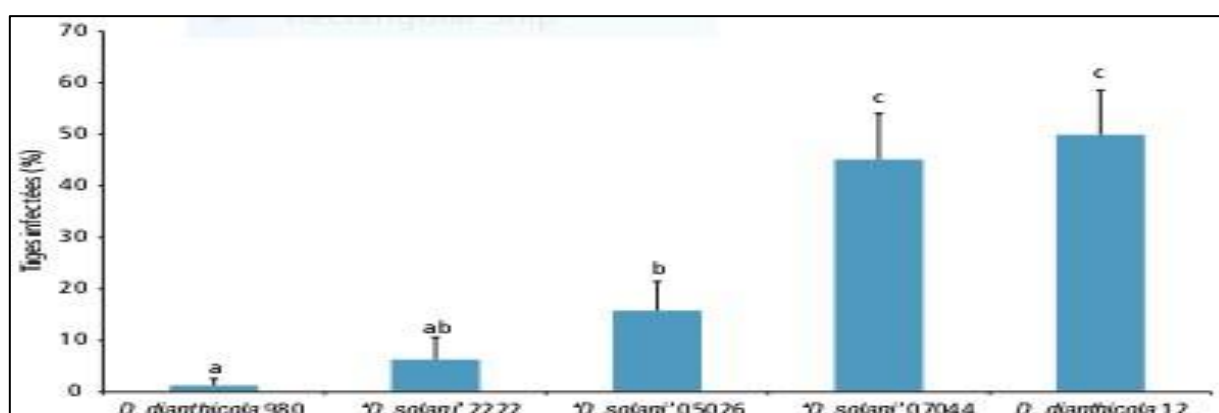


Figure 21 : Pourcentage maximum de tiges infectées par isolat (moyennes des essais B1 et B2). La variabilité est représentée par l'erreur standard et les groupes d'homogénéité sont représentés par des lettres minuscules au sommet des barres d'erreurs

II-4 Discussion

Cet essai a permis de démontrer l'existence de différences de sensibilité variétale au développement de jambe noire provoquée par *Dickeya* spp.

La variété Agria semble plus sensible au développement de pourriture de tiges que les autres variétés testées. Les variétés Charlotte et Lady Claire parmi les variétés les moins sensibles testées dans ces essais. Charlotte est la première variété à chair ferme produite en Suisse avec 14 % des surfaces plantées et Lady Claire la première variété type « chips » avec 4 % des surfaces de pommes de terre cultivées en Suisse (Hebeisen et al., 2012 ; Swisspatat 2013).

Les essais ont également mis en évidence des différences d'agressivité entre les isolats de *Dickeya* spp. Contrairement à ce que mentionne la littérature (Toth et al., 2011), les isolats de '*D. solani*' ne sont pas systématiquement plus virulents que les isolats de *D. dianthicola*. En effet, parmi les souches les plus agressives étudiées dans ces essais, on trouve à la fois des isolats de *D. dianthicola* et de '*D. solani*'. On observe par ailleurs une agressivité beaucoup plus variable au sein des isolats de *D. dianthicola* comparé aux isolats de '*D. solani*'.

Cette différence peut s'expliquer par le fait que '*D. solani*' apparait comme étant « clonal », c'est à dire avec une variabilité génétique plus restreinte que *D. dianthicola* (Bourget 2012 ; Czajkowski et al., 2012 ; Pritchard et al., 2012). Cette variabilité génétique plus importante observée chez les isolats de *D. dianthicola* pourrait également concerner les gènes impliqués dans les mécanismes de développement des pourritures, ce qui expliquerait les importantes différences d'agressivité observées.

Enfin, en comparant les résultats obtenus dans le cadre des essais de sensibilité variétale et d'agressivité d'isolats, on constate que les différences d'agressivité sont beaucoup plus importantes entre isolats qu'entre variétés. En effet, si on se réfère au pourcentage de pourriture maximal obtenu, la variété la plus sensible développe six fois plus de symptômes sur tiges que la variété la moins sensible, tandis que l'isolat le plus agressif développe 40 fois plus de symptômes sur tiges que l'isolat le moins agressif.

Ceci indique que le risque variétal de développement de symptômes est inférieur au risque lié à l'isolat de bactérie.

Cette étude ouvre différentes perspectives. D'une part, il serait pertinent de savoir si la réponse des variétés et des isolats est équivalente dans le cadre d'essais menés au champ. D'autre part, il serait également intéressant de déterminer s'il existe une interaction entre la variété et l'agressivité des isolats.

II-5-Conclusion

La sélection par les agriculteurs de la variété de pomme de terre la moins sensible aux *Dickeya* spp est essentielle pour réduire le risque de développement des symptômes de pourriture de tige. Si les résultats de sensibilité variétale obtenus par des essais au champ

Analyse d'article

devaient être comparables aux résultats obtenus en serre, ces derniers représenteraient une alternative plus rapide et moins coûteuse pour déterminer la sensibilité des variétés.

