



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTRE 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

Evaluation de l'importance de fer dans
le pathosystème
pomme de terre-bactériose

Présenté par :

- Labdi Chaimaa
- Ben Hamada Soumia

Examiné par le jury:

Présidente : Mme Kaci Z.

MCB

UDBKM

Examineur : Mr ABDERRAHMANE O.

MCB

UDBKM

Promotrice : Mme ALIM-MAROK D.

MAA

UDBKM

Année Universitaire: 2021-2022

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.

Un grand merci à notre promotrice Mme ALIM-MAROKD. pour la qualité de son encadrement, le temps qu'elle nous a accordé, Ainsi pour sa grande Aide et ces conseils judicieux,

Nous remercions Mme KACI Z. pour avoir accepté de Présider le jury chargé d'évaluer ce travail.

Nos remerciements Mr ABDERRAHMANE O. pour d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements sont également adressés aux ingénieures du laboratoire microbiologie Mme Aicha, Mme Nadjiba et Mme Khadija Pour leurs conseils et aident qu'elles nous ont apportés.

Nous remercions également Mme Fatiha d'être là et de nous encourager.

Enfin, nous adressons notre plus sincère remerciement à tous nos proches amis, qui nous ont toujours soutenues et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci 

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma très chère mère et mon très cher père qui m'ont toujours encouragé à poursuivre mes études malgré les difficultés que j'ai rencontrées, Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour le respect, .que Dieu les garde en bonne santé longue vie.

Mon mari Sadaoui Rafik, qui m'a fait confiance et m'a soutenu dans les moments Difficiles, Qui me donne toujours le courage pour avancer dans mes études.

Dieu vous protège et perpétue notre amour.

A ma sœur Amina qui a toujours été là pour moi en tant que sœur

Mais aussi comme ma meilleure amie, il n'y a pas assez d'espace

Pour exprimer ce que je ressens pour toi sans oublier la petite princesse

Hiba, le merveilleux membre de la famille et le nouveau bébé Rjja, et à son mari Hossin.

À ma sœur et mes frères :

Ikram _ Abdelkader _ Sohayb et Sifedin : je vous souhaite

Une vie pleine de bonheur et de réussite.

À ma belle famille

Qui sont mes deuxièmes parents, que Dieu leur accorde longue vie.

Tous les membres de la famille Sadaoui, Je vous souhaite une belle vie.

Mon cher binôme Ben hamada Soumia.

Je vous souhaite une vie heureuse et plus de succès.

Je dédie cet humble travail

A toute ma famille A tous mes professeurs A tous mes amies A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Ma mère et mon père qui m'ont permis, par leurs encouragements et leur soutien de gravir toutes ces étapes.

*À mon cher **Grand-père** que dieu le protège.*

Tous les membres de la famille Benhamada.

Mes frères et mes sœurs

Abdelkader _ Aymen _ Fares _ Amina et Fatima.

Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur

*À mon binôme **chaimaa** pour sa coopération et sa patience.*

À tous mes amis

Djahida _ Wardiya _ Imane _ Fadwa _ Amina _ Fulla _ Zakia et Hassiba.

Toutes mes amies de production Végétale pour leurs présences dans notre vie.



Evaluation de l'importance de fer dans le pathosystème pomme de terre-bactériose

Résumé

Cette étude a été effectuée afin de mettre en évidence l'activité ferrique et la production de sidérophores chez une collection de bactéries type Soft Rot *Enterobacteriaceae*. La mise en culture des souches sélectionnées sur milieu Crystal Violet Pectate a confirmé l'activité pectinolytique de ces souches bactériennes. Le test d'évaluation de la production de sidérophores a été réalisée dans deux milieux de culture différents, à savoir le milieu succinate et le milieu King B. Les souches bactériennes testées produisent différents types de sidérophores à des quantités significativement élevées, selon les valeurs de l'absorbance la densité optique est de 1.25 chez la souche SA5. L'inoculation des disques de pomme de terre par dépôt de suspension bactérienne a révélé l'apparition et le développement des symptômes se traduisant par une dégradation des tissus infectés qui deviennent spongieux, de couleur crème à brun foncé et dégageant une forte odeur nauséabonde. De même, la croissance des souches étudiées à une température de 41°C a révélé que 67% des souches ont pu se développer après 24h d'incubation.

Enfin, le test d'antibiotique, montre une résistance de l'ensemble des souches bactérienne à l'érythromycine à l'exception d'une seule souche se révélant sensible ce qui a conduit à l'apparition de la zone d'inhibition.

Mots- clés : Pomme de terre, pourriture mole, Soft Rot *Enterobacteriaceae*, sidérophore, maladies bactériennes.

Abstract

This study was carried out in order to highlight the ferric activity and the production of siderophores in a collection of bacteria such as Soft Rot *Enterobacteriaceae*. Cultivation of the selected strains on Crystal Violet Pectate medium confirmed the pectinolytic activity of these bacterial strains. The siderophore production evaluation test was performed in two different culture media, succinate and King B media. Bacterial strains tested produce different types of siderophores at significantly high level, depending on the values of the absorbance the optical density is 1.25 in the SA5 strain. Inoculation of potato discs by bacterial suspension deposition revealed the appearance and development of symptoms resulting in a breakdown of infected tissues which became spongy, cream to dark brown in color and gave off a strong foul odor. Similarly, the growth of the strains studied at a temperature of 41°C revealed that 67% of the strains were able to develop after 24 hours of incubation.

Finally, the antibiotic test shows resistance of all bacterial strains to erythromycin with the exception of a single strain proving to be sensitive, which led to the appearance of the zone of inhibition.

Keywords: Potato, soft rot, Soft Rot *Enterobacteriaceae*, siderophore, bacterial diseases.

ملخص

أجريت هذه الدراسة من أجل تسليط الضوء على النشاط الحديدي وإنتاج حامض الحديد في مجموعة من البكتيريا مثل Soft Rot Enterobacteriaceae.

أكدت زراعة السلالات المختارة على وسط Crystal Violet Pectate نشاط التحلل البكتيري لهذه السلالات البكتيرية. تم إجراء اختبار تقييم إنتاج حامض الحديد في وسطين مستنبتين مختلفين، وهما وسط سكسينات ووسط كينج ب. تنتج السلالات البكتيرية المختبرة أنواعًا مختلفة من حامض الحديد بكميات عالية بشكل ملحوظ، اعتمادًا على قيم الامتصاصية، تبلغ الكثافة الضوئية 1.25 في سلالة SA5. كشف تلقح أقراص البطاطس عن طريق ترسيب المعلق البكتيري عن ظهور الأعراض وتطورها مما أدى إلى تفكك الأنسجة المصابة التي أصبحت إسفنجية وكرمية إلى بنية داكنة اللون ورائحة كريهة قوية. وبالمثل، أظهر نمو السلالات المدروسة عند درجة حرارة 41 درجة مئوية أن 67٪ من السلالات كانت قادرة على التطور بعد 24 ساعة من الحضنة.

أخيرًا ، أظهر اختبار المضادات الحيوية مقاومة جميع السلالات البكتيرية للإريثروميسين باستثناء سلالة واحدة أثبتت أنها حساسة ، مما أدى إلى ظهور منطقة التثبيط.

الكلمات المفتاحية: البطاطس، تعفن ناعم ، SRE ، حامض الحديد ، الأمراض البكتيرية.

Liste d'abréviation

CNCC : Centre Nationale de Contrôle et Certification des Semences et des Plants.

CVP : Crystal Violet Pectate.

DSA : Direction de Service Agricole.

Do: Densité Optique.

E.ch: *Erwinia chrysanthemi*.

EPS : Exopolysaccharides de Surface.

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.

FAO : Organisation Des Nations Unies Pour L'alimentation et L'agriculture.

FAOSTAT: Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database.

Fe²⁺: Fer ferreux.

Fur: Ferric uptake regulator.

Fe³⁺: Fer ferrique.

GN: Gélose Nutritive.

Ha: hectare.

H: heure.

KB: King B.

kDa: kilodalton.

LPS: Lipolysaccharides.

MADR: Ministère d'Agriculture et de Développement Rural.

MH: Mueller-Hinton.

Nm : nanomètres.

OEPP: Organisation Européenne De La protection Des Plantes Européenne.

Pa: *Pectobacterium atrosepticum*.

Pcc: *Pectobacterium carotovorum carotovorum*.

pH: potentiel d'hydrogène.

PLRV: *Potato leaf roll virus*.

PVA: *Potato virus A*.

PVY: *Potato virus Y* Potyvirus.

SAP: Sensitivity to Antimicrobial Peptides.

SM: succinate media.

SRE: Soft Rot *Enterobacteriaceae*.

SST1 : systèmes de sécrétion de type 1.

SST2 : systèmes de sécrétion de type 2.

T: température.

UV : Ultraviolet.

Liste des figures

Figure 1: Description végétale et terminologie de la pomme de terre (Soltner, 2005)	4
Figure 2: Evolution des rendements de la pomme de terre (MADRP, 2018)	7
Figure 3: Classification taxonomique de <i>Pectobacterium .spp</i> Et <i>Dickeya .spp</i> . Associés aux maladies de la jambe noire et pourriture molle sur pomme de terre (Czajkowski et al.2015).12	
Figure 4: Cycle de développement de la pourriture molle (Howard et al .(1994).....	14
Figure 5: Symptomes de la jambe noire sur la partie aérienne du plant de pomme de terre A:flétrissement et jaunissement.B: pourriture mole de tige. C: nécrose sur tige. (Hélias, 2008).	15
Figure 6: Porrriture molle et humide causée par <i>Dickeya spp</i> .(Hélias,2008).....	16
Figure 7: Le povouir pathogène de <i>D.dadantii</i> est multifactoriel (Sepulchre et al., 2007).....	17
Figure 8: Les différentes types de structure des sidérophores et les groupements impliqués dans la chélation du fer (Miethke and Marahiel, 2007)	21
Figure 9: Suspension bactérienne préparée à une concentration de 10^8 cfu/ml (Original,2022).	25
Figure 10: L'incubation dans un bain marie à 30°C durant 72h (Original, 2022).	25
Figure 11: Centrifugation des tubes après agitation (Original.,2022).....	26
Figure 12: Filtration et récupération du surnageant (Originale, 2022).	26
Figure 13:Préparation de la solution chlorure ferrique FeCl3 à 2 %.(Original, 2022).....	26
Figure 14: Repiquage (Original, 2022).	28
Figure 15: Application des disque d'érythromicine sur milieu Mueller Hinton (Original,2022).....	28
Figure 16: Test du pouvoir pectinolytique sur les tranches de la pomme de terre (Original, 2022).....	29
Figure 17: Les caractéristiques macroscopiques des souches sur miliei GN (Original, 2022).	30
Figure 18: Aspect macroscopique sur milieu King B. A observé sous lumière UV (Original, 2022).....	30
Figure 19: Résultats du test CVP (Original, 2022).	31
Figure 20: Mise en évidence la présence de sidérophore sur milieu succinate (Original, 2022).	32
Figure 21: Mise en évidence la présence de sidérophore sur milieu King B (Original, 2022).	32

Figure 22: La mesure de l'absorbance à 400 nm (Original, 2022).	32
Figure 23: Présentation graphique des résultats du test de production de sidérophores, des bactéries testées sur le milieu King B (Original, 2022).	33
Figure 24: Présentation graphique des résultats du test de production de sidérophores, des bactéries testées sur le milieu succinate (Original, 2022)	34
Figure 25: Résultats du test antibiogramme (Original, 2022).	36
Figure 26: Résultats des disques de pomme de terre à l'inoculation des souches après 48h d'incubation à 30°C (Original, 2022).	36

Liste des tableaux

Tableau 1: Production et Superficies cultivées de pomme de terre en Algérie. (MADR ,2014).	6
Tableau 2: Production de la culture de pomme de terre en Algérie de 2003 à 2012 (Unité: 100 tonnes) (MADR,2013)	6
Tableau 3: Principales maladies et ravageurs qui touchent la pomme de terre, leurs symptômes et les moyens de lutte (Rouselle et al. 1996). (Maladie et ravageurs pris en compte dans le cadre du contrôle officiel des plants de pomme de terre, 2006)	9
Tableau 4: Résultats de test température à °39C er 41°C (Original ,2022).	35

Table de matière

Résumé	1
Liste d'abréviation.....	1
Liste des figures	1
Liste des tableaux	1
INTRODUCTION.....	1
Chapitre I : Synthèse Bibliographiques	3
1. Généralité sur la pomme de terre :.....	3
1.1. Historique :	3
1.2. En Algérie :.....	3
1.3. Description botanique :	3
1.4. Taxonomie de la pomme de terre :	4
2. Importance de la pomme de terre :	5
2.1. Dans le monde	5
2.2. En Algérie.....	5
2.3. A Ain Defla	6
2.4. Evolution de La production de la pomme de terre en Algérie.....	6
2.5. Principales wilayas productrices de la pomme de terre en Algérie :.....	7
2.6. Les Principales variétés cultivées en Algérie	8
3. Les maladies et les ravageurs de la pomme de terre:.....	8
4. La pourriture molle bactérienne:	11
4.1. Généralités sur l'agent causal :	11
4.2. Taxinomie et description :	11
4.3. Les maladies de la pomme de terre liées aux SRE:.....	13
4.4..La pourriture molle des tubercules	13
4.4.1. La jambe noire	14

4.5. Symptômes:	14
5. Facteurs de virulence :	16
5.1. Les exopolysaccharides (EPS).....	16
5.2. Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)	17
5.3. Les systèmes de sécrétion.....	18
5.4. Les sidérophores	18
6. Chélation du fer :.....	19
6.1 Définition :.....	19
6.2. Les sidérophores	19
6.3. Classification des sidérphores	20
6.4. Les différents types de sidérophores	20
6.5. Production de sidérophores :	21
6.5.1. L'acquisition du fer par les sidérophores.....	21
6.5.2. Acquisition du fer chez les bactéries	22
6.6. Le stockage du fer chez les microorganismes	22
6.6.1. Le stockage du fer chez les bactéries	22
Chapitre II : Matériels et méthodes.....	24
1. Origine de l'inoculum bactérien	24
2. Purification des souches bactériennes	24
3. Identifications sur milieu selectif	24
4. Mise en évidence de l'activité ferrique	24
5. Test température à 39°C et41°C :	27
6. Test d'antibiogramme :	27
7. Pouvoir pectinolytique	28
8. Conservation des souches bactérienne:	29
Chapitre III : Résultats et discussion	30
I- Résultats	30

1. Croissance sur les milieux de cultures.....	30
1.1. Identification sur milieu GN	30
1.2. Identification sur milieu King B	30
1.3. Sur milieu sélectif.....	31
2. Mise en évidence de l'activité ferrique	31
Sur le milieu succinate et King B	31
3. Test température à 39°C et41°C	34
4. Test d'antibiogramme.....	35
5. Pouvoir pectinolytique	36
II. Discussion.....	37
Identifications sur milieu CVP	37
Mise en évidence de l'activité ferrique	38
Test température à 39°C et 41°C	38
Test d'antibiogramme.....	39
Pouvoir pectinolytique	39
Conclusion.....	41
Référence Bibliographique
Annexes

INTRODUCTION

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La pomme de Terre joue un rôle socioéconomique important pour les agriculteurs. C'est une culture à cycle assez court qui donne un haut rendement, elle a de bonnes perspectives économiques et la superficie cultivée s'agrandit de jour en jour.

La pomme de Terre (*Solanum tuberosum* L.) appartient à la famille des Solanacées, genre *Solanum* (Quezel et Santa, 1962), cette famille regroupe plusieurs espèces connues telles que la tomate, le tabac, le poivron et l'aubergine. La pomme de Terre, semble avoir pris naissance et avoir vécu à l'état spontané dans les rivages d'Ouest de l'Amérique latine Selon (Grison, 1993).

De nos jours, cette solanacée constitue l'une des cultures légumières les plus importants dans le monde. Elle est classée en quatrième position après le blé, le maïs et le riz avec une production totale d'environ 368 millions de tonnes. La production mondiale est de 385 millions de tonnes entre 2013 et 2014 tonnes métriques répartis entre 151 pays producteurs de la pomme de terre dans une surface de 20 millions d'hectares (F.A.O., 2013).

En Algérie, la pomme de terre est la plus importante culture légumière, avec plus de 156176 ha et une production de 46735155 de quintaux pour un rendement de 299,2 Qx/ha, elle est tenue une place importante (FAOSTAT, 2015).

La pomme de terre comme toute autre plante, est la cible de nombreuses maladies et ravageurs. Parmi les pathologies les plus répandues, la jambe noire et la pourriture molle dues aux bactéries du genre *Pectobacterium* (anciennement *Erwinia* pectinolytiques), caractérisées par une importante activité de macération. Le développement massif de ces pourritures est à l'origine de préjudices économiques importants. A ce titre, on estime qu'en Algérie, environ 32% des refus d'importation sont dus aux pourritures molles (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

D'autre part, les bactéries requièrent des mécanismes d'homéostasie précis pour équilibrer l'apport et le stockage de différents métaux essentiels à la vie. La concentration intracellulaire de chacun de ces métaux est fortement régulée.

Les sidérophores sont des métabolites secondaires qui jouent un rôle dans l'homéostasie du fer chez les microorganismes (Raymond et al. 2003). La gamme de concentrations des sidérophores dans le sol est assez large (Hersman et al.1995). Les

INTRODUCTION

sidérophores jouent un rôle primordial dans la solubilisation extracellulaire du fer à partir de minéraux afin de le rendre disponible aux microorganismes ainsi, la synthèse de ces composés est indispensable à la survie, au bon développement de nombreux microorganismes (**Lambert et al. 2014**).

Le présent travail consiste à étudier les points suivants :

- Purification et régénérations des isolats bactériens par utilisation de plusieurs milieux.
- Mise en évidence la production de sidérophores.
- Effet de la variation de température sur le développement des symptômes sur la pomme de terre.
- Test de sensibilité aux antibiotiques.
- Test de pathogénicité sur tubercules de pomme de terre.

Chapitre I :
Synthèse Bibliographiques

1. Généralité sur la pomme de terre :

1.1. Historique :

La pomme de terre existe depuis plus de 8 000 ans. D'après les recherches réalisées, l'Amérique Du Sud serait la terre natale de ce légume. Au XVI^{ème} siècle, à la recherche de trésors et du pays d'El Dorado, les conquistadors espagnols ont découvert la pomme de terre dans les potages des indigènes. Dès lors, le précieux légume entrepris son périple vers l'Europe (**Anonyme, 2000**). Il passe en Italie et en Espagne à la fin du XVI^{ème} siècle, s'introduit en Angleterre, puis gagne l'Irlande. Dès le milieu du XVII^{ème} siècle, il est connu en Allemagne et de là, se propage vers l'Est, suivant les colonies Allemandes qui s'enfoncent dans les pays slaves et vers l'Ouest. Au début du XVIII^{ème} siècle, la plante fut introduite en Amérique du Nord (**Anonyme, 2004**).

1.2. En Algérie :

La pomme de terre a été introduite une première fois au 16^{ème} siècle par les Maures Andalous qui ont propagé les cultures de tomate, de poivron, de maïs et de tabac dans la région. Par la suite, elle est restée dans l'oubli n'ayant pas suscité d'intérêt. Dans la deuxième moitié du 19^{ème} siècle, les colons l'ont cultivé pour leur usage, car les algériens y sont réticents malgré les disettes successives. Après l'indépendance (1962) de l'Algérie, la pomme de terre est devenue une des principales cultures destinées à la consommation (**Djebroune, 2019**).

1.3. Description botanique :

La pomme de terre est une culture à cycle annuelle, elle est caractérisée par la présence de stolons, inducteurs de tubercules. Les tiges aériennes sont généralement au nombre de deux à dix, parfois davantage avec un port plus ou moins dressé et une section irrégulière. Les feuilles sont composées et permettent par leur aspect et leurs colorations, de caractériser les variétés. Les fleurs dont la couleur et le nombre caractérisent les variétés sont généralement autogames. Elles peuvent être de couleur blanche, bleue, violette ou rose suivant les variétés. Les fruits ou baies contiennent des graines sans intérêt en culture, mais essentielles en sélection amélioratrice (**Elzebroek et Wind, 2008**).

Le système souterrain comprend les racines, les tiges souterraines (stolons) et les

Synthèse Bibliographiques

tubercules. Les racines nombreuses et fines sont fasciculées et peuvent pénétrer facilement le sol s'il est suffisamment meuble. Les stolons sont plus ou moins courts et leurs extrémités se renflent pour former les tubercules : ce sont les organes de conservation qui permettent de classer la pomme de terre parmi les plantes vivaces. C'est dans cet organe que la plante accumule toutes ses réserves nutritives (Atef, 2009) (Figure 1).

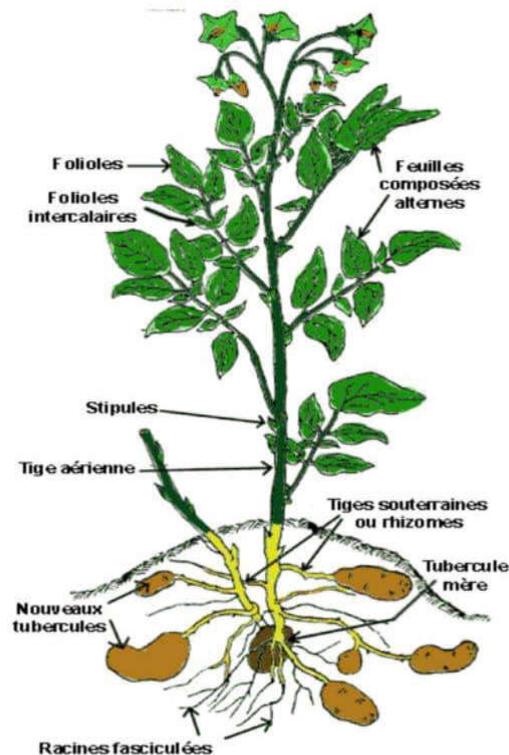


Figure 1:Description végétale et terminologie de la pomme de terre (Soltner, 2005)

1.4. Taxonomie de la pomme de terre :

D'après Cronquist (1988), la pomme de terre appartient:

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Solanales*

Famille : *Solanaceae*

Sous-famille : *Solanoideae*

Genre : *Solanum*

Espèce : *Solanum tuberosum*

2. Importance de la pomme de terre :

La pomme de Terre joue un rôle clé dans le système alimentaire mondial. C'est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde, la production mondiale a atteint le chiffre record de 368 millions de tonnes en 2013 selon Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database(**FAOSTAT, 2014**). Plus de 150 pays cultivent la pomme de Terre sur une superficie de 194 millions d'hectares en 2013 selon Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database(**FAOSTAT, 2014**).

2.1. Dans le monde

En terme monétaire la culture de pomme de terre arrive après le riz, le blé, et le maïs, au quatrième rang des cultures vivrières des pays en voie de développement (**Horton, 1987**). La pomme de terre s'adapte à des situations très diverses du cercle polaire à l'équateur en jouant sur les saisons, les variétés, l'altitude. (**Boufares, 2012**).

Selon le Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (**FAO, 2008**), en 2005 pour la première fois la production de la pomme de terre du monde en développement a dépassé celle du monde développé. La Chine est devenue le premier producteur mondial de pomme de terre avec 23% de la production mondiale, viennent ensuite la Russie 11%, l'Inde 8%, l'Ukraine, les Etat Unis, l'Allemagne et la Pologne (**FAO, 2008**).

2.2. En Algérie

La pomme de Terre est introduite en Algérie au 19^{ème} siècle. Elle est devenue l'une des principales cultures destinée à l'alimentation humaine. La production est passée de 2 180 961 de tonnes en 2006 à 4 400 000 de tonnes en 2014selon Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (**MADR, 2014**). Avec une consommation annuelle de 35kg/habitant en 1990 celle-ci est passée à 102 Kg / habitant en 2012 selon les données du FAO (**FAO, 2014**)

Tableau 1.

Synthèse Bibliographiques

Tableau 1: Production et Superficies cultivées de pomme de terre en Algérie. (MADR, 2014).

Années	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Production s/ (tonnes)	2 180 961	1 506 859	2 171 058	2 636 057	3 300 312	3 862 194	4 219 476	4 400 000
Superficies cultivées / hectare	98 825	79 339	91 841	105 121	121 996	131 903	138 666	140 000

2.3. A Ain Defla

La wilaya de Ain Defla représente la terre préférée pour la production de la pomme de terre dont elle couvre près de 35% des besoins nationaux. En effet, elle s'apprête aussi à se lancer dans la transformation de ce tubercule de large consommation à la faveur de la réalisation d'une usine dédiée à ce segment d'activité (Anonyme., 2021).

2.4. Evolution de La production de la pomme de terre en Algérie

La production de pomme de terre constitue l'un des succès les plus notables de l'agriculture algérienne au cours des 20 dernières années. Elle est estimée à plus d'un milliard de Dollars en 2006 (Omari, 2009). Cependant, la filière pomme de terre demeure fragilisée par une dépendance accrue au marché extérieur de la semence à l'amont et par un dysfonctionnement de la mise sur marché de la production de pomme de terre à l'aval. Aussi, la filière et marginalement intégrée à l'industrie de transformation selon Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR, 2013)(Tableau 2).

Tableau 2: Production de la culture de pomme de terre en Algérie de 2003 à 2012 (Unité: 100 tonnes) (MADR,2013)

Années	PRIMEUR	SAISON	A. SAISON	TOTAL
2003	750	11435	6614	18799
2004	802	12145	6016	18963
2005	767	13583	7216	21565
2006	903	13760	7146	21810
2007	452	8040	6577	15069
2008	332	14546	6831	21710
2009	789	17993	7577	26360
2010	1005	19866	12130	33003
2011	1058	22543	14951	38621
2012	1126	25217	15918	42194

Selon le Ministère de l'Agriculture et du Développement Durable (MADR, 2018), le rendement a approximativement doublé, passant de 160 quintaux/ha 2000 à plus de 320

Synthèse Bibliographiques

quintaux/ha en 2018. Le rendement moyen annuel est de 320 quintaux/ha. Pour la pomme de terre de saison, le rendement est de 340 quintaux/ha avec des pics de 560 quintaux/ha pour Ain Defla et 350 quintaux/ha pour El-Oued. Pour la pomme de terre d'arrière-saison, le rendement est de 300 quintaux/ha avec des pics de 360 quintaux/ha pour Ain Defla et 320 quintaux/ha pour El-Oued (**Figure 2**).

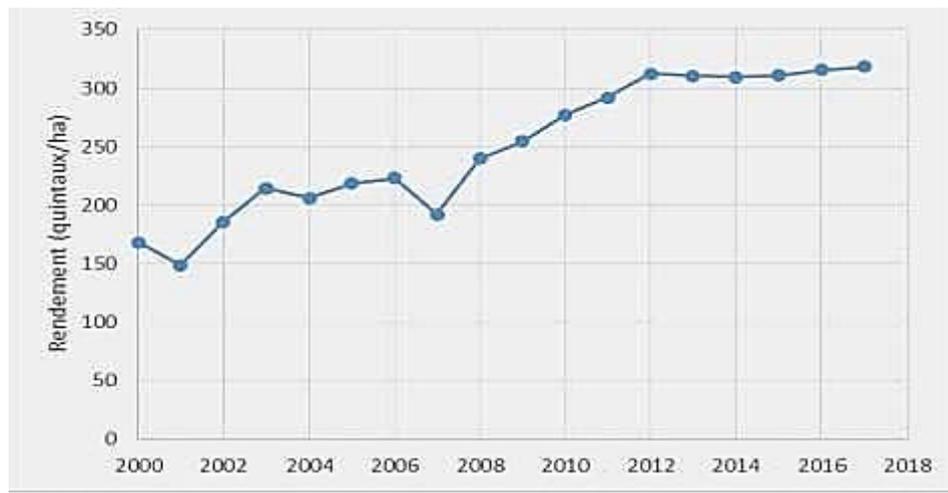


Figure 2: Evolution des rendements de la pomme de terre (**MADRP, 2018**)

2.5. Principales wilayas productrices de la pomme de terre en Algérie :

La superficie occupée par les cultures maraîchères varie chaque année entre 380.000 et 400.000 ha, dont 100.000 à 130.000 ha emblavés en pommes de terre, soit 26% de la superficie maraîchère totale. Selon Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (**MADR, 2010**) Il est à relever aussi que l'on assiste, depuis quelques années, à l'augmentation de cette culture par l'occupation de nouvelles zones où elle était pratiquement inconnue : cas de Sedrata, de Djelfa, du Sud et de Ain-Defla. Donc, les zones de production sont réparties selon quatre zones géographiques : Littoral, sublittoral, atlas tellien et hautes plaines.

- **Primeur** : Bumerdes, Tipaza, Skikda, Alger, Mostaganem, Tlemcen
- **Saison**: Ain-defla, Mascara, Mila, Souk ahras, Bumerdes, Mostaganem, Sétif, Tizi ouzou, Tiaret, M'sila, Tlemcen, Batna, Chlef, Bouira, El-oued.
- **Arrière-saison** : Ain-defla, Mascara, Guelma, Chlef, El oued, Tlemcen, Mostaganem, Djelfa...

2.6. Les Principales variétés cultivées en Algérie

Cent vingt variétés sont inscrites au catalogue algérien des espèces et variétés cultivées. Cette inscription est obligatoire pour leur commercialisation. Elle est précédée de deux ans au cours desquels sont évalués les caractères d'utilisation, le rendement, le comportement vis-à-vis des parasites par le service de Centre Nationale de Contrôle et Certification des Semences et des Plants (CNCC). Les principales variétés cultivées en Algérie sont : Spunta (à chair blanche), Désirée (à chair jaune), Bartina, Lisita.

Les variétés de pomme de terre sont réparties en deux catégories organisées comme suit :

Variétés à peau rouge: Bartina, Amorosa, Cardinal, Condor, Désirée, Cléopatra, Resolie et Thalassa. (Anonyme, Tlemcen ,2008).

Variétés à peau blanches : Safran, Spunta, Diamant, Sahel, Lola, Appolo, Ajax et Yesmina. (Anonyme, Tlemcen ,2008).

3. Les maladies et les ravageurs de la pomme de terre:

Comme toutes les cultures, la pomme de terre est soumise à l'attaque de plusieurs maladies et ravageurs occasionnant parfois des dégâts importants. Les principales maladies et ravageurs de la pomme de terre rencontrés en Algérie sont répertoriés dans le **Tableau 4**.