Article 3

III-Pomme de terre: l'Empire *Pectobacterium* contre -attaque

III-1 Résumé

La maladie de la jambe noire de la pomme de terre est provoquée par plusieurs espèces et sous-espèces de bactéries pectinolytiques. Jusqu'en 2012, les espèces apparentant au genre *Dickeya* étaient à l'origine de la plupart des symptômes observés en Suisse. Deux nouvelles espèces ont été identifiées comme étant responsables de certains cas de jambe noire en Suisse durant l'année 2013. Il s'agit de *Pectobacterium wasabiae* et *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Brasiliense*. La première espèce étant déjà présente en Europe, sa découverte en Suisse ne constitue de ce fait pas une surprise. La deuxième n'était pas encore identifiée en Europe avant 2013, mais des isolats datant des années 1988 et 1999 ont été décelés subséquemment dans la collection bactérienne de l'Agroscope. Cette sous-espèce *P. c.* subsp. *Brasiliense* a déjà provoqué des dégâts au champ en 2014, et était, à elle seule, responsable de 80 % des cas de jambe noire analysés au laboratoire. De plus, la saison 2014 a permis l'observation de symptômes atypiques de jambe noire, qui peuvent porter à confusion lors des visites culturelles.

III-2 Matériels et méthodes

Les plantes de pomme de terre présentant des symptômes de jambe noire (pourriture de la tige) ont été coupées sous la base de la tige et envoyées au laboratoire. Les tiges ont ensuite été lavées à l'eau et coupées transversalement au moyen d'un scalpel stérile. Un échantillon de 4 – 5 mm de tissu infecté situé dans la zone entre tissu sain et malade a été déposé dans un tube stérile contenant 1,5 ml de tampon phosphate (PBS).

Après 10 minutes d'agitation, un prélèvement a été effectué à l'aide d'une anse stérile suivi d'un étalement, sous flux laminaire, dans une boîte de Pétri contenant du milieu CVP (Crystal Violet Pectate) (Hélias et al, 2012). Une incubation de 2 jours à 28 °C a permis aux bactéries pectinolytiques de se multiplier et, se nourrissant de la pectine contenue dans le milieu, de creuser des cavités dans la gélose (figure. 22). Les colonies ayant creusé le milieu ont pu être repiquées sur milieu nutritif standard (King's B ou Nutrient Agar). espèces apparentées et d'origines géographiques diverses (figure.23). On y remarque que les souches de *P. c.* Subsp. *brasiliense* sont très proches des cavités dans la gélose (figure. 22).

Analyse d'article

Les colonies ayant creusé le milieu ont pu être repiquées sur milieu nutritif standard (King's B ou Nutrient Agar).

La détermination des souches bactériennes s'est faite par PCR en prélevant directement un peu de crème bactérienne. L'utilisation d'amorces spécifique a permis l'identification des espèces bactériennes mentionnées précédemment (figure.23). Par la suite, le séquençage d'une partie des gènes constitutifs *acnA*, *gapA*, *icdA*, *mdh*, *mtlD*, *pgi* et *proA* de ces souches a été réalisé (GenBank Accession Nos. KM017537 -KM017552, KP027692 -KP027735, KP404135 -KP404148). Ce séquençage a permis une comparaison du profil de ces souches avec celui d'autres souches bactériennes connues et référencées dans la banque de données informatiques GenBank, ce qui a permis d'établir un arbre phylogénique (figure 24) au moyen du logiciel MEGA5.

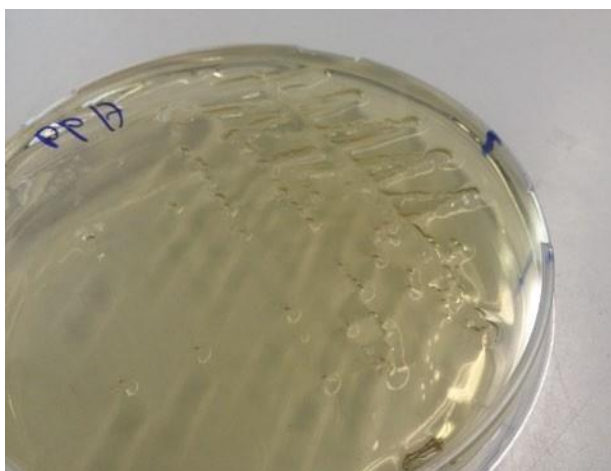


Figure 22 : colonies de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* creusant sur milieu CVP

Afin de mettre en évidence la pathogénicité de ces deux nouvelles souches, une expérience d'inoculation artificielle en chambre de culture a été conduite (figure.25) Dix plantules en pot de la variété Markies ont été infectées par injection de 100 µl de suspension bactérienne (10⁶ CFU/ml) à la base de la tige (figure. 25). Une partie des plantes a également été inoculée avec un isolat de *Dickeya solani* pour comparaison. Les plantes témoins ont été inoculées avec 100 µl d'eau. Les plantes ont ensuite été incubées dans une chambre de culture (25 °C et 80 % d'humidité relative), avec arrosage régulier. Après 20 jours de croissance, les plantes sont contrôlées pour des symptômes

Analyse d'article

de pourriture. A un but illustratif uniquement, les souches anciennes *P.c. subsp. brasiliense* ACW88/157 – 2 et 99/39 – 31-1 ont été inoculées sur tranches de pomme de terre, pour en observer le développement de pourriture humide (figure.28).