Synthèse Bibliographiques

Tableau 3:Principales maladies et ravageurs qui touchent la pomme de terre, leurs symptômes et les moyens de lutte (Rouselle et al. 1996) (Maladie et ravageurs pris en compte dans le cadre du contrôle officiel des plants de pomme de terre, 2006)

Maladie	Symptômes	Méthodes de lutte
1-Virales		
Virus de l'enroulement de la terre (PLRV)	-Enroulement des feuilles avec une couleur Jaune pâle ou pourpre rougeâtre - Nécrose du système vasculaire. -Chlorose marginale et interne	-Epuration des touffes malades. -Application d'insecticide systémique.
Virus Y et virus A (PVY et PVA)	-Mosaïque sur les feuilles. -Recourbement des feuilles.	-Sélection clonale. -Epuration des touffes malades. -Application des cultivars résistants
Mosaïque rugueuse et frisolée : infection complexe entre virus X et Y et entre virus X et A	-Mosaïque sur le feuillage -Feuilles tachetées de bandes décolorées et de nécrose. -Déformation et plissement des feuilles.	- Utilisation des plants sains.
Mosaïque (virus X, S et M) X(PVX).S(PVS).M (PVM)	-Mosaïque légère, tacheture et faible éclaircissement des nervures sur le feuillage. -Déformation des feuilles.	-Sélection clonale.
Virus MOP TOP (PMTV)	-Anneaux bruns et nécrotiques sur les tubercules. -Taches brunes, jaune brillant sur les feuilles intérieures.	-Traitement des sols infectés à l'aide de calomel, de sulfure ou oxyde de zinc. -Epuration des touffes malades.
2-Bactérienne		
Pourriture brune (Bacteriose). <i>Pseudomonas solanacearum.</i>	-Flétrissement localisé au sommet de plants. - Un liquide bactérien visqueux de couleur blanchâtre dans les tiges.	-Rotation des cultures.
Jambe noire et pourriture molle.	-Un enroulement typique du sommet et un jaunissement généralisé.	-Récolter les tubercules à maturité, ne pas les laisser au soleil, les sécher convenablement avant de

Synthèse Bibliographiques

	-flétrissement et mort du plant.	leur stockage.
Gale commune <i>Streptomyces scabies</i>	-Des besoins superficiels et réticulaires sur les tubercules, parfois profonde ou en cratère ou encore protubérantes.	-Employer des plants sains ou distincts. Rotation des cultures : betteraves, carottes.
3- Cryptogamiques		
Mildiou <i>Phytophthora infestans</i>	-Des lésions d'aspect humide sur le feuillage. deviennent brunes lors qu'elles sont sèches. -une sporulation blanche sur la face inférieure des feuilles - Noircissement des tiges. -La plante entière détruite en quelque jour. -Coloration brune de tubercules	-Employer des cultivars résistants. -Application des fongicide organique et cupriques. -L'emploi d'un « adhésif » et la pulvérisation de la face inférieure des feuilles.
Rhizoctone Brun <i>Rhizoctonia solani</i>	-Des levées irrégulières ou tardives des plants. -les stolons et les racines présentent des taches brunes profondes. -Le rhizoctone se traduit par un enroulement et un jaunissement de feuillages. Le tubercule contaminé porte à la surface de petits amas noirs très durs (Sclérotés).	Se fait par l'utilisation de plant sain, rotations longues, plantation en sol réchauffé et bien préparé et l'utilisation de fongicides en traitement des plans comme (Monceren, Dithane, Lota, Oscar,...).
Alternariose <i>Alternaria solani</i> et <i>Alternaria alternata</i>	-Sur les feuilles ; des taches nécrotiques, bien délimitées, de taille variable, situées sur les feuilles du bas ; -Sur les tubercules : pourritures brunes à noires, très sèches avec une dépression.	pour la lutte éviter les stress accélérant l'affaiblissement des plantes, utiliser les fongicides anti mildiou (Chlorothalonil, fluazinam,...).
Fusariose (la pourriture sèche) <i>Fusarium roseum</i> var. <i>sambucinum</i> et <i>Fusarium solani</i> var. <i>coeruleum</i>	-Sur le tubercule ; les tissus touchés brunissent et dépriment présente des sites concentriques, la coupe de tubercule montre une pourriture de couleur marron qui se développe vers l'intérieur.	Eviter les blessures des tubercules lors de manipulations, bien sécher les tubercules à la récolte et favoriser la cicatrisation des blessures ; traiter peu de temps après la récolte par un fongicide à base (Thia bendazole + Imazalil) pour contrôler

Synthèse Bibliographiques

		toutes les souches.
Verticilliose <i>Verticillium dahliae</i> et <i>Verticillium albo-atrum</i>	le jaunissement des feuilles suivi par flétrissement du feuillage qui se généralise à l'ensemble de la plante, les feuilles tombent ou restent fixées à la tige qui conserve une couleur verte ; sur les tiges mortes ; la présence de petites sclérotés noirs ou de mycélium suivant l'espèce de champignon et sur les tubercules on note des taches brunes au niveau de l'anneau vasculaire.	la rotation minimale de trois ans entre les cultures solanacées, l'utilisation des plants certifiés et traiter par les fongicides avant la plantation.
4-Les nématodes		
Nématodes à kystes <i>Globodera</i> spp	-Croissance peu vigoureuse, rabougrissement, jaunissement et vieillissement précoce de la partie aérienne. - Des sphères minuscules blanches sur les racines et les tubercules (femelles de nématodes)	-Longue rotation parvient à réduire les populations. - Traitement par nématicide.

4. La pourriture molle bactérienne:

4.1. Généralités sur l'agent causal :

Les bactéries pectonolytiques regroupent principalement Les genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp, (anciennement appelés *Erwiniae* pectinolytiques), Ces phytopathogènes provoquent le flétrissement, la pourriture de la tige et la maladie de la pourriture molle sur de nombreuses cultures. (Winslow et al. 1917 ; Muraschi et al. 1965 ; Lautier., 2007).

4.2. Taxinomie et description :

Les bactéries pectinolytiques appartiennent au phylum des *proteobactéria*, famille des *Entérobactériacées*, genres *Pectobacterium* et *Dickeya*. Ce sont des bactéries phytopathogènes Gram négatif, anaérobiques facultatives, ayant une forme de bâtonnet (0,5-1 µm de diamètre sur 1-3 µm de longueur) et munies de flagelles péritriches (Hauben et Swings, 2005; Charkowski, 2006).

Synthèse Bibliographiques

Les bactéries pectinolytiques ou les Soft Rot *Enterobacteriaceae* (SRE) se distinguent des autres entérobactéries pathogènes par les nombreuses enzymes de dégradation de la paroi cellulaire végétale qu'elles produisent. Au cours des dernières décennies, les entérobactéries qui causaient la maladie de la pourriture molle étaient classées dans le genre *Erwinia* (Winslow et al. 1920).

Avec l'avancée des outils de taxinomie, ont abouti à une nouvelle nomenclature des *Pectobacterium*. *Pectobacterium chrysanthemi* et *Pectobacterium carotovorum* ont été ainsi reclassifiés dans deux genres différents, *Dickeya* (pour *P. chrysanthemi*) et *Pectobacterium* (pour *P. carotovorum*) (Samson et al., 2005). Désormais, les *Erwinia pectinolytiques* sont maintenant reclassifiés en deux genres, *Dickeya* et *Pectobacterium*, comprenant plusieurs espèces et sous-espèces :

Pectobacterium atrosepticum (Pa) (anciennement *Erwinia carotovora* sous-espèce *atroseptica*), *Pectobacterium carotovorum* sous-espèce *carotovorum* (Pcc) (anciennement *Erwinia carotovora* sous-espèce *carotovora*) et *Dickeya chrysanthemi* (anciennement *Erwinia chrysanthemi*). Les espèces de *Dickeya* sont très diversifiées (Charkowski, 2006) et elles ont été divisées en plusieurs pathovars et biovars (Nassar et al., 1996).

Les principales espèces associées à la pourriture de la pomme de terre sont *D. dianthicola*, *D. dadantii*, *D. paradisiaca*, *D. chrysanthemi* (Samson et al., 2005). (Figure 3).

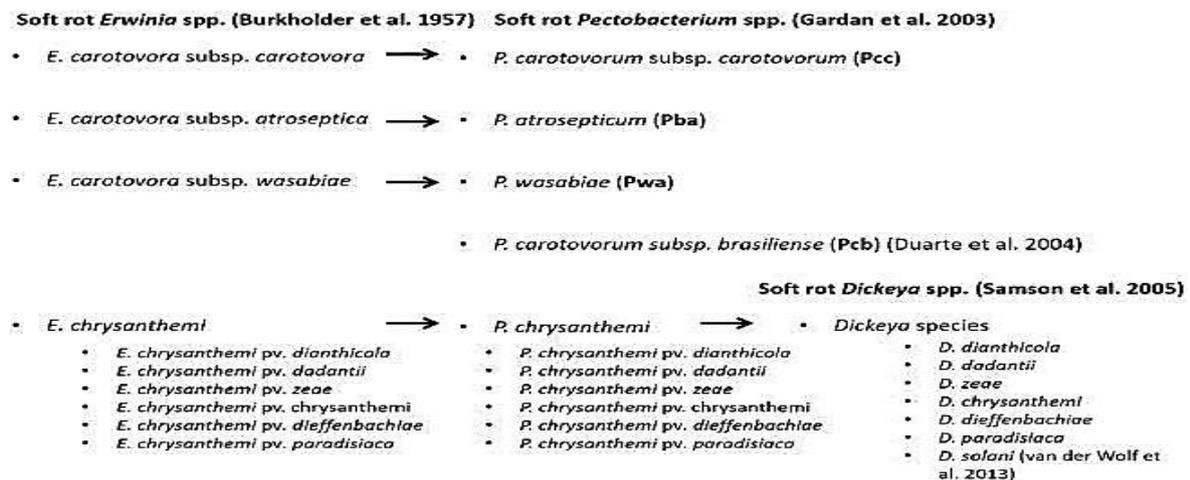


Figure 3: Classification taxonomique de *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. Associés aux maladies de la jambe noire et pourriture molle sur pomme de terre (Czajkowski et al. 2015).

4.3. Les maladies de la pomme de terre liées aux SRE:

Au cours des dernières années, une augmentation de maladies dues aux bactéries *Pectobacterium* a été constatée. Ce groupe de bactéries est classé parmi les agents pathogènes les plus importants économiquement pour la culture de pommes de terre (Hélie, 2008). Lors d'infections précoces des pousses par le *Pectobacterium* sp., des déficiences de peuplement apparaissent au champ. Avec une infection plus tardive, différents symptômes peuvent être distingués à savoir : la pourriture molle des tubercules et la jambe noire. Les symptômes peuvent se manifester différemment selon la variété, le temps, la période d'infection et l'agent pathogène (Pérombelon, 2002 ; Toth et al., 2003).

4.4..La pourriture molle des tubercules

La pourriture molle est la plus importante maladie bactérienne de la pomme de terre à l'échelle mondiale (De Boer, 1994). Les tubercules peuvent être infectés au champ avant la récolte ou pendant le stockage (Corcuff et al., 2011). Les semences et les sols infectés sont les principales sources d'inoculum, et la propagation de l'infection au champ est facilitée par les eaux d'irrigation et de pluie. La dissémination en entrepôt est de son côté assurée par le suintement de tubercules pourris et par les insectes (figure 4) (Yaganza, 2005). *Pectobacterium carotovorum carotovorum* (Pcc), *Pectobacterium atrosepticum* (Pa) et *Dickeya dadantii* sont les trois espèces à l'origine de la pourriture molle des tubercules

(Pérombelon, 2002 ; Toth et Birch, 2005).

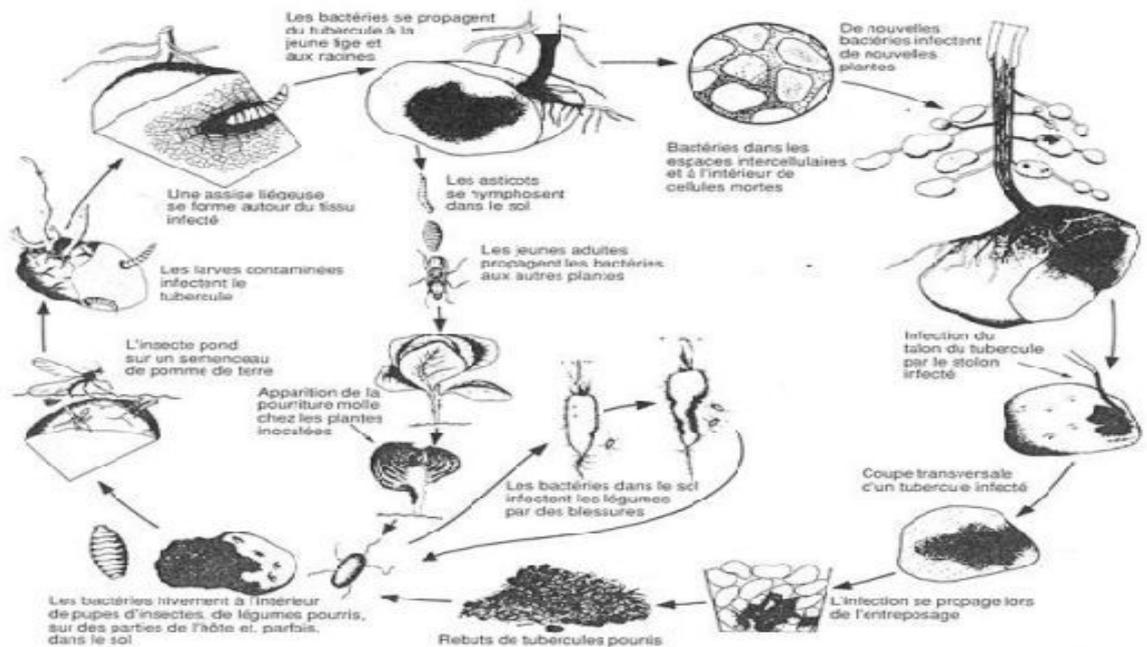


Figure 5. Cycle de développement: de la pourriture molle (Howard et al. (1994))

Figure 4: Cycle de développement de la pourriture molle (Howard et al. (1994)).

4.4.1. La jambe noire

Cette maladie est caractérisée par une lésion noire, souvent visqueuses, se développant à la base des tiges. Ces dernières se laissent facilement arracher, car leurs racines sont détruites. Généralement la maladie débute à partir du tubercule de semence. Les feuilles s'enroulent, jaunissent et finalement flétrissent. Les tubercules pourrissent à partir du stolon. La jambe noire peut se manifester en partie déjà au printemps sur de jeunes plantes, cependant l'infection devient principalement visible seulement en début d'été (juin/juillet). Elle est très répandue surtout en conditions climatiques humides. En conditions sèches et froides, l'attaque est moins violente et le noircissement peut se limiter à la moelle. Cette maladie est principalement due à *Pectobacterium atrosepticum* (ex *Erwinia carotovora atroseptica*) (Toth et al., 2003; Czajkowski et al., 2011).

4.5. Symptômes:

Après la pénétration d'E.ch; la plante hôtes par les différents points d'entrée et avec la présence des conditions favorable 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

Synthèse Bibliographiques

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 (**Figure 5 : A et B**) (**Hélias et al., 2000**).

Selon Perombelon et Salmadon, (1995), les attaques précoces de la bactérie au champ peuvent faire pourrir les tubercules-mères et provoquent des pertes à la levée ou fonte de semis. Au stade plante, les premiers symptômes apparaissent sous forme d'un feuillage vert pâle ou jaunâtre suivis d'un rabougrissement de la plante. Puis la maladie peut se manifester sous forme d'une nécrose humide sur les tiges qui prennent alors une couleur noire d'où le nom de maladie de la jambe noire (**Figure 5 : C**) (**Hélias, 2008**).



Figure 5:Symptômes de la jambe noire sur la partie aérienne du plant de pomme de terre A:flétrissement et jaunissement.B: pourriture môle de tige. C: nécrose sur tige. (**Hélias, 2008**).

Les symptômes observés sur tubercules se caractérisent par des pourritures molles. Se manifestent par l'apparition de petites taches diffuses, d'aspect huileux autour des lenticelles. Ces nécroses sont de couleur marron avec un point noir foncé au centre. Les bactéries se répandent ensuite dans le tubercule en passant par les tissus vasculaires. Puis, les tissus sous-épidermiques se dépriment, deviennent spongieux, brunissent et se crevassent provoquant ainsi une pourriture molle (**Figure 6**) (**Yahiaoui-Zaidi, 2004**).



Figure 6: Porriture molle et humide causée par *Dickeya* spp. (Hélias, 2008).

5. Facteurs de virulence :

Des facteurs de virulence additionnels, ubiquitaires à de nombreuses bactéries pathogènes, sont requis pour une colonisation efficace des hôtes (**Figure 7**) : la mobilité (**Antunez-Lamas et al., 2009**), les exopolysaccharides de surface (EPS) (**Condemine et al., 1999 ; Prigent-Combaret et al., 2012**), les systèmes d'acquisition du fer (**Enard et al., 1988 ; Franza and Expert, 2013 ; Franza et al., 2002**) ou encore les systèmes de protection contre les réactions de défense de l'hôte (**Reverchon et al., 2002 ; Santos et al., 2001**).

5.1. Les exopolysaccharides (EPS)

Les facteurs d'adhésion tels que les EPS ou les bio-surfactants sont synthétisés dans les premières étapes d'infection (**Charkowski et al., 2012 ; Prigent-Combaret et al., 2012**). Ces composés permettent aux bactéries d'adhérer à la surface des végétaux tout en les protégeant de la dessiccation. Lors d'une blessure, la plante produit localement de l'acide jasmonique qui sert de chimioattractant pour *D. dadantii* (**Antunez-Lamas et al., 2009**).

Les bactéries peuvent alors pénétrer à l'intérieur des tissus végétaux dans les fluides intercellulaires. Cet espace intercellulaire ou apoplaste se caractérise par une certaine acidité et une faible disponibilité en fer et en nutriments. Par conséquent, durant les étapes précoces de l'infection, les facteurs permettant la survie et la multiplication cellulaire sont mis en place : afin de résister au stress acide, l'import de protons lié à l'activité des flagelles est réduit ; pour compenser la carence en fer, la production de sidérophores qui sont des chélateurs du fer est induite (**Expert et al., 2008**).

5.2. Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)

De plus, en réponse à la colonisation de l'apoplaste par *D. dadantii*, la plante va chercher à se défendre : elle produit des Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) qui sont des molécules hautement toxiques endommageant les structures cellulaires (végétales et animales) et également des peptides antimicrobiens. Le but est de bloquer la propagation du pathogène dans la plante en perturbant son métabolisme (la plante sacrifie dans le même temps quelques-unes de ses cellules).

Pour contrer ces réactions de défense de l'hôte, *D. dadantii* produit de nombreux facteurs permettant de résister au stress oxydant tels que l'indigoïdine qui chélate les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) (**Reverchon et al., 2002**) ou encore les superoxyde dismutases SodA et SodC et les catalases KatE et KatG qui sont des enzymes réductrices des Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) (**Miguel et al., 2000 ; Reverchon et al., 2010 ; Santos et al., 2001**). Elle produit également le système SAP « Sensitivity to Antimicrobial Peptides » qui lui permet de dégrader les peptides anti-microbiens (**Lopez-Solanilla et al., 1998**).

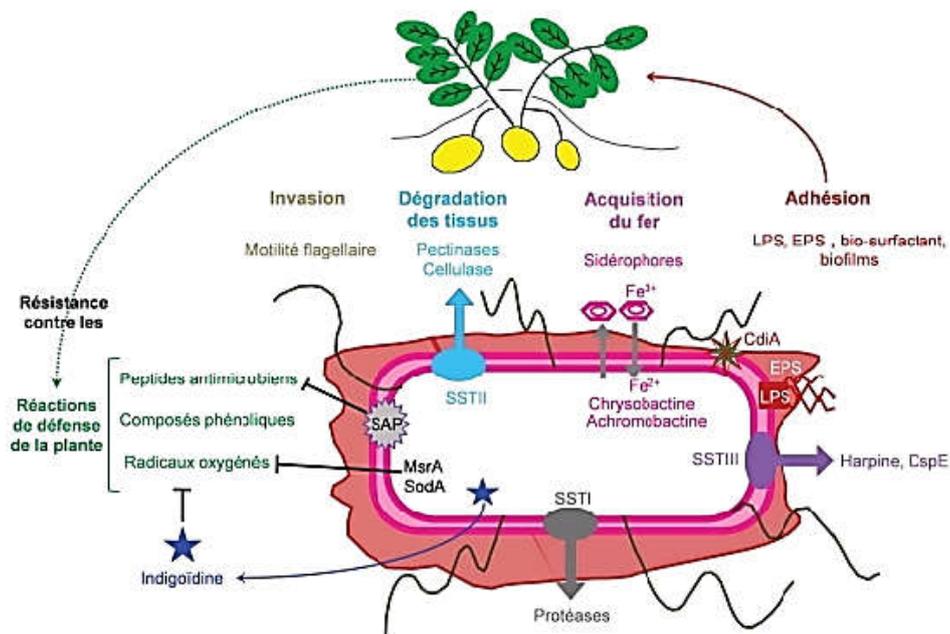


Figure 7: Le pouvoir pathogène de *D. dadantii* est multifactoriel (Sepulchre et al., 2007).

5.3. Les systèmes de sécrétion

Quant aux systèmes de sécrétion de type 1 (SST1) et 2 (SST2), ils sont impliqués dans la sécrétion des enzymes qui dégradent les parois végétales : les protéases (SST1), les pectinases et la cellulase (SST2). Lorsque les bactéries se sont acclimatées aux conditions de l'hôte et se sont suffisamment multipliées pour lancer l'attaque, elles produisent en grande quantité un arsenal d'enzymes qui dégradent les parois végétales (composées majoritairement de pectine et de cellulose) : des pectinases, des cellulases et des protéases. La sécrétion des pectinases (**Robert-Baudouy et al., 2000**) et de la cellulase CelZ (**Py et al., 1991**) est réalisée par le système de sécrétion de type II « Out » (**Condemine et al., 1992 ; Gu et al., 2012**).

L'inactivation du système de sécrétion ont induit une perte de la virulence, illustrant ainsi le caractère primordial des pectinases dans la macération des tissus végétaux. Quant à la sécrétion des protéases, elle est réalisée par le système de sécrétion de type I « PrtDEF » (**Letoffe et al., 1990**). Etant donné que la synthèse massive des pectinases est déterminante à la déstructuration des cellules végétales et que ces enzymes purifiées sont capables de reproduire le symptôme de pourriture molle, elles sont considérées comme le facteur de virulence majeur chez *D. dadantii* (**Hugouvieux-Cotte-Pattat et al., 1996**).

5.4. Les sidérophores

L'attachement de *D. dadantii* aux tissus végétaux est facilité par la présence des lipopolysaccharides (LPS), des exopolysaccharides (EPS), des bio films ou encore des bio surfactants exportés dans le milieu extérieur. Les sidérophores tels que la chrysobactine et l'achromobactine qui se complexent au Fe³⁺ insoluble et le ramène sous une forme utilisable par la bactérie (Fe²⁺) permettent à *D. dadantii* de survivre à la carence en fer, une condition rencontrée après l'entrée dans l'hôte végétal. Les molécules ayant une action antioxydante tels que la réductase MsrA, le superoxyde dismutase SodA ou l'indigoïdine permettent à *D. dadantii* de résister au stress oxydant généré par les réactions de défense de la plante. Par ailleurs, des protéines effectrices (la harpine et la toxine DspE) qui perturbent le métabolisme de la plante hôte sont injectées directement dans les cellules végétales via un système de sécrétion de type 3.

6. Chélation du fer :

6.1 Définition :

La chélation permet de rendre le fer assimilable par un organisme. Le chélate de fer est obtenu grâce à l'association du fer avec soit : Une substance argileuse ; un acide dit chélateur de fer qui forme des complexes métalliques grâce à son fort pouvoir chélatant.

6.2. Les sidérophores

Les sidérophores sont des composés des grecs anciens mots, sidero 'fer' et phore 'porteurs' signifiant « transporteurs de fer ». Ce sont des produits de faible poids moléculaire (<10 kDa) composés chélatants du fer, produits par «bactéries rhizosphériques» dans des conditions limitées en fer afin d'améliorer la croissance des plantes en récupérant le fer de l'environnement et en rendant le minéral disponible pour la cellule près de la racine (Neilands 1952 ; Lankford 1973; Alexandre & Zubererm 1991 ;Hider et Kong 2010 ; Maheshwari 2011; Ahmed & Holmström 2014).

Le fer est le principal composant de diverses fonctions vitales (photosynthèse, cofacteur enzymatique, réactif redox, respiration, synthèse de nucléosides et d'acides aminés) de la plante. En raison de carence en fer, diverses plantes semblent compter sur Excrétion de phytosidérophores (c'est-à-dire des composés chélates, courants dans les graminées qui séquestrent le fer) par les racines et la sécrétion des sidérophores par groupe de microbes pour faciliter l'absorption du complexe Fe sous conditions de carence en fer, qui se lie avec des affinités pour le fer (Takagi 1976; Mino et al. 1983; Marschner et al. 1986; Neilands 1995 ; Kannahi & Senbagam 2014).

Les chercheurs on suppose que la compétition pour le fer dans la rhizosphère était contrôlée par l'empathie des sidérophores pour le fer (Loper & Henkels 1999; Bernd & Rehm 2008 ; Munees & Mulugeta 2014). Les sidérophores fonctionnent comme la croissance des plantes promoteurs (Yadav et al. 2011 ; Verma et al. 2011), agents de lutte biologique (Verma et al. 2011) et agents de bioremédiation (Wang et al. 2011 ; Ishimaru et al. 2012), en plus de leur rôle précieux dans l'altération des minéraux du sol (Reichard et al. 2005 ; Buss et al. 2007 ; Shirvani & Nourbakhsh 2010). Sols alcalins sont considérés comme des inducteurs potentiels de fer carence dans les plantes malgré la présence de fer en forte concentration dans le sol, lorsque le pH du sol dépasse 6,5–7,0, la disponibilité du fer dans le sol est Significativement réduite, tandis que les sols calcaires, qui ont un pH élevé,

Synthèse Bibliographiques

diminuent l'affinité des plantes pour Fe et entravent ainsi le mécanisme d'absorption de Fe (Reichard et al. 2005 ; Buss et al.2007 ; Shirvani & Nourbakhsh 2010).

6.3. Classification des sidérophores

Une grande variation est observée dans la structure des sidérophores Produit par de nombreuses bactéries. Les sidérophores sont généralement classés sur la base de groupes de coordination qui chélatent l'ion Fe (III). Les groupes de coordination les plus courants sont les catécholates, les hydroxamates et carboxylates (Ali & Vidhale 2013). Une minorité de les sidérophores ont des ions Fe (III) chimiquement distincts groupe de liaison, y compris l'acide salicylique, l'oxazoline ou l'azote de la thizoline. (Ali & Vidhale 2013)

Certains sidérophores dont les pyoverdines sont classées comme des « ligands mixtes » ayant groupes de coordination appartenant à des classes chimiquement différentes. Différents types de sidérophores Ont été identifiés par mobilité électrophorétique, titrage spectrophotométrique, spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton, spectrométrie de masse, hydrolyse acide et activité biologique.(Ali & Vidhale 2013)

6.4. Les différents types de sidérophores

Lorsque les cellules microbiennes perçoivent une carence en fer, l'expression des gènes codant les enzymes nécessaires à la synthèse et au transport des sidérophores est activée (Saha et al., 2013). Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire, de 400 à 1000 kDa, avec une forte affinité pour le fer Fe³⁺ et permettent la nutrition en fer des microorganismes (Saha et al., 2013). Ces molécules contiennent généralement l'un ou plusieurs de ces quatre groupements assurant la chélation des ions Fe³⁺ : les catécholates, les phénolates, les hydroxamates et les α hydroxycarboxylates (Figure 8) (Miethke and Marahiel, 2007).

L'ion Fe³⁺ est chélaté par le sidérophore selon la denticité de ce dernier. Si le sidérophore est bidenté, le ratio fer-ligand est 1:3, si le sidérophore est hexadenté, le ratio est alors de 1:1 et la stabilité du complexe est augmentée (Winkelmann, 2002). L'affinité des sidérophores pour le fer est variable et peut être supérieure à $K_{aff} > 10^{30}$ M selon les conditions environnementales (Raymond and Carrano, 1979). Askwith et al ont montré qu'un sidérophore peut extraire le fer de l'acier inoxydable (Askwith et al., 1996).

Pour caractériser la capacité de chélation d'un sidérophore, les chercheurs utilise le pFe. Le pFe est une valeur logarithmique dépendante du pH, attribuée au sidérophore par

Synthèse Bibliographiques

convention lorsque la concentration en ions Fe (III) est égale à 10^{-6} M et celle du ligand égale à 10^{-5} M, soit $pFe = -\log(Fe^{3+} \text{ aq libre})$ à $pH=7,4$ (Boukhalfa and Crumbliss, 2002).

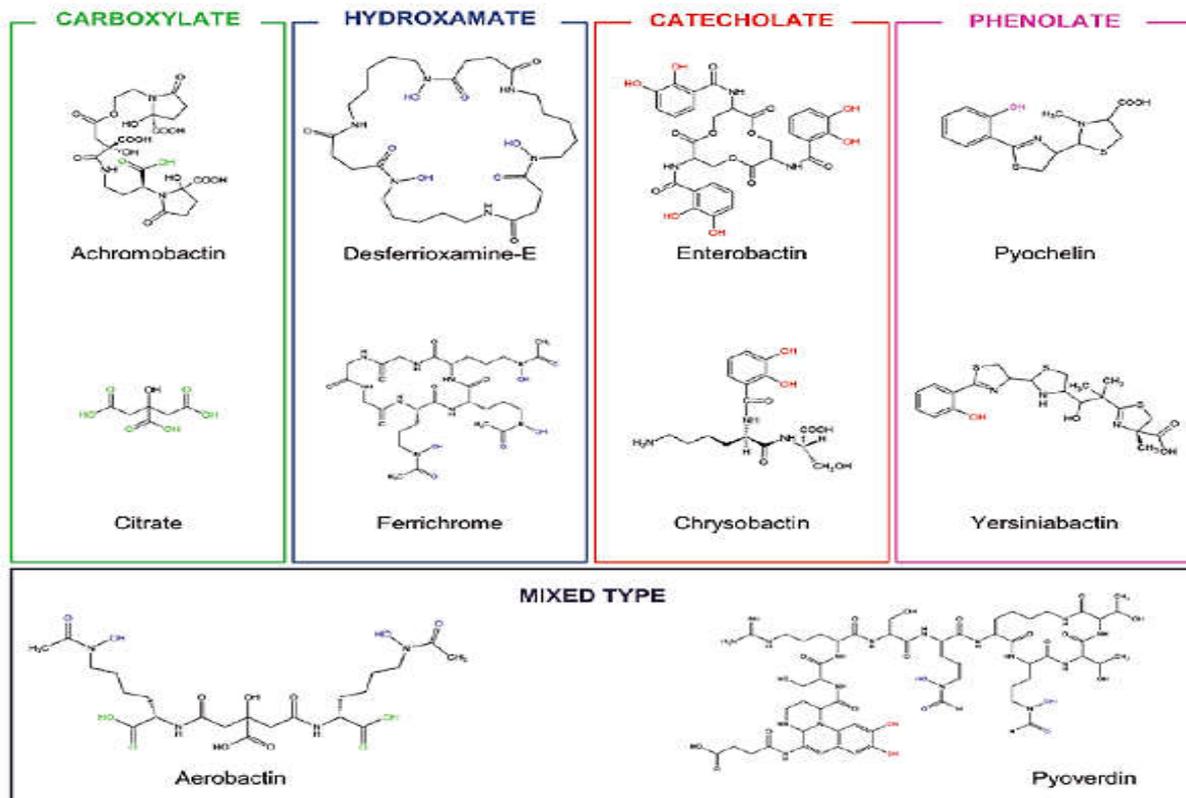


Figure 8: Les différents types de structure des sidérophores et les groupements impliqués dans la chélation du fer (Miethke and Marahiel, 2007)

6.5. Production de sidérophores :

Dans l'apoplaste, *Dickeya* produit deux sidérophores : la chrysobactine et l'achromobactine, qui permettent à celle-ci de faire face à la faible disponibilité en fer dans la plante. Le fer étant un élément essentiel dans les réactions enzymatiques, son acquisition par la bactérie est donc primordiale (Franza and Expert, 2013). Cependant, le fer est aussi un métal dangereux du fait de sa capacité à générer des Reactive Oxygen Species (ROS) (Cornelis et al., 2011).