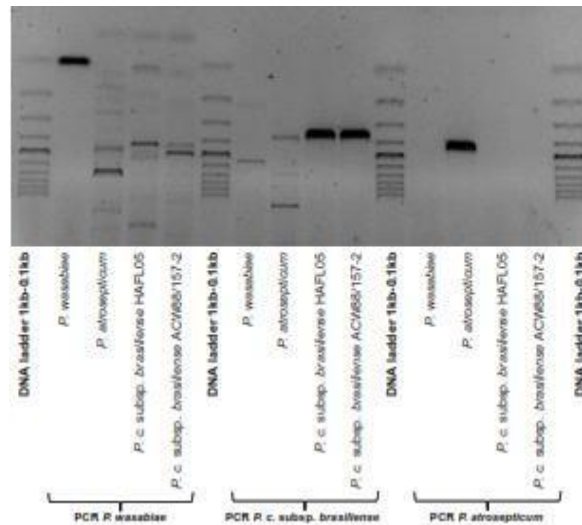


Figure 23 : Gel d'électrophorèse de trois PCR amplifiant spécifiquement *P. wasabiae* (100 bp), *P. c. subsp. brasiliense* (377 bp) *P. atrosepticum* (400 bp). Lorsque les amorces PCR pour *P. wasabiae* et *P. c. subsp. brasiliense* ne trouvent pas l'ADN correspondant pour l'hybridation, il y a amplification non-spécifique de bandes d'ADN de longueurs diverses.

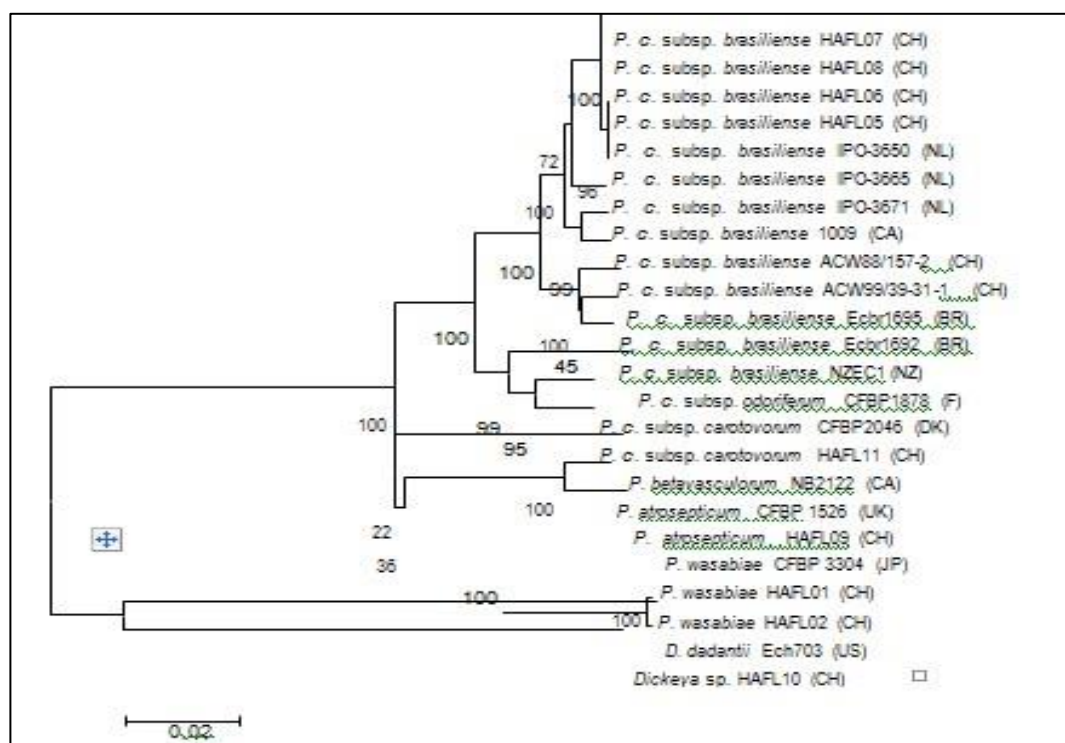


Figure 24 : Arbre phylogénique de ressemblance maximale obtenu par la méthode de neighbor joining des parties de séquences de sept gènes constitutifs de différentes souches de *Pectobacterium* sp. et *Dickeya* sp. Les bactéries sont désignées par leur nom taxonomique la désignation de la souche ainsi que le pays de provenance, abrégé entre parenthèses. Les séquences des souches non indigènes ont été obtenues dans la banque de données GenBank. L'arbre optimal avec la somme de la longueur des branches (= 0,5522) est représenté. Le pourcentage de la valeur du test de bootstrap est indiqué à côté de chaque branche.

III-3 Résultats et discussion

Identification des nouvelles espèces bactériennes :

L'identification par PCR (figure. 23) et par séquençage (figure. 24) des nouvelles souches isolées en Suisse en 2013 et 2014 confirme leur appartenance à l'une ou l'autre des espèces décrites précédemment, à savoir *Pectobacterium wasabiae* et *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* (de Werra et al., 2015). L'apparition de *P. c. subsp. brasiliense* en Suisse en 2013 fut très inattendue car cette souche n'était pas encore annoncée en Europe. Le séquençage de certains gènes a permis une analyse plus fine de leur filiation dans un arbre phylogénique regroupant de nombreuses autres

Analyse d'article

génétiq̄uement de *P. c.* subsp. *carotovorum*. Parmi les souches de *P. c.* subsp. *brasiliense*, les souches suisses sont plus apparentées à celles des Pays-Bas qu'aux souches du Brésil ou de la Nouvelle -Zélande.

Une analyse moléculaire systématique des isolats en collection à la station Agroscope à Changins a permis de trouver des souches de *P. c.* subsp. *brasiliense* identifiées jusqu'à comme *Pectobacterium* sp. Parmi celles-ci, deux souches isolées sur cv. Ernststolz, en 1988 (souche 88/157 – 2) et en 1999 (souche 99/39 – 31-1) Le profil phylogénétique de ces deux anciennes souches les situe actuellement près des souches européennes. Rien ne permet cependant d'établir un lien de filiation entre ces anciennes souches et celles rencontrées actuellement en Suisse. De même, *P. wasabiae* semble faire partie d'une branche apparentée à *P. atrosepticum*. La souche *P. wasabiae* isolée au Japon diffère aussi légèrement des souches européennes (figure. 24). En Suisse, plusieurs souches ont pu être ainsi réidentifiées : une souche isolée en 1987 sur la variété Ostara (souche 87/83) et la souche Ecc99/3 de 1999, identifiées à l'origine comme *P.c.* subsp. *carotovorum* (anciennement *Erwinia carotovorum* subsp. *carotovorum*) sont en fait des souches de *P. wasabiae*. Ceci démontre que ces espèces bactériennes étaient déjà présentes sur notre territoire depuis de nombreuses années. Le pouvoir pathogène de ces bactéries a été évalué en chambre de culture (figure.25), afin de répondre aux quatre postulats de Koch. Les plantules de pomme de terre cultivées en pots et infectées artificiellement avec chacune de ces bactéries présentent, 20 jours après inoculation, des pourritures aériennes se propageant sur la tige à partir du point d'inoculation (figure. 25). Les contrôles inoculés avec de l'eau ne présentent pas de symptôme. Les bactéries isolées à partir de ces lésions ont été identifiées par PCR et correspondent aux bactéries inoculées. Cette expérience a permis de mettre en évidence la pathogénicité de ces souches bactériennes. Une observation superficielle des symptômes ne permet cependant pas de constater des différences d'agressivité entre les souches. L'inoculation des souches anciennes de *P. c.* subsp. *brasiliense* sur tranches de pomme de terre (figure. 26), outre l'aspect illustratif, a montré que les bactéries étaient encore

capables de provoquer de la pourriture humide après de nombreuses années en cryoconservation.



Figure 25 : Expérience en chambre de culture (A), inoculation artificielle sur plantules de pomme de terre (B) et progression de la pourriture sur tige (C).

Génétiquement proche de *P. c. subsp. carotovorum*, *P. c. subsp. brasiliense* est peut-être plus apte à survivre dans une gamme de conditions pédoclimatiques plus étendue, ainsi que dans d'autres environnements, comme sur certaines adventices ou sur d'autres cultures. Une prolifération facilitée au stockage, une meilleure dissémination au champ, tout comme un manque de compétition par d'autres souches bactériennes ou microorganismes pourraient expliquer les dégâts occasionnés au champ en 2014. Autre hypothèse, *P. c. subsp. brasiliense* pourrait être avantagé lors de condition de production très humides, comme ce fut le cas en 2013 et 2014.



Figure 26 : Inoculation artificielle sur tranches de pomme de terre avec les souches bactériennes suivantes : *P. c.* subsp. *Brasiliense* ACW88/157-2 (A), et 99/39-31-1 (Bet C), et contrôle eau (D).

Durant la saison 2014, l'observation de symptômes de flétrissement et de jambe noire au champ a conduit au constat suivant : par rapport aux observations des années précédentes les symptômes de flétrissement et de jambe noire étaient dans la plupart des cas atypiques. Ces symptômes atypiques se caractérisaient par un flétrissement atténué, avec des folioles légèrement enroulées, la feuille composée restant à l'horizontale ou s'incurvant légèrement vers le bas, contrairement aux cas classiques où les feuilles s'affaissent entièrement. De plus, les tiges ont rarement présenté une pourriture brune visible de l'extérieur, alors que l'intérieur des tiges était creux et bruni par les bactéries. Cette pourriture de tige interne n'a toutefois jamais dépassé quelques centimètres au-dessus du collet. Ces symptômes étaient systématiquement accompagnés d'un tubercule-mère pourri et humide, à partir duquel des bactéries pectinolytiques ont pu être isolées. Ces symptômes atypiques sont très proches de ceux provoqués par le rhizoctone brun (*Rhizoctonia solani*).

Une observation plus méticuleuse des symptômes permet d'éviter toute confusion : absence de plages nécrosées sèches sur les tiges et les stolons, absence de tubercules fils malformés ainsi que de tubercules aériens. L'entière des symptômes atypiques observés en 2014 ne peuvent cependant pas être systématiquement associés à *P. c.* subsp. *brasiliense*. En effet, les symptômes peuvent aussi être le résultat des conditions pédoclimatiques de la saison.

On notera enfin que *P. c.* subsp. *brasiliense* a également été isolé à partir de plantes présentant des symptômes typiques, habituellement attribués à *Dickeya* sp.

Au niveau international, des observations similaires ont été faites aux Pays-Bas, où *P. c.* subsp. *brasiliense* a été responsable de près de 60 % des cas de jambe noire en 2014 (M. Kooman, NAK (NL), comm .pers.). En France aussi, bien que *P. atrosepticum* reste la bactérie la plus répandue, cette nouvelle sous- espèce c'est aussi manifesté (V. Hélias, INRA (F), communication personnelle). Par contre, la situation reste inchangée en Écosse, pays exempt de *Dickeya*, où *P. atrosepticum* cause encore 95 % des cas de jambe noire (G. Sadler, SASA (UK), communication personnelle). (Boomsma et al.,2012). Il ressort que l'impact de toutes ces souches bactériennes sur la culture de la pomme de terre devra être minutieusement suivi à l'avenir.