C'est pour cette raison que *Dickeya* produit plusieurs protéines de stockage du fer comme FntA, Bfr et Dps, qui contribuent à la virulence, illustrant l'importance d'un contrôle parfait de l'homéostasie du fer pendant l'infection (Boughammoura et al., 2008).

6.5.1. L'acquisition du fer par les sidérophores.

L'utilisation de sidérophores pour assurer la nutrition en fer des microorganismes est le processus le plus répandu. Les sidérophores sont produits par presque tous les

Synthèse Bibliographiques

microorganismes, procaryotes ou eucaryotes étudiés, à l'exception de *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans* (Miethke and Marahiel, 2007). Jusqu'à présent, plus de 500 sidérophores ont été identifiés (Miethke and Marahiel, 2007). Cependant, si ces trois espèces ne produisent pas elles-mêmes des sidérophores, elles possèdent la machinerie moléculaire permettant l'utilisation de sidérophores sécrétés par d'autres microorganismes, nommés alors xénosidérophores (Miethke and Marahiel, 2007).

6.5.2. Acquisition du fer chez les bactéries

Le fer chez les organismes hôtes est comme décrit précédemment en quantité biodisponible très limitée (Andrews, Robinson, et Rodríguez-Quñones, 2003). Par conséquent, au cours de l'infection, les pathogènes utilisent diverses stratégies afin d'accéder aux ressources en fer. Une croissance bactérienne optimale (*in vitro*) nécessite une concentration comprise entre 10^{-7} et 10^{-5} M de fer, alors que chez l'hôte la concentration en fer biodisponible est d'environ 10^{-24} M. (Andrews, Robinson, et Rodríguez-Quñones, 2003)

Les méthodes d'acquisition du fer sont liées étroitement avec la virulence de la bactérie, et peuvent être directes ou indirectes. L'acquisition directe du fer se fait par l'intermédiaire d'un contact entre les protéines situées à la surface de la bactérie et les sources de fer de l'hôte (résumées précédemment) ciblées par le pathogène. L'acquisition indirecte nécessite la synthèse et la sécrétion dans le milieu extracellulaire de molécules présentant une forte affinité pour le fer : les sidérophores (affinité forte pour le fer ferreux Fe^{3+}) et les hémophores (ciblent spécifiquement l'hème, libre ou complexé) (Andrews, Robinson, et Rodríguez-Quñones, 2003).

6.6. Le stockage du fer chez les microorganismes

6.6.1. Le stockage du fer chez les bactéries

Chez les bactéries, trois types de protéines responsables du stockage du fer cytoplasmique ont été décrites : les protéines Dps ou miniferritines, les ferritines et les bactérioferritines. Les ferritines, qui sont également présentes chez les eucaryotes, ont été identifiées chez les bactéries. Ces protéines sont constituées de 24 sous-unités et permettent de stocker jusqu'à 3000 atomes de cet élément. Lors de la phase de croissance exponentielle de la bactérie *E. coli*, la protéine FtnA, codée par le gène *ftnA*, stocke l'excédent de fer dans la bactérie (Abdul-Tehrani et al., 1999).

Synthèse Bibliographiques

Les bactéroferritines (Bfr), qui assurent le stockage du fer cytoplasmique, sont des protéines de 500kDa organisées en 24 sous-unités qui comportent au total 12 hèmes. Cependant, des variants sans hèmes ont été identifiés chez *E. coli* (**Le Brun, 1995**). Les gènes *bfr*, codant les bactéroferritines sont souvent associés aux gènes *bfd* qui eux codent des ferrédoxines associées aux bactéroferritines (Bfd). Il semblerait que les bactéroferritines et ferrédoxines associées interagissent de sorte qu'en condition de carence en fer la Bfd, grâce à ses propriétés redox réduirait la Bfr afin de libérer et rendre disponible le fer stocké par les bactéroferritines (**Quail et al., 1996**).

Expert et al. Ont montré que 5% du fer de *D. dadantii* est contenu dans les bactéroferritines et 1% est stocké grâce aux protéines Dps (**Expert et al., 2008**). Les gènes codant ces protéines sont régulés transcriptionnellement par le régulateur Ferric uptake regulator (Fur).

Les Dps, ou miniferritines, sont de petites protéines de 250 kDa qui ont été identifiées chez *E. coli* et sont présentes uniquement chez les procaryotes. Une protéine Dps est constituée de 12 sous unités Dps et peut stocker du fer à hauteur de 500 atomes de fer par sous-unités (**Andrews et al., 2003**). La fonction biologique des protéines Dps est la protection de l'ADN contre les dommages causés par le stress oxydatif, notamment lié à la présence de fer dans la cellule (**Almiron et al., 1992**). De ce fait, bien que ces protéines participent au stockage du fer intracellulaire, ce n'est pas leur fonction première (**Zhao, 2002**).

Chapitre II :

Matériels et méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

L'objectif de notre travail est la mise en évidence de l'activité ferrique par la production de sidérophores chez les bactéries pectinolytiques Soft Rot *Enterobacteriaceae* (SRE) et pour confirmer par la suite si un système d'acquisition du fer est fonctionnel.

1. Origine de l'inoculum bactérien

Les souches bactériennes étudiées ont été isolées par (Chekalil et Zentou., 2019) et identifiées par voie biochimique par (Larbaoui et Mennad., 2020). Pour rappel, ce sont des souches isolées à partir des tubercules de pomme de terre var Spunta et désirée présentant des symptômes de pourriture molle. Les souches étaient conservées à 4°C en tubes inclinés contenant le milieu Gélose Nutritive (GN).

2. Purification des souches bactériennes

La purification est une opération nécessaire afin de s'assurer de la pureté des souches bactériennes à inoculer. La méthode consiste à faire des étalements sectoriels avec la culture bactérienne de chaque souche à l'aide d'une anse. A raison de 3 secteurs par boîte contenant le milieu GN, suivie d'une étape d'incubation à 28°C de 24 à 48h en position renversée, couvercles en bas, pour éviter l'eau de condensation sur le couvercle.

3. Identifications sur milieu sélectif

La grande sélectivité du milieu Crystal violet polypectate CVP est notamment basée sur l'utilisation du Crystal violet et du polypectate comme composants. Le premier inhibe la croissance des bactéries Gram positif, alors que le deuxième permet la mise en évidence des colonies pectinolytiques par la formation de cavités résultant de la dégradation du pectate (Hélias et al., 2005).

A l'aide d'une anse stérile, on prélève une colonie de chaque souche et qu'on dépose sur le milieu CVP en boîte pétri, et incubé à 30°C pendant 24 à 48 h. Les souches formant des cavités sur le milieu seront sélectionnées pour les tests antérieurs.

4. Mise en évidence de l'activité ferrique

La production des sidérophores est mise en évidence par la technique de (Pérez-Miranda et al., 2007) sur milieu succinate et King B. Les suspensions bactériennes sont

Matériels et méthodes

préparées à partir des cultures jeunes âgées de 24h. A l'aide d'une anse en platine, on prélève les colonies bactériennes qu'on dépose dans de l'eau distillé stérile jusqu'à obtenir une concentration de 10^8 cfu.ml⁻¹ correspondant à une densité optique de 0.3 (600λ) (**Figure 9**).

Pour chaque souche, un volume de 200μl de la suspension bactérienne est déposé dans un tube contenant 10ml de chaque bouillon succinate et de King B. Les tubes ont été disposés en bain marie à 30°C réglé à une vitesse moyenne pendant 72h (**Figure 10**).

Le témoin négatif correspond à l'inoculation de 200μl d'eau distillée stérile.



Figure 9: Suspension bactérienne préparée à une concentration de 10^8 cfu/ml (**Original,2022**).



Figure 10: L'incubation dans un bain marie à 30°C durant 72h (**Original, 2022**).

Après 72h d'agitation en bain marie, les tubes sont centrifugés pendant 45min à une vitesse de 5000rpm (**Centrifuge 5804**) afin d'obtenir deux phases: le surnageant et le culot. (**Figure 11**).

Matériels et méthodes



Figure 11: Centrifugation des tubes après agitation (Original.,2022).

Le surnageant obtenus de chaque tube est récupéré puis filtré en utilisant des papiers filtres stériles de diamètre de $0.22\mu\text{m}$ (Figure 12).

L'absorbance du filtrat est mesurée à une longueur d'onde 400nm afin de confirmer la présence et la quantité des sidérophores dans chaque surnageant (Rachid and Bebsoltane2005).

La présence des sidérophores, est révélée par l'utilisation de la solution de chlorure ferrique FeCl_3 à 2% a été préparée (Figure 13).

<p>Figure 12: Filtration et récupération du surnageant (Originale, 2022).</p>	<p>Figure 13:Préparation de la solution chlorure ferrique FeCl_3 à 2 %.(Original, 2022).</p>

Matériels et méthodes

Un volume de 1 ml de filtrat est rajouté dans 5 ml de FeCl₃ à 2%. La formation d'une couleur rouge indique la présence de sidérophores ; l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 420 nm pour indiquer la présence de sidérophores de type hydroxamat (Neilands, 1981), et à 490 nm pour indiquer la présence de sidérophores de type catecholate (Jalal and Vender Helm, 1990). Le test est considéré positif s'il y aura un anneau rouge sur la surface du mélange.

5. Test température à 39°C et 41°C :

Les bactéries appartenant au genre *Dickeya* ont des températures de croissance optimales plus élevées que *les Pectobacterium* spp. 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).

Pour chaque souche, des stries sont réalisées à partir d'une culture pure sur le milieu GN incubé pendant 48h à deux différentes températures 39°C pour indiquer les *Pectobactérium* et 41°C pour indiquer les *Dickeya*. L'incubation est prolongée jusqu'à 4 jours. La lecture des résultats se base sur la présence ou l'absence d'une croissance sur les tubes.

6. Test d'antibiogramme :

Les disques antibiotiques d'érythromicine sont utilisés pour l'analyse qualitative de la sensibilité des bactéries ou des moisissures aux réactifs antis microbiologiques par diffusion *in vitro*.

Un inoculum standardisé de bactéries est tamponné sur la surface d'une boîte de gélose Mueller-Hinton (MH) (Figure 14 : A, B). Des disques d'érythromicine d'agents antimicrobiens sont placés sur la gélose (Figure 15). Après 48 h d'incubation à 37°C, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré autour de chaque disque. En se référant aux tableaux de la norme CLSI ou EUCAST, on obtient un rapport qualitatif de sensible, intermédiaire ou résistant. Pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques des cultures bactériennes.

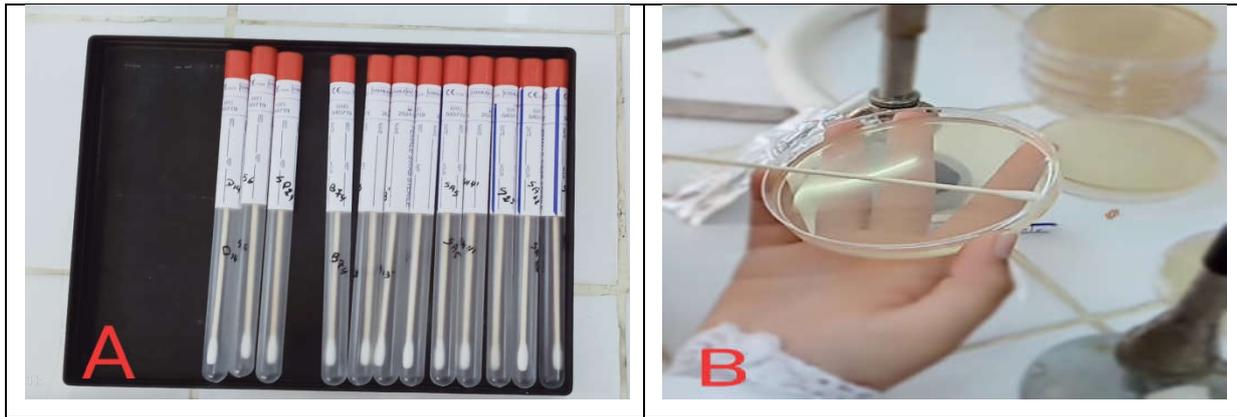


Figure 14: Repiquage (Original, 2022).



Figure 15: Application des disques d'érythromicine sur milieu Mueller Hinton (Original, 2022).

7. Pouvoir pectinolytique

Le test est réalisé sur des tubercules qui sont coupés en rondelles régulières avec un couteau stérile. Pour chaque rondelle et à l'aide d'un scalpel stérile, trois puits d'environ 2mm de diamètre et 5 mm de profondeur chacun sont réalisées. Chaque rondelle est déposée dans une boîte pétri contenant préalablement un papier filtre stérile humidifié.

A partir des cultures jeunes de 48h, chaque souche bactérienne est inoculée à une tranche de pomme de terre. Les trois puits constituent les répétitions (Figure 16). Les boîtes sont ensuite fermées avec du parafilm afin de limiter les échanges gazeux et incubées à une température de 30°C pendant 48h. Le test est réalisé deux fois.

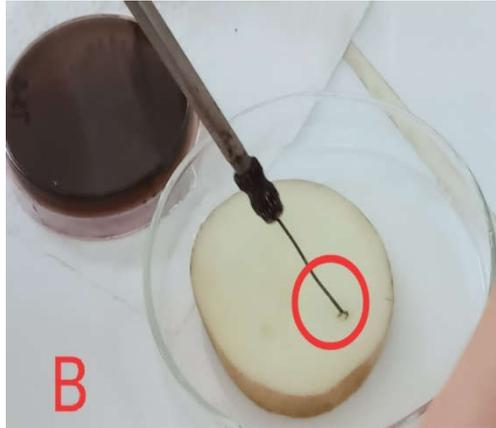


Figure 16: Test du pouvoir pectinolytique sur les tranches de la pomme de terre (**Original, 2022**).

8. Conservation des souches bactérienne:

Une fois les manipulations terminées, les souches bactériennes pures sont conservées à -5°C en micro-tube à vis contenant v/v bouillon nutritif et glycérol.

Chapitre III :

Résultats et discussion

I- Résultats

1. Croissance sur les milieux de cultures

1.1. Identification sur milieu GN

On se basant sur l'observation macroscopique, les 12 souches bactériennes se sont bien développées sur le milieu GN, les colonies sont de couleur blanchâtre, de taille moyennes avec forme circulaire à bord régulier et élévation bombée (**Figure 17**).



Figure 17: Les caractéristiques macroscopiques des souches sur milieu GN (Original, 2022).

1.2. Identification sur milieu King B

Après 48h d'incubation sur milieu King B, une seule souche parmi les 12 souches incubées a répondu positive par émission de fluorescence sous rayons UV56 (**Figure 18**).



Figure 18: Aspect macroscopique sur milieu King B. A observé sous lumière UV (Original, 2022).

T+ : Résultats positif par présence de fluorescence.

T- : Résultats négatif absence de fluorescence.

Résultats et discussion

1.3. Sur milieu sélectif

Après 48h d'incubation des souches sur le milieu CVP, les 12 souches testées ont formé des cavités profondes, similaires à celles obtenues avec la souche de référence (témoin positif) (Figure 19).