III-4 Conclusion

Identifiés pour la première fois en 2013 en Suisse, *P. wasabiae* et *P. c.* subsp. *brasiliense* font d'ores et déjà partie intégrante du paysage phytosanitaire helvétique. La forte expansion de la bactérie *P. c.* subsp. *brasiliense* en 2014 est remarquable au niveau épidémiologique. Avec aussi peu de recul dans le temps, ces changements de populations bactériennes sont difficiles à interpréter, tant il y a de facteurs pouvant influencer leur dissémination. Une explication à ces changements fait intervenir des mécanismes de sélection « naturelle ». Depuis plusieurs années en effet, les souches de *Dickeya* identifiées, sont contre sélectionnées dans les lots de plant exportés par certains pays. Il est donc possible que la Suisse ait ainsi réduit l'incidence de *Dickeya* dans la culture de la pomme de terre, laissant alors le terrain libre à d'autres bactéries (p.ex. : *P. c.* subsp. *brasiliense*), qui échappent encore aux systèmes de détection mis en place.

Conclusion

Conclusion générale

Les genres *Pectobacterium* et *Dickeya*, causent d'énormes pertes aux cultures agricoles sur tout la pomme de terre en raison de leur dynamisme, de l'expression différente des symptômes, ainsi que de leur capacité à se multiplier et à se propager rapidement.

Notre travail consiste à faire une étude comparative entre les souches bactériennes pectinolytiques sur différentes variétés de pomme de terre pour l'évaluation de l'agressivité de ses souches bactériennes. A cet effet, nous avons constaté à travers l'analyse bibliographiques réalisé qu'il existe une différence de sensibilité ou de résistance entre différentes variétés de pomme de terre.

Les résultats obtenus après l'analyse bibliographique de certaines études antérieures sur la résistance variétale de pomme de terre aux agents pectinolytiques confirment l'existence de différences de sensibilité variétale au développement de jambe noire et pourriture molle provoquée par *Dickeya* et *Pectobacterium*, Il y a aussi des différences d'agressivité entre les isolats de *Dickeya* spp.

Les résultats indiquent que le risque variétal de développement de symptômes de jambe noire et pourriture molle est inférieur au risque lié à l'isolat bactérien.

Les résultats ont permis d'identifier *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* principal agent causal de la jambe noire et pourriture molle de la pomme de terre. et d'identifier la présence de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* et de *Pectobacterium wasabiae* au Kenya. et aussi de l'identifier pour la première fois en 2013 en Suisse, *P. wasabiae* et *P. c.* subsp. *brasiliense* donc les bactéries pectinolytiques sont présentes dans tous les pays où la pomme de terre est cultivée et provoquent d'importantes pertes économiques.

La sélection par les agriculteurs de la variété de pomme de terre la moins sensible aux *Dickeya* spp et est *Pectobacterium* spp essentielle pour réduire le risque de développement des symptômes de jambe noire et pourriture de molle.

La lutte contre les agents pathogènes de la pourriture molle et la jambe noire est limité en raison du manque de moyens et de mécanismes appropriés pour les éliminer, ainsi que du manque d'informations sur la stratégie de survie des agents pathogènes dans différents environnements. L'utilisation d'une plante saine avec des mesures préventives est nécessaire

Conclusion

pour réduire l'émergence de la pourriture molle et la jambe noire, la maladie peut survivre parce qu'elle se développe pendant le transport et le stockage.

Références bibliographiques

A

- ABDESSALEM F., 1990.** Contribution à l'étude de trois amendements organique (Fumier)
- AIT OUADA., BOUZNAD, Z., M., KEDAD, A., MOKABLIA, A., SIAFA, A. et YAHIAOUI, S., 2008.** Principaux ravageurs et maladies de la pomme de terre : Agents responsables, dégâts, conditions de développement et méthodes de lutte. in Journée d'étude sur la filière pomme de terre : situation actuelle et perspectives, 18 juin 2008. INA EL- HARRACH, Alger.
- Anonyme. , 2003.** Age physiologique et préparation des semences. Ministère de l'Agriculture, des Pêches et de l'Aquaculture : www.gnb.ca

B

- Bedin P.(1988).** Les maladies provoquées par les bactéries du genre *Erwinia*. La pomme de terre française 445, 65-68.
- Bourget D., 2012.** *Pectobacterium* et *Dickeya*: Un point européen sur l'évolution des souches. Potato Planet Mai 2012.
- Bernhards U., 1998.** La pomme de terre *Solanum tuberosum* L. Monographic. Institute National Agronomique Paris – Grignon.
- Bolwell G.P., Wojtaszek P. 1997.** Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence—abroad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 51, 347-366.
- BOUFARES K., 2012.** Comportement de trois variétés de pommes de terre (Spunta, Désirée et Chubaek) entre deux milieux de culture substrat et hydroponique, Thèse Magistère en Agronomie « Amélioration de la production végétale et biodiversité », Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen. 108 p
- Brenner, D.J., Steigerwalt, A.G., Miklos, G.V., Fanning, G.R., 1973.** Deoxyribonucleic acid Relatedness among *Erwiniae* and other Enterobacteriaceae: the soft-rot organisms (genus *Pectobacterium* Waldee). *International Journal of Systematic Bacteriology* 23, 205–26
- Boomsma D., Velvis H., Kristelij n K., van Tent Becking T., Kastelein P., van der Zouwen P., Krijger M., Förch M., van der Wolf J., Czajkowski R., Wegierek A., Jafra S., van den Bovenkamp G., de Haan E. & Nunes Leite L., 2012.** Eind rapport 2009 –2012 *Erwinia* Delta plan C – Pootaardappelen , 103 pp.

C

- Cahill, G., Fraser, K., Kowalewska, M., Kenyon, D., Saddler, G., 2010.** Recent findings From the *Dickeya* survey and monitoring programme, The Dundee Conference. Crop Protection in Northern Britain 2010, Dundee, UK, 23-24 February 2010. The Association for Crop Protection in Northern Britain, pp. 171-176.
- Carvalho, C. Fand Mello, S.C.M. (2008).** *Pectobacterium carotovorum*: taxonomia, identificação, sintomatologia, epidemiologia e controle.

Chatterjeet,A.K.andStarr ,M.P.(1973):Transmission of lac by the sex factor in *Erwinia* strains for human clinical sources. *Infection and Immunity* 8 :563-572.

CHABAH A. ,2016. Contribution à l'étude de la production de quelques variétés de pomme de terre dans la région de Tlemcen. Membre master. Université de Tlemcen .63 p27.

Chehat F., 2008. La filière pomme de terre algérienne, une situation précaire, Journée d'étude sur les filières pomme de terre, situation actuelle et perspectives, E.N.S.A. El- Harrach, 1-11p.

Czajkowski,R.,PerombelonM.C.M.,Johannes,A.,vanVeenetJanMvanderWolf,J.M. (2011).Control of blackle gand tubers of trot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species. *Plant Pathology*. **60**, 999-1013.

D

Darpoux R et Dubelley M., 1967. Les plantes sarclées. Edition. J.B. Baillière et fils France. Collection d'Enseignement Agricole. 307p.

De Boers'. (2002).Relative incidence of *Erwinia carotovora* subsp.atrosepticain stolen endandperi dermal tissue of potato tubers in Canada. *PlantDisease*86,960-4.

Darrasse A, Priou S, Kotoujans ky A, Bertheau Y (1994) PCR and restriction fragment length polymorphism of apple gene as a tool to identify *Erwinia carotovora* in relation to potato diseases. *Appl Environ Microbiol*60:1437-1443

De Werra, P., Bussereau, F., Kellenberger, I., Dupuis, B., Schaerer., SetKeiser, A. (2015). Pomme de terre : l'Empire *Pectobacterium* contre-attaque. *Production végétale*.**6**, 256-263.

DJEBBOUR F Z, 2015. Evaluation de l'état d'infestation de quelques parcelles par les nématodes à kystes Globodera de la pomme de terre-Enquête sur ces parasites dans la région d'Ain Defla. Mémoire ingénieur. Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana.74p

Doré C., Varoquaux F., Coordonateur., 2006. Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées RINRA. Ducreux G., De Buyser J., Dodeman V., Haïcour R., 1998. Recherches récentes et biotechnologies de la multiplication végétative. Cahiers Agricultures 1998 ;7 :447-58.

D.S.A. Ministère d'Agriculture et Développement Rural.

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-WGembloux1-7.

F

FAO., Compte rendu de fin d'année (*Année internationale de la pomme de terre2008*).148p.

Fox, R.,Manners, J., Myers, A.,1972. Ultra-structure of tissue disintegration and host reactions in potato tubers infected by *Erwinia carotovorar. atroseptica*. *Potato Research*15,130-145.

G

Gardan,L.,Gouy,C.,Christen,R., Samson,R., 2003.Elevationof three sub species of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. Nov., *Pectobacterium betavasculonum* sp.nov.and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. In *temational Journal* **Grison C., 1983 .** La pomme de

terre caractéristique et qualité alimentaire. *Of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53, 381-391. Ed. CSTA, Rue de général Fay, 75008. Paris, 88p .

H

Harrison M.D., Quinn C.E., Sells A.I., Graham D.C. (1977). Waste potato dumps sources of insects contaminated with of *tricoli* form bacteria in relation to recontamination of pathogen-free potato stocks. *Potato Research* 20, 37-52.

Hauben, L., Moore, E.R., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonck, L., Swings, J., 1998. Phylogenetic position of phytopathogens within the Enterobacteriaceae. *Systematic and Applied Microbiology* 21, 384-397.

Hauben, L., Swings, J., 2005. Genus XIII *Erwinia*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2, 670-679.

Hauben L., Swings J. 2005. Family I. Enterobacteriaceae. Genus XIII. *Erwinia* Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers and Smith 1920, 209AL emend. Hauben, Moore, Vauterin, Steenackers, Mergaert, Verdonck and Swings 1999a, 1. In: George M. Garrity (eds). Second Edition. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. The Proteobacteria vol 2. The Gamma proteobacteria, part B, pp. 670-679.

Institute National des Sciences Appliquées de Lyon, 200p

Hawkes J G., 1990. The potato. Evolution, biodiversity and genetic resources. Londres : Belhaven Press. 259p.

Hélias, V., Andrivon, D. and Jouan, B. (2000). Development of symptoms caused by *Erwinia carotovora* ssp. *Atroseptica* under field conditions and influence of their effect on the yield of individual potato plants. *Plant pathology* 49:23-32.

Hélias V. (2008). *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. De la pomme de terre. Nouvelle nomenclature pour *Erwinia* spp., symptomologie, épidémiologies et prophylaxie. *Cahiers agricoles*. 17, 394-354.

Hebeisen T., Ballmer T., Musa T., Torche J. M. & Schwarzel R., 2013. Liste suisse des variétés de pommes de terre. *Recherche Agronomique Suisse* 3 (11-12), 1-8.