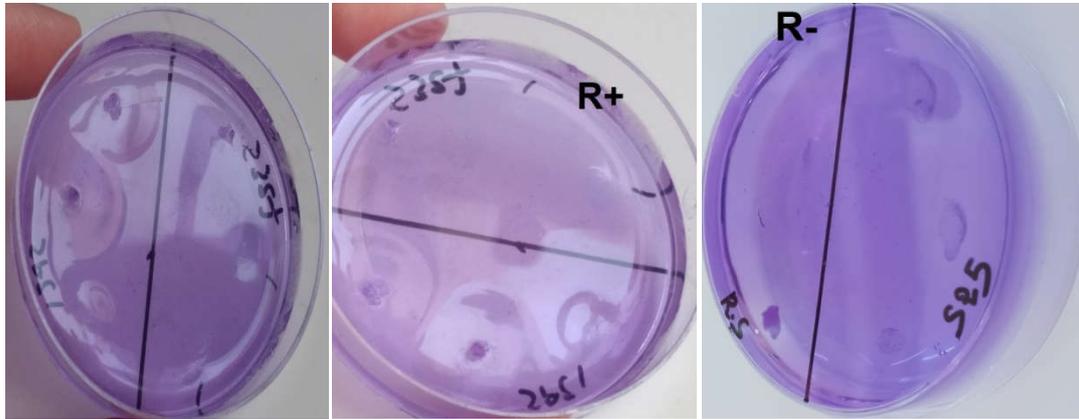


Figure 19: Résultats du test CVP (Original, 2022).

R+: Résultat positif se traduit par présence de cavité.

R- : Résultat négatif se traduit par l'absence de cavité.

2. Mise en évidence de l'activité ferrique

Sur le milieu succinate et King B

Après l'ajout de $FeCl_3$ au filtrat obtenu, nous avons remarqué l'apparition d'un anneau rouge pour l'ensemble des douze souches testées, indiquant ainsi la présence de sidérophores.

Cependant, pour la même souche, les résultats sont plus visibles (anneau de couleur plus foncé) sur le milieu succinate (Figure 20) que sur le milieu King B (Figure 21). Cette couleur disparaît quelques minutes après réaction.

Résultats et discussion



Figure 20: Mise en évidence la présence de sidérophore sur milieu succinate (Original, 2022).



Figure 21: Mise en évidence la présence de sidérophore sur milieu King B (Original, 2022).

L'absorbance du filtrat est mesurée afin de confirmer la présence et la quantité des sidérophores dans chaque surnageant.

La mesure de l'absorbance du filtrat par spectrophotométrie à une longueur d'onde 400nm a confirmé la présence des sidérophores (Figure 22).

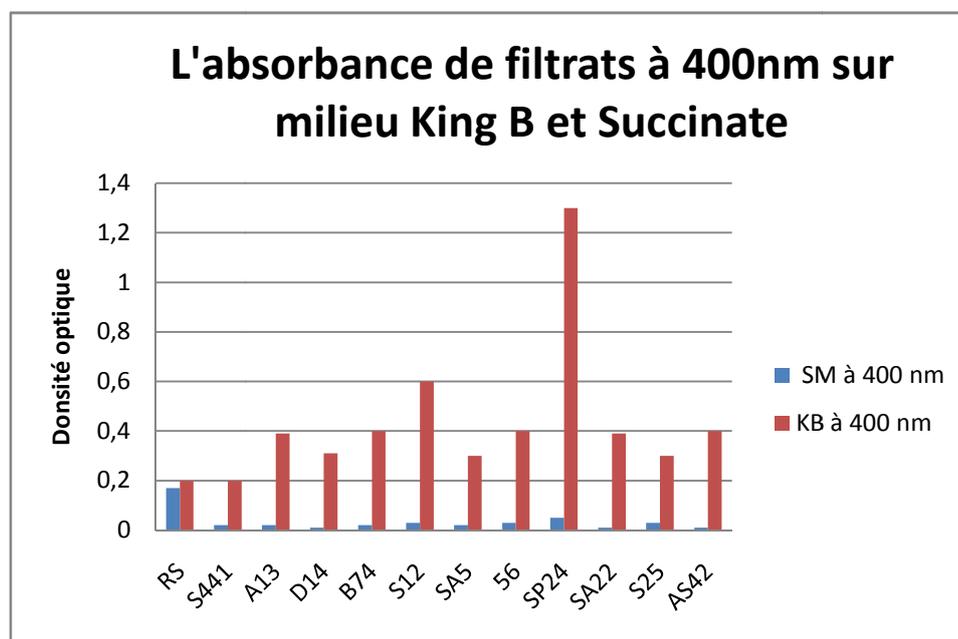


Figure 22: La mesure de l'absorbance à 400 nm (Original, 2022).

Résultats et discussion

L'estimation qualitative de la production de sidérophores pour les souches étudiées a été effectuée à deux longueurs d'ondes différentes à 420 et 490 nm, en effet, ces mesures ont indiqué des valeurs significativement variables selon la longueur d'onde mesurée.

Les 12 souches ont montré une capacité différente à produire les 2 types de sidérophores (catecholates et hydroxamates) sur les deux milieux King B et succinate. La mesure de l'absorbance à 420 nm sur milieu King B a indiqué que la souche SA5 montre une forte valeur de sidérophores de type hydroxamate correspondant à une valeur de densité optique 1.25. Cette valeur est presque similaire sur milieu succinate suivies par les souches S25 et S441 avec une densité optique correspondant à 1 pour les deux milieux.

La mesure de l'absorbance à 490 nm correspondant à la présence de sidérophores de type catecholates est faible chez les souches A13, SA5, 56, SA22, S25, et AS42 avec une densité optique de 0.6 suivies de la souche SP24, avec une densité optique de 0.2 et enfin les souches D14 et B74, avec une densité optique de 0.1 par rapport au témoin à valeur nulle (**Figure 23**).

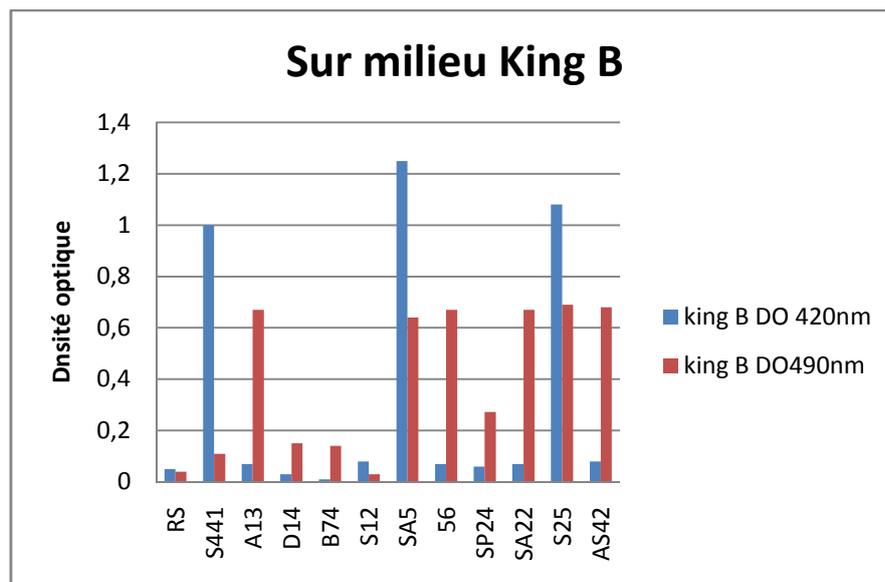


Figure 23: Présentation graphique des résultats du test de production de sidérophores, des bactéries testées sur le milieu King B (**Original, 2022**).

La mesure de l'absorbance à 420 nm pour milieu succinate indique que les souches 56 et SA5 présentent les valeurs les plus élevées avec une densité optique de 1.1 comparé aux valeurs pour la même absorbance sur milieu King B, suivies de la souche S25 avec une densité optique de 1.08, et enfin, la souche S441 d'une densité optique 1.016 sur milieu succinate en présence de FeCl₃.

Résultats et discussion

La mesure de l'absorbance à 490nm correspondant à la présence de sidérophores de type catecholate. Cette dernière est élevée chez la souche S441, par contre la production est très faible chez les souches S25, AS42, SA5, SA22 et A13 avec une densité optique de 0.4. La production est négative chez les autres souches en comparant avec un témoin d'une valeur négative (**Figure 24**).

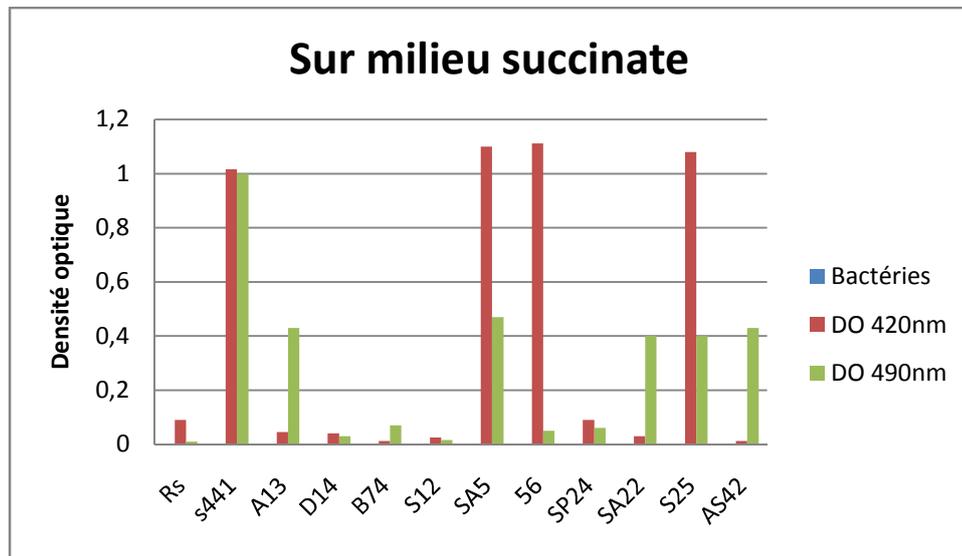


Figure 24:Présentation graphique des résultats du test de production de sidérophores, des bactéries testées sur le milieu succinate (**Original, 2022**)

A la lumière des résultats obtenus, nous avons constaté que les souches étudiées produisent différents types de sidérophores.

Sur milieu King B Cinquante pourcent (50%) des souches testées produisent des sidérophores de types catecholate (6/12 isolats) à savoir la A13 SA5 56 SA22 S25 et AS42 et (25%) de type hydroxamat (3/12 isolats) SA5 S25 S441. et enfin, (25%) dont les valeurs sont non significatives.

Sur milieu succinate (50%) des souches testées produisent des sidérophores de types catecholate (6/12 isolats) à savoir S441 A13 SA5 SA22 S25 AS42 et (40%) de type hydroxamat (4/12 isolats) SA5 S25 56 et S441, et enfin (20%) dont les valeurs sont non significatives.

3. Test température à 39°C et 41°C

Après 48h d'incubation à 39°C, nous observons la croissance de l'ensemble des bactéries testées. Contrairement à la croissance à 41°C, où huit souches sur 12 soit (67%) ont pu

Résultats et discussion

croître. ces résultats indique fortement l'appartenance des souches pectinolytiques testées au genre *Dickeya* (tableau 4).

Tableau 4:Résultats de test température à °39C er 41°C (Original ,2022).

Température souches	39°C	41°C
RS	+	+
SA5	+	-
S12	+	-
S441	+	-
D14	+	+
B74	+	+
A13	+	+
56	+	+
SP24	+	+
SA22	+	+
S25	+	+
AS42	+	-

⊕ : Résultats positive (présence de croissance).

- : Résultats négative (absence de croissance).

4. Test d'antibiogramme

Ce test est visualisé en observant la sensibilité des souches envers l'antibiotique érythromycine et en calculant la zone d'inhibition correspondante. Parmi les 12 souches testées, 11souches ont répondu négativement à l'inoculation *in vitro*. De manière hétérogène les souches présentant un potentiel élevé de résistance aux antibiotiques, seule la souche 56 répondent positivement par l'apparition de la zone d'inhibition (**Figure 25**).

Résultats et discussion



Figure 25:Résultats du test antibiogramme (Original, 2022).

R : Résultats resistanceau test d'antibiotique.

S : Résultats sensible de test d'antibiotique.

RS : Souche de référence.

5. Pouvoir pectinolytique

Deux jours après l'inoculation des disques de pomme de terre par les différentes suspensions bactériennes, l'apparition et le développement des symptômes sur les disques se traduisent par la dégradation des tissus infectés qui deviennent spongieux, avec une couleur crème à brune foncée, dégageant une forte odeur nauséabonde (Figure 26).

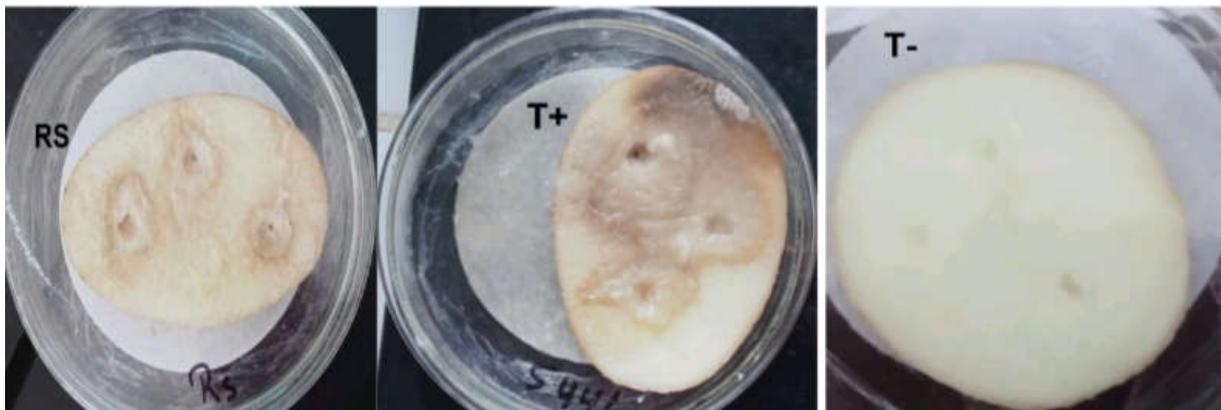


Figure 26:Résultats des disques de pomme de terre à l'inoculation des souches après 48h d'incubation à 30°C (Original, 2022).

RS : Souches de référence.

T+ : Témoin positive.

T- : Témoin négative.

II. Discussion

Les bactéries pectinolytiques, en particulier celles appartenant aux genres *Pectobacterium* (Gardan et al., 2003) et *Dickeya* (Samson et al., 2005), figurent parmi les principaux phytopathogènes des cultures importantes dans le monde (Ma et al., 2007). Leur pathogénicité réside essentiellement dans leur capacité à sécréter des enzymes dégradant la paroi cellulaire (notamment des pectinases, cellulases, protéases et xylanases), et donc à faire macérer le tissu hôte (Pérombelon, 2002).

Au cours des dernières années, une augmentation de maladies dues aux bactéries *Pectobacterium* a été constatée. Ce groupe de bactéries est classé parmi les agents pathogènes les plus importants économiquement pour la culture de pommes de terre (Hélias, 2008). Lors d'infections précoces des pousses par le *Pectobacterium* sp. Des déficiences de peuplement apparaissent au champ. Avec une infection plus tardive, différents symptômes peuvent être distingués à savoir: la pourriture molle des tubercules et la jambe noire. Les symptômes peuvent se manifester différemment selon la variété, le temps, la période d'infection et l'agent pathogène (Pérombelon, 2002; Toth et al., 2003).