Hélias V., Hamon P., Huchet E., van der Wolf J. M. & Andrivon D., 2012. Two new effective semi selective crystal violet pectate media for isolation of *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Plant Pathology* 61 (2), 339-345

Howard, R.J., Garland, J.A., Seaman, W.L., 1994. Diseases and pests of vegetable crops in Canada: an illustrated compendium. Entomological Society of Canada & Canadian

Phytopathological Society.

Humphris, S.N., Cahill, G., Elphinstone, J.G., Kell, R., Parkinson, N.M., Pritchard, L., Toth I. K. and Siedler G.S. (2015). Detection of the Bacterial Potato Pathogens *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. Using Conventional and Real-Time PCR *Plant Pathology*. 1302, 1-16.

I

Ismail ME, Mostafa YM (2012) Identification and pathogenicity of phytopathogenic bacteria associated with soft rot disease of girasole tuber in Egypt. *J Bacteriology Research* 4 :1-8.
<https://doi.org/10.5897/JBR11.015>

K

KECHID M., 2005. Physiologie et Biotechnologie de la Micro tubérisation de la Pomme de Terre *Solanum tuberosum* L. Thèse Magister en Biotechnologie végétale, Université Mentoui Constantine.

Kim MH, Cho MS, Kim BK, Choi HJ, Hahn JH, Kim C, Kang MJ, Kim SH, Park DS (2012) Quantitative real-time polymerase chain reaction assay for detection of *Pectobacterium wasabiae* using YD repeat protein gene-based primers. *J Plant Disease* 96:253–257

Kwon, S.-W., Go, S.-J., Kang, H.-W., Ryu, J.-C., Jo, J.-K., 1997. Phylogenetic Analysis of *Erwinia* Species Based on 16S rRNA Gene Sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 47, 1061-1067.

L

Lautier. (2007). Rôle de la protéine associée au nucléotide Fis dans le contrôle de la virulence chez la bactérie phytopathogène *Erwinia chrysanthemi*. Thèse de Doctorat en Microbiologie.

Lee YA, Yu CP (2006) A differential medium for the isolation and rapid identification of a plant soft rot pathogen, *Erwinia chrysanthemi*. *J Microbiol Methods* 10:200–206

Lee DH, Kim JB, Lim JA, Han SW, Heu S (2014) Genetic diversity of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* isolated in Korea. *J Plant Pathology* 30 :117–124

M

Madec P et P., 1962. Les relations entre l'induction de la tubérisation Et la fertilisation.

Madec P, 1966. Croissance et tubérisation de la pomme de terre. *Bull. soc. Fr. Plys Physio. Veg.* (12), PP.159- 173.

Ma B, Hibbing ME, Kim HS, Reedy RM, Yedidia I, Breuer J, Glasner DJ, Perna NT, Kelman A, Charkowski AO (2007) Host range and molecular phylogenies of the soft rot trifactorial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *J Phytopathol* 97:1150–1163. <https://doi.org/10.1094/phyto-97-9-1150>

Maher E., Kelman A. 1983. Oxygen status of potato tuber tissue in relation to maceration by pectic enzymes of *Erwinia carotovora*. *Physiology and Biochemistry* 73, 536-539.

Mantsebo C.C., Mazarura U., Goss M and Nga dze E (2014). The epidemiology of *Pectobacterium* and *Dickeya* species and the role of calcium in postharvest soft rot infection of potato (*Solanum tuberosum*) caused by the pathogens : review *African journal of Agricultural Research* .19, 1509-1515

Masclet J. 12.03.17. La question de développement. 1p.

MAZOYER M., 2002. Larousse agricole . Edit. I.N.A.P.G. p374-375.

Mergaert, J, Verdonck, L, Kersters, K, Swings, J, Boefgras, J-Mand DeLey, J. (1984). Numerical Taxonomy of *Erwinia* species using API systems. *Microbiology*. 130, 1893-1910.

Meziane D., 1991. Histoire de la pomme de terre. *Détritique* n°25 pp:29.

Muraschi, T.F., Friend, M. and Bolles, D. (1965). *Erwinia*-Like microorganism isolated from animal and human hosts. *American Society for Microbiology* 13:128-131.

N

Nielsen W. (1978). *Erwinia* species in the lenticels of certified seed potatoes.

Naggash T, Hameed S, Imran A, Hanif M K, Majeed A, Elsas V J D (2016) Differential response of potato toward inoculation with taxonomically diverse plant growth promoting rhizobacteria. *Front Plant Sci* 7:1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00144>

American Potato Journal 55, 671-6.

Nunes Leite L., de Haan E., Krijger M., Kastelein P., van der Zouwen P., van den Bovenkamp G., Tebaldi N. & van der Wolf J. M., 2014. First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in the Netherlands. *New Disease Reports* 29, 24.

O

Onkendi EM, Maluleke LN, Moleleki L N (2014) First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing soft rot and blackleg of potatoes in Kenya. *J Plant Disease*

P

Parkinson, N., Stead, D., Bew, J., Heeney, J., Tsrer, L., Elphinstone, J., 2009. *Dickeya* species relatedness and clade structure determined by comparison of recA sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59, 2388-2393

Paulin J.P., Ridé M., Prunier J-P. 2001. Découverte des bactéries phytopathogènes lycopersitans : controverses et polémique transatlantiques. *C.R. Acad. SCI. Paris, Sciences de la vie/Life Sciences* 324, 905–914.

Pérombelon, M.C., Kelman, A., 1980. Ecology of the soft rot *Erwinia*. *Annual review of phytopathology* 18, 361-387.