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

Identifications sur milieu CVP

La sélectivité du milieu CVP est basé sur la présence de crystal violet qui inhibe la croissance de la plupart des bactéries à Gram positif et l'utilisation du polypectate comme une unique source de carbone (Hélias et al., 2011). Les SRE sont identifiés phénotypiquement sur ce milieu par la formation de cavités volumineuse (KettaniHalabi.,2014), Ces information confirmée nos résultats

Ce milieu permet l'identification des bactéries dégradant la pectine (*Pectobacterium*, *Dickeya*), grâce aux cavités caractéristiques qu'il y forme après Production importante d'enzymes dégradant la pectine (Perombelon et Burnett, 1991; Helias et al., 2012 ; Charkowski et coll., 2007 ; Freige et al., 1997).

Résultats et discussion

Mise en évidence de l'activité ferrique

La production de sidérophore a été détectée par l'observation de halos orange entourant les souches testées (**Ried, and A. Collmer, 1987**). La bibliographie révèle que le genre *Dickeya* produit plusieurs protéines de stockage du fer (**Boughammoura et al., 2008**).

Parmi les résultats obtenus par notre étude, 50% des souches produisent des sidérophores de types catécholates sur les deux milieux King B et succinate. En revanche, la production d'hydroxamate diffère de 25% sur milieu King B et de 40% sur milieu succinate. La souche la plus productrice de sidérophore dans le milieu King B est SA5 avec une valeur de densité optique de 1.25 à une longueur d'onde 420 nm alors que sur le milieu succinate, c'est la souche S441 avec une densité optique de 1 à une longueur d'onde de 490 nm.

La capacité de plusieurs espèces bactériennes à détecter des sidérophores pour produire des composés liant le fer au sidérophore peut être appliqué à un large éventail d'espèces microbiennes. Y compris les champignons et les bactéries Gram positives (**Schwyn et Neilands, 1997**). Une fois libérés dans le milieu extérieur, les sidérophores chélatent le fer (Fe³⁺), le séquestrent sous une forme inutilisable par le pathogène (**Lopper et Henkels, 1999**).

Pectobacterium sp. requiert une concentration en fer d'au moins 10⁻⁶ M pour survivre. Ainsi, chez *Dickeya dadantii*, des mutants non producteurs de chrysobactine ou d'achromobactine sont très affectés dans leur pouvoir pathogène (**Franza et al., 2005**). Par ailleurs, l'expression de gènes codant pour certaines pectate lyases (pelB, C, D et E) de *Dickeya dadantii* est induite lors d'une carence en fer, et réprimée par la protéine Ferric uptake regulator (Fur) en présence de fer dans le milieu (**Franza et al., 2002; Franza et al., 2005**). Ce couplage entre deux fonctions essentielles au pouvoir pathogène de la bactérie, la production d'enzymes pectinolytiques et l'acquisition du fer, confère un avantage à la bactérie au cours du processus d'infection. La production des sidérophores en cas de carence en fer, constitue un majeur facteur de virulence chez *Pectobacterium* sp. (**Boughammoura et al., 2007; Dellagi et al., 2009**).

Test température à 39°C et 41°C

La température joue un rôle de développement des symptômes de pourriture molle (**Tothetal., 2011**). Nos résultats ont montré une croissance des souches testées dans les deux différentes températures (39°C et 41°C).

Résultats et discussion

Pectobacterium spp. se développe à des températures de 20 à 37-40°C (**Russell et al., 1996**), et est souvent isolé de la pourriture humide des organes de stockage et de la pourriture aérienne des tiges (Toth et al., 2003b). Les souches de *Dickeya* peuvent se développer dans une large gamme de températures, de 21 à 41 °C avec une température optimale d'environ 32 °C (**Du Raan et al., 2016**).

Ces résultats sont en accord avec le rôle de la température dans le développement de la pourriture molle (**Pérombelon., 2002; Toth et al., 2003**).

Test d'antibiogramme

Les résultats de notre étude ont montré que seule la souche 56 *Pseudomonas fluorescens* est sensible à l'érythromycine, ce qui a conduit à l'apparition de la zone d'inhibition. Malgré que la souche 56 induise des cavités sur milieu CVP, en parallèle sur milieu King B, la souche 56 émet une fluorescence. Ce qui confirme que cette souche n'appartient pas aux bactéries SRE. 11 souches ont répondu négativement impliquant une résistance à l'antibiotique (**Palacio-Bielsa et al., 2006**).

Pouvoir pectinolytique

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

Pour le test de pathogénicité de pomme de terre des souches bactériennes, les résultats obtenus par notre étude montrent que les 12 souches ont répondu positivement à l'inoculation sur disque de pomme de terre en présentant des pourritures molles, ce test vise à choisir uniquement les isolats qui induisent des symptômes de pourriture molle. Nos résultats concordent avec plusieurs études. La pourriture molle a induit une exsudation, et une fuite d'eau, ainsi selon **Van Vaerenbergh (2012)**, Un tubercule atteint perd environ 100 à 200 ml de liquide.

Les symptômes de la pourriture molle sur les tubercules de pomme de terre, tels que décrits par (**Powelson et Franc, 2001**), semblent être similaires, qu'ils soient causés par *Dickeya* ou *Pectobacterium* spp. La pourriture molle des tubercules varie d'une légère

Résultats et discussion

décoloration vasculaire à une décomposition complète. Le tissu du tubercule atteint est de couleur crème, avec un aspect mou et granuleux. Des pigments bruns à noirs se développent souvent aux marges des tissus en décomposition.

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

Conclusion

Conclusion

L'objectif de notre travail est la mise en évidence de l'activité ferrique par la production de sidérophores chez les bactéries pectinolytiques Soft Rot *Enterobacteriaceae* (SRE) et pour confirmer par la suite si un système d'acquisition du fer est fonctionnel.

Nous avons commencé notre expérimentation en réalisant une série de tests sur des souches bactériennes isolées de tubercules de pomme de terre par **(Chekalil et Zentou., 2019)**.

Après avoir effectué une série de purification sur l'ensemble des bactéries isolées, 12 souches sont sélectionnées sur la base de leurs réponses positives aux caractéristiques appropriées aux bactéries pectinolytiques.

Afin de mieux identifier les souches, nous avons complété les tests de pathogénicité en testant sur milieu sélectif GN, King B et CVP.

Ces (12) souches ont répondu positivement au test sur milieu sélectif CVP (Crystal Violet Pectate). Ce milieu permet l'identification des bactéries pectinolytiques (*Pectobacterium*, *Dickeya*), grâce aux cavités distinctives qu'elles y forment suite à la production importante d'enzymes pectinolytiques

Le test de fluorescence sur milieu King B, a indiqué que parmi les (12) souches sélectionnées, seulement une seule souche bactérienne s'est révélée fluorescente. Les résultats indiquent que la production de pigments fluorescents sur le milieu King B est une propriété très stable et peut être utilisée comme propriété phénotypique pour différencier.

D'autres activités ont été étudiées chez les souches : formation de sidérophore. Les souches bactériennes produisent les sidérophores à des quantités significativement élevées selon l'absorbance d'onde dans le milieu King B à une DO 1.25 chez la souche SA5, cela veut dire que ce dernier produit des sidérophore de type catécholates à 490 nm.

Notre étude a également inclus l'effet de la température sur la croissance bactérienne et l'étude de la pathogénicité sur les tranches de pomme de terre. On a observé une forte influence de la température sur le développement de la pourriture molle au niveau des disques de pomme de terre, plus la température augmente, plus le risque est maintenu. De ce fait, nous

Conclusion

pouvant dire que la température est un facteur important dans le développement des symptômes de pourriture molle.

Enfin, Nous l'avons testé la sensibilité aux antibiotiques des cultures bactériennes. Cette dernière a montré qu'une seule la souche est sensible à l'erythromycine, ce qui a conduit à l'apparition de la zone d'inhibition.

Les genres *Pectobacterium* et *Dickeya*, causent d'énormes pertes aux cultures agricoles sur toute 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.

La pomme de terre étant la cible privilégiée de nombreux pathogènes, Et dans le but de limiter l'impact des espèces *Pectobacterium/Dickeya* sur cette culture, une meilleure maîtrise de l'interaction pathogène-hôte est indispensable.

La principale difficulté associée aux bactéries de la pomme de terre est le petit nombre de méthodes de contrôle disponibles. En effet, contrairement aux maladies fongiques dont les moyens de lutte peuvent inclure des traitements chimiques, les maladies bactériennes ne peuvent faire l'objet de tels traitements pour des raisons d'efficacité ou de réglementation (Yaganza, 2005).

Les résultats obtenus après l'analyse bibliographique de certaines études antérieures sur la résistance variétale de la 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.

Au terme de notre étude, nous sommes en mesure d'attester du haut degré d'infection des souches de notre collection, et en particulier, les espèces du genre *Dickeya* sp, qui ont induit de sévères symptômes de pourriture à la fois sur tubercules, les souches *Pectobacterium atrosepticum* et *cartovorum* étant moyennement virulentes. Il ressort clairement que, les tubercules de pommes de terre sont plus sensibles à l'action de ces pathogènes.

Référence Bibliographique

A

- 1) **Anonyme, 2000a** ; Histoire de la pomme de terre ; Fédération des Producteurs de pomme de terre de Québec (FPPTQ) : www.fpptq.qc.ca.
- 2) **Anonyme, 2004a** ; La pomme de terre. Encarta 2004. Monographie, Institut National Agronomique Paris – Grignon.
- 3) **Atef M. et K. Nassar. 2009**. Use of Somatic Embryogenesis in Potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Russet Burbank Improvement. These doctorat. Department of Plant Science, McGill University, Montreal, Quebec, Canada.
- 4) **Ali, S.S. – Vidhale, N.N. 2013**. Bacterial Siderophore and their Application: A review. In International Journal of Current Microbiology Applied Sciences, vol. 2, no. 12, pp. 303–31.
- 5) **Antunez-Lamas, M., Cabrera, E., Lopez-Solanilla, E., Solano, R., Gonzalez-Melendi, P., Chico, J.M., Toth, I., Birch, P., Prichard, L., Liu, H., et al. (2009b)**. Bacterial chemoattraction towards jasmonate plays a role in the entry of *Dickeya dadantii* through wounded tissues. Mol. Microbiol. 74, 662-671.
- 6) **Askwith CC, de Silva D, Kaplan J (1996)** Molecular biology of iron acquisition in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol Microbiol 20: 27–34.
- 7) **Abdul-Tehrani H, Hudson AJ, Chang Y-S, Timms AR, Hawkins C, Williams JM, Harrison PM, Guest JR, Andrews SC (1999)** Ferritin mutants of *Escherichia coli* are iron deficient and growth impaired, and *fur* mutants are iron deficient. J Bacteriol 181: 1415–1428. Quail MA, Jordan P, Grogan JM, Butt JN, Lutz M, Thomson AJ, Andrews SC, Guest JR (1996) Spectroscopic and Voltammetric Characterisation of the Bacterioferritin-Associated Ferredoxin of *Escherichia coli*. Biochem Biophys Res Commun 229: 635–642
- 8) **Andrews SC, Robinson AK, Rodríguez-Quiñones F (2003)** Bacterial iron homeostasis. FEMS Microbiol Rev 27: 215–237
- 9) **Almiron M, Link AJ, Furlong D, Kolter R (1992)** A novel DNA-binding protein with regulatory and protective roles in starved *Escherichia coli*. Genes Dev 6: 2646–2654

Références Bibliographique

10) **Ahmed, E. – Holmstrom, S.J. 2014.** Siderophores in environmental research: roles and applications. In *Microbial Biotechnology*, vol. 7, no. 3, pp. 196- 208

11) **Alexander, D.B. – Zubererm, D.A. 1991.** Use of chrome azurol 'S regents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. In *Biology and Fertility of Soils*, vol. 12, pp. 39-45

B

12) **Boukhalfa H, Crumbliss AL (2002)** Chemical aspects of siderophore mediated iron transport. *Biometals* 15: 325–339.

13) **Boughammoura A, Franza T, Dellagi A, Roux C, MatzankeMarkstein B, Expert D. 2007.** Ferritins, bacterial virulence and plant defence. *Biometals* 20, 347–353.

14) **Boughammoura, A., Matzanke, B.F., Böttger, L., Reverchon, S., Lesuisse, E., Expert, D. and Franza, T. (2008)** Differential role of ferritins in iron metabolism and virulence of the plant-pathogenic bacterium *Erwinia chrysanthemi*3937. *J. Bacteriol.* 190, 1518–1530.

15) **Boufares K. (2012).** Comportement de trois variété de pomme de terre (spunta, désirée et chubaek) entre deux milieux de culture substrat et hydroponique. Mémoire de magister. Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen.78P

16) **Bernd, H. – Rehm, A. 2008.** Biotechnological relevance of *Pseudomonads*. In BERND, H. REHM, A. (Eds) *Pseudomonas. Model Organism, Pathogen, Cell Factory*. Weinheim, Germany :Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA. p. 377. ISBN 978-3-527- 31914-5.

17) **Buss, H.L.Luttge, A.Brantley, S.L. 2007.** Etch pit formation on iron silicate surfaces during siderophore-promoted dissolution.In *Chemical Geology*, vol. 240, pp. 326–342. DOI:10.1016/j.chemgeo.2007.03.003.

C

18) **Corcuff, R., Mercier, J., Tweddell, R., and Arul, J. 2011.** Effect of water activity on the production of volatile organic compounds by *Muscodor albus* and their effect on three pathogens in stored potato. *Fungal Biology* 115:220-227.

19) **Cornelis, P., Wei, Q., Andrews, S.C. and Vinckx, T. (2011)** Iron homeostasis and management of oxidative stress response in bacteria. *Met. Integr. biometal Sci.* 3540–9.

Références Bibliographique

- 20) **Condemine, G., Castillo, A., Passeri, F., and Enard, C. (1999).** The PecT repressor coregulates synthesis of exopolysaccharides and virulence factors in *Erwinia chrysanthemi*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 12, 45–52
- 21) **Charkowski, A., Blanco, C., Condemine, G., Expert, D., Franza, T., Hayes, C., Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Lopez Solanilla, E., Low, D., Moleleki, L., et al. (2012).** The Role of Secretion Systems and Small Molecules in Soft-Rot *Enterobacteriaceae* Pathogenicity. *Annu. Rev. Phytopathol.* 50, in press.
- 22) **Condemine, G., Dorel, C., Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., and Robert-Baudouy, J. (1992).** Some of the out genes involved in the secretion of pectate lyases in *Erwinia chrysanthemi* are regulated by *kdgR*. *Mol. Microbiol.* 6, 3199–3211.
- 23) **Charkowski, A.O. (2006)** The soft rot *Erwinia*. In, *Plant-associated bacteria*. Springer, pp. 423 505.

D

- 24) **Djebroune Aouicha (2019).** Étude de la bioécologie de nématodes à kystes du genre *Globodera* inféodés à la culture de la pomme de terre ,thèse Doctora ,INA , Elharach-Alger , 4p .
- 25) **De Boer, S.H. 1994.** Prospects for control of potato diseases caused by pectolytic *Erwinias*. *Advances in Potato Pest Biology and Management*, APS Press:136-148.
- 26) **Du Raan S, Coutinho TA, van der Waals JE (2016)** Cardinal temperature differences, determined in vitro, between closely related species and subspecies of pectinolytic bacteria responsible for blackleg and soft rot on potatoes. *Eur J Plant Pathol* 144:361–369 .
- 27) **Dellai, A. , Segond, D. , Rigault, M. , Fagard, M. , Simon, C. , Saindrenan, P. and Expert, D. (2009)** Microbial siderophores exert a subtle role in *Arabidopsis* during infection by manipulating the immune response and the iron status. *Plant Physiol.* 150, 1687–1696. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- 28) **DSA avec Anonyme.,2021:** Direction des services agricoles -Ain Defla.