Pérombelon M.C.M. (2000). Blackleg risk potential of seed potatoes determined by quantification by the causal agent and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*: a critical review. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 30, 413-420.

Pérombelon M.C.M., van der Wolf J.M. 2002. Methods for the detection and quantification of *Erwinia carotovora* sub sp. *atroseptica* (*Pectobacterium carotovorum* sub sp. *atrosepticum*) on potatoes: a laboratory manual. Revised Version. p82.

Pérombelon MCM (2002) Potato diseases caused by soft rot *Erwinia*: an overview of pathogenesis. *Plant Pathol* 51:1–12

Pritchard L, Humphris S, Saddler GS, Parkinson NM, Bertrand V, Elphinstone JG, Toth IK (2012) Detection of phytopathogens of the genus *Dickeya* using a PCR primer prediction pipeline for draft bacterial genome sequences. *Plant Pathol.* <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02678.x>

Q

Quézel P. Santa .S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed .C.N.R.S, Paris. Rabot B., **Pasco C., Schmidt J.** 1994. Assessing six Austrian potato cultivars for resistance to *Erwinia carotovorum* subsp. *atroseptica*. *Potato Research* 37, 197-203.

R

Rouffiange J., Gerardin D., Kellenberger I., Schaerer S. & Dupuis B., (2013). Sensibilité de la pomme de terre aux pourritures de tiges provoquées par *Dickeya* spp.

Recherche Agronomique Suisse. 4, 432–439

Rousselle P, Rousselle Bourgeois, Ellisseche D., 1992. La pomme de terre in Amélioration des espèces végétales cultivées .Gallais A, Bammerot H., 1992- SAE, 2006.

Rousselle P, Robert Y, Grossuer J.C, 1996. La pomme de terre production, Amélioration Ennemis et Maladies. Utilisation édition R Doun, 278p.

Rousselle P., Roberty. Crosnier J.C. 1996. La pomme de terre. production, Amélioration, ennemis et maladies, utilisation paris INR, 278- 607 p.

S

Samson, R., Legendre, J., Christen, R., Fischer-LeSaux, M., Achouak, W., Gardan, L., 2005.

NEWTAXA-*Proteobacteria*-Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 55, 1415-1428.

Schaerer Santiago et Dupuis Brice. (2010). Nouvelles pratiques pour contrer la jambe noire. *Production Végétale*. pp.28-29

Seebold, K.W. (2014). Blackleg & Bacterial Soft Rot of Potato *Plant Pathology Extension*. PPFS-VG-18

Skerman, V.B.D., McGowan, V. Sneath, P.H.A., 1980. Approved lists of bacterial names. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 30, 225-420.

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.

SOLTNER D., 1979 : Les grandes productions végétales pyrotechnie spéciale

Sambrook J, Russell DW (2001) Molecular cloning: a laboratory manual, vol 2, 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York

T

Toth I. K., van der Wolf J. M., Saddler G., Lojkowska E., Hélias V., Pirhonen M., Tsror L. & Elphinstone J. G., 2011. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology* 60 (3), 385 –399.

TRIAS, 2011. Influence des fréquences d'arrosage sur le comportement de la pomme de terre dans la région de Ouade souf. Mémoire d'ingénieur a. Université Ourgla. 78p

Toth I Kand Saddler GS. (2015). Detection of the Bacterial Potato Pathogens *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. Using Conventional and Real-Time PCR *Plant Pathology*. 1302, 1-16.

V

VanDerWolf J.M., Czajkowski R., Velvis H. (2008). Why is *Dickeya* spp. (syn. *Erwinia chrysanthemi*) taking over? The ecology of a blackleg pathogen. In: Symposium KNPV Pests and Climate Change. Wageningen, The Netherlands, 34

Van Vuurde J.W.L., DeVries P.H.M., Roozen N.J.M. (1994). Application of immune fluorescence colony staining (IFC) for monitoring populations of *Erwinia* spp. On potato tubers, in surface water and in cattle manure slurry. In: Lemattre M, Freigoun S, Rudolph K, Swings JG, eds. *Proceedings of the 8th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Paris*.

Vreugdenhil et al., 2007. Comportement De Trois Variétés De Pommes De Terre (*Spunta, Désirée Et Chubaek*) Entre Deux Milieux De Culture Substrat Et Hydroponique. Mémoire De Magister. University of Boukhalid – Tlemcen, p 78.

W

Waldee, E. L. (1945). Comparative studies of some peritrichous phytopathogenic bacteria. Iowa State Coll. J. Sci. **19**, 435-484.

Warsito T., Van de Fliert E. 2006. All about potatoes An Ecological Guide to Potato Integrated Crop Management, Thailand, 90p.

Winslow, C.-E., Broadhurst, J., Buchanan, R., Krumwiede Jr, C., Rogers, L., Smith, G.H.,

1917. The families and genera of the bacteria: preliminary report of the committee of the society of American bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. Journal of bacteriology **2**, 505-566.

Y

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.

Yahiaoui-Zaidi R. (2004). Contribution à l'étude des *Erwinia* pectinolytiques isolées chez *solanum tuberosum* L. Thèse de Doctorat en biologie. Université Ferhat Abbas., Sétif, Algérie, 187p.

Yaganza, E.-S., 2005. Utilisation post-récolte de sels organiques et inorganiques pour lutter contre la pourriture molle de la pomme de terre : base physico-chimique. Philosophiae doctor : Université Laval (Québec, Canada). 175p.