E

Références Bibliographique

29) Elzebroek T. et K. Wind. 2008. Guide to Cultivated Plants. CAB International, Oxfordshire, UK. pp 368 - 371. In : Atef M. et K. Nassar. 2009. Use of Somatic Embryogenesis in Potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Russet Burbank Improvement. These de doctorat. Department of Plant Science, McGill University, Montreal, Quebec, Canada.

30) Enard, C., Dioloz, A., and Expert, D. (1988). Systemic virulence of *Erwinia chrysanthemi* 3937 requires a functional iron assimilation system. J. Bacteriol. 170, 2419–2426

31) Expert, D., Boughammoura, A., and Franza, T. (2008). Siderophore-controlled iron assimilation in the *enterobacterium Erwinia chrysanthemi*: evidence for the involvement of bacterioferritin and the Suf ironsulfur cluster assembly machinery. J. Biol. Chem. 283, 36564–36572.

F

32) FAO, 2008. Food and Agriculture Organisation Horton D.E. (1987). Potatoes in the third world. The courier 102. 82-48P.

33) FAO (2008). La pomme de terre. L'année internationale de la pomme de terre. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et agriculture FAO.

34) FAO, 2013. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations <http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e00.htm>.

35) FAOSTAT (2015) <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E> 36) FAO, 2014 (Food and Agriculture Organisation.) Contribution à l'étude des nématodes du genre *Globodera* (Skarbilovich, 1959) sur pomme de terre et Gestion intégrée contre ce bio-agresseur, 7 P.

36) Franza, T. , Michaud-Soret, I. , Piquerel, P. and Expert, D. (2002) Coupling of iron assimilation and pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Mol. Plant–Microbe Interact.* 15, 1181–1191. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

37) Franza, T. , Mahe, B. and Expert, D. (2005) *Erwinia chrysanthemi* requires a second iron transport route dependent on the siderophore achromobactin for extracellular growth and plant infection. *Mol. Microbiol.* 55, 261–275. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

38) Franza, T. and Expert, D. (2013) Role of iron homeostasis in the virulence of phytopathogenic bacteria: An “ la carte” menu. *Mol. Plant Pathol.* 14, 429–438.

G

- 39) **Gardan L, Gouy C, Christen R, Samson R, 2003.** Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavasculorum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology 53, 381–91.
- 40) **Gu, S., Rehman, S., Wang, X., Shevchik, V.E., and Pickersgill, R.W. (2012).** Structural and functional insights into the pilotin-secretin complex of the type II secretion system. PLoS Pathog. 8, e1002531.
- 41) **Grisson C., (1993).** La Pomme De Terre. Caractéristiques Et Qualités Alimentaires. APRIA (Association Pour La Promotion Industrie Agriculture).9p.

H

- 42) **Hersman, L., Lloyd, T. , and Sposito,G. (1995).** Siderophore –promoted dissolution of hematite. Geochim. Cosmochim. Acta. 59,3327-333056
- 43) **Hélias V., Andrivon D., Jouan B. 2000.**Development of symptoms caused by *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* under field conditions and effects of these symptoms on the yield of individual potato plants. Plant Pathology 49, 23-32.
- 44)**Hélias, V., Croizat,F. and Montfort,F. 2005.** Evaluation of a new polypectate formulation for isolation of soft rot *Pectobacterium* on CVP medium. European Association for Potato Research, Bilbao 17-22.
- 45) **Hélia, V., 2008.** *Pectobacterium* spp. Et *Dickeya* spp. de la pomme de terre : nouvelle nomenclature pour *Erwinia* spp., symptomatologie, épidémiologie et prophylaxie, C. Agricultures, 4 :349-354.
- 46) **Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Condemine, G., Nasser, W., and Reverchon, S. (1996).** Regulation of pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi*. Annu. Rev. Microbiol. 50, 213–257.
- 47) **Hider, R.C. – Kong, X. 2010.** Chemistry and biology of siderophores. In Natural Product Reports, vol. 27, no. 5, pp. 637–57.

I

Références Bibliographique

48) Ishimaru, Y. – Takahashi, R. – Bashir, K. – Shimo, H. – Senoura, T. – Sugimoto, K. – Ono, K. – Yano, M. – Ishikawa, S. – Arao, T. – Nakanishi, H. Nishizawa, N.K. 2012. Characterizing the role of rice in manganese, iron and cadmium transport. In Scientific reports, vol. 2, pp. 286.

J

49) Jalal, M.A.F., Vander Helm, D., Isolation and spectroscopic identification of fungal iron chelates. Winklemann, G. (ed.), Pegamon Press, Oxford, (1990), 235-269.

K

50) Kannahi, M. – Senbagam, N. 2014. Studies on siderophore production by microbial isolates obtained from rhizosphere soil and its antibacterial activity. In Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, vol. 6, no. 4, pp.1142–1145.

L

51) Lambert, A. J., Eadeh, F. R., Peak, S. A., Scherer, L. D., Schott, J. P., & Slochower, J. M. (2014). Toward a greater understanding of the emotional dynamics of the mortality salience manipulation: Revisiting the “affect-free” claim of terror management research. *Journal of Personality and Social Psychology*, 106(5), 655–678. <https://doi.org/10.1037/a0036353>

52) Letoffe, S., Delepelaire, P., and Wandersman, C. (1990). Protease secretion by *Erwinia chrysanthemi*: the specific secretion functions are analogous to those of *Escherichia coli* alpha-haemolysin. *EMBO J.* 9, 1375–1382.

53) Lautier, T., 2007. Rôle de la protéine associée au nucléoïde Fis dans le contrôle de la virulence chez la bactérie phytopathogène *Erwinia chrysanthemi*. INSA de Lyon.

54) Le Brun NE (1995). Site-directed Replacement of the Coaxial Heme Ligands of Bacterioferritin Generates Heme-free Variants. *J Biol Chem* 270: 23268–23274

55) Loper, J.E.Henkel, M.D. 1999. Utilization of heterologous siderophore enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in rhizosphere. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 65, no. 12, pp. 5357–5363.

Références Bibliographique

56) Lopez-Solanilla, E., Garcia-Olmedo, F., and Rodriguez-Palenzuela, P. (1998). Inactivation of the *sapA* to *sapF* locus of *Erwinia chrysanthemi* reveals common features in plant and animal bacterial pathogenesis. *Plant Cell* 10: 917–924.

M

57) MADR, 2013. Statistiques du Ministère de l'Agriculture et du développement rural.

58) MADR 2014 : (Statistiques du Ministère de l'Agriculture et du développement rural) Contribution à l'étude des nématodes du genre *Globodera* (Skarbilovich, 1959) sur pomme de terre et Gestion intégrée contre ce bio-agresseur, 7P.

59) MADRP, 2018. Statistiques du Ministère de l'Agriculture et du développement rural.

60) Miethke M, Marahiel MA (2007) Siderophore-Based Iron Acquisition and Pathogen Control. *Microbiol Mol Biol Rev* 71: 413–451.

61) Maheshwari, D.K. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications. In MAHESHWARI, D.K. (Ed) *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. pp. 21–42. ISBN 978-3-642-13612-2.

62) Mino, Y. – Ishida, T. – OTA, N. – Inoue, M. – Nomoto, K. – Takemoto, T. – Tanaka, H. – Sugiura, Y. 1983. Mugineic acid-iron (III) complex: characterization and implication for absorption and transport of iron in gramineous plants. In *Journal of the American Chemical Society*, vol. 105, pp. 4671–4676. DOI: 10.1021/ja00352a024.

63) Marschner, H. – Romheld, V. – Kissel, M. 1986. Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. In *Journal of Plant Nutrition*, vol. 9, pp. 695–713. DOI: 10.1080/01904168609363475.

64) Munees, A. – Mulugeta, K. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria. In *Current perspective Journal of King Saud University – Science*, vol. 26, pp. 1–20.

65) Miguel, E., Poza-Carrion, C., Lopez-Solanilla, E., Aguilar, I., Llama-Palacios, A., Garcia-Olmedo, F., and Rodriguez-Palenzuela, P. (2000). Evidence against a direct antimicrobial role of H₂O₂ in the infection of plants by *Erwinia chrysanthemi*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 13, 421–429.

Références Bibliographique

66) Ma B, Hibbing ME, Kim H et al., 2007. Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology* 97, 1150–63.

N

67) Neilands, J.B. 1952. A crystalline organo-iron pigment from a rust fungus (*Ustilagosphaerogena*). In *Journal of the American Chemical Society*, vol. 74, no. 19, pp. 4846–4847

68) Neilands, J.B.1981 Microbial iron compounds. *Annual Review of Biochemistry* 50, (1981), 715-731.

69) Neilands, J.B. 1995. Siderophores: Structure and function of microbial iron transport compounds. In *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 270, no. 45, pp. 26723–26726. DOI:10.1074/jbc.270.45.26723.

O

70) Omari, 2009. La filière pomme de terre en Algérie. *Afrique agriculture*, N°381, pp.26-30.

P

71)Palacio-Bielsa, A., et al. (2006). "Characterisation of potato isolates of *Dickeya chrysanthemi* in Spain by a microtitre system for biovar determination." *Annals of Applied Biology*148(2): 157-164.

72) Powelson ML, Franc GD, 2001. Blackleg, aerial stem rot and tuber soft rot. In: Stevenson WR, Loria R, Franc GD, Weingartner DP, eds. *Compendium of Potato Diseases*, 2nd edn. St Paul, MN, USA: APS Press, 10–1.

73) Prigent-Combaret, C., Zghidi-Abouid, O., Effantin, G., Lejeune, P., Reverchon, S., and Nasser, W. (2012).The nucleoid-associated protein Fis directly modulates the synthesis of cellulose, an essential component of pellicle-biofilms in the phytopathogenic bacterium *Dickeya dadantii*. *Mol. Microbiol.* 86, 172–186.

74) Perombelon, M.C.M., and Burnett, E.M. (1991). Two modified crystal violet pectate (CVP) media for the detection, isolation and enumeration of soft rot *Erwinias*. *Potato Res.* 34, 79–85.

Références Bibliographique

- 75) **Perombelon, M.C.M., Van Der wolfs J. M. 2002.** Methods for the detection and quantification of *Erwinia carotovora Subsp. Atroseptica* (*Pectobacterium carotovorum subsp. Atrosepticum*) on potatoes. Scottish Annu.
- 76) **Pérombelon, M.C.M. 2002.** Potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: an overview of pathogenesis. Plant Pathology 51: 1-12.
- 77) **Pérez-Miranda S., Cabirol N., George-Téllez R., Zamudio-Rivera L. S. and Fernández F.J., O-CAS,** a fast and universal method for siderophore detection. J. Microbiol. Methods. 70 (2007): 127–<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.03.023> 132.
- 78) **Py, B., Bortoli-German, I., Haiech, J., Chippaux, M., and Barras, F. (1991).** Cellulase EGZ of *Erwinia chrysanthemi*: structural organization and importance of His98 and Glu133 residues for catalysis. Protein Eng. 4, 325–333.

Q

- 79) **Quezel P. ET Santa S., (1962),** Nouvelle flore de l'Algérie et des Régions Désertiques, méridionales .Ed. Centre. Rech . sci (C.N. R. S), Paris TI. 1, 565p.
- 80) **Quail MA, Jordan P, Grogan JM, Butt JN, Lutz M, Thomson AJ, Andrews SC, Guest JR (1996)** Spectroscopic and Voltammetric Characterisation of the Bacterioferritin-Associated Ferredoxin of *Escherichia coli*. Biochem Biophys Res Commun 229: 635–642.

R

- 81) **Rachid, D., Bensoltane, A.,** Effect of iron and growth inhibitors on siderophores production by *Pseudomonas fluorescens*. Afr. J. Biotechnol. 4,(2005), 697-702.
- 82) **Raymond J. E., Fenske M. J., Tavassoli N. T. (2003).** Selective attention determines emotional responses to novel visual stimuli. *Psychol. Sci.* 14, 537–542 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- 83) **Robert-Baudouy, J., Nasser, W., Condemine, G., Reverchon, S., Shevchik, V.E., and Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. (2000).** Pectic enzymes of *Erwinia chrysanthemi*, regulation and role in pathogenesis. (St. Paul, Minnesota.: The American Phytopathological Society).

Références Bibliographique

84) Reverchon, S., Rouanet, C., Expert, D., and Nasser, W. (2002). Characterization of indigoidine biosynthetic genes in *Erwinia chrysanthemi* and role of this blue pigment in pathogenicity. *J. Bacteriol.* 184, 654–665.

85) Reichard, P.U. – Kraemer, S.M. – Frazier, S.W. – Kretschmar, R. 2005. Goethite dissolution in the presence of phytosiderophores: rates, mechanisms, and the synergistic effect of oxalate. In *Plant Soil*, vol. 276, pp. 115–132.

86) Rousselle P., Robert Y., Crosnier J C., 1996. La pomme de terre – Production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. 1 éd. Paris: INRA Editions. 607 p.

S

87) Saha R, Saha N, Donofrio RS, Bestervelt LL (2013) Microbial siderophores: a mini review: Microbial Siderophores. *J Basic Microbiol* 53: 303–317

88) Samson, R., Legendre, J.B., Christen, R., Fischer-Le Saux, M., Achouak, W., and Gardan, L. (2005) Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zae* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 1415–1427.

89) Schwyn, B., and J. B. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* 160:47-56.

90) Shirvni, M.Nourbakhsh, F. 2010. Desferrioxamine-B adsorption to and iron dissolution from palygorskite and sepiolite. In *Applied Clay Science*, vol. 48, pp. 393.

91) Santos, R., Franza, T., Laporte, M.L., Sauvage, C., Touati, D., and Expert, D. (2001). Essential role of superoxide dismutase on the pathogenicity of *Erwinia chrysanthemi* strain 3937. *Mol. Plant Microbe Interact.* 14, 758–767.

T

92) Toth, I.K., Bell, K.S., Holeva, M.C., and Birch, P.R.J. 2003a. Soft rot *Erwinia*: from genes to genomes. *Molecular Plant Pathology*, 2003, 4, 17-30.

Références Bibliographique

93) Toth, I.K., Sullivan, L., Brierley, J.L., Avrova, A.O., Hyman, L.J., Holeva, M., Broadfoot, L., Pérombelon, M.C.M., and McNicol, J. 2003b. Relationship between potato seed tuber contamination by *Erwinia carotovora ssp atroseptica*, blackleg disease development and progeny tuber contamination. *Plant Pathology* 52:119-126.

94) Takagi, S. 1976. Naturally occurring iron-chelating compounds in oat and rice-root washings: activity measurement and preliminary characterizations. In *Soil Science and Plant Nutrition*, vol. 22, pp. 423– 433.

95) Toth I.K., Van der Wolf .J.M., Saddler G., Lojkowska E., Hélias V., Pirhonen M., Tsrer L., Eliphistone J.G .2011.*Dickiya species*: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology*, 385-399.

V

96) Verma, V.C. – Singh, S.K. – Prakash, S. 2011. Bio-control and plant growth promotion potential of siderophore producing endophytic *Streptomyces* from *Azadirachta indica* A. Juss. In *Journal of Basic Microbiology*, vol. 51, pp. 550 556. DOI: 10.1002/ jobm.201000155.

W

97) Wang, Q. – Xiong, D. – Zhao, P. – Yu, X. – Tu, B. – Wang, G. 2011.Effect of applying an arsenic-resistant and plant growth–promoting rhizobacterium to enhance soil arsenic phytoremediation by *Populus deltoides* LH05-17. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 111, pp. 1065–1074.

98) 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.

99) Winslow, C.A., Broadhurst, J., Buchanan, R.E., Krumwiede, C.J., Rogers, L.A. and Smith, G.H. (1920) The families and genera of the bacteria final report of the committee of the society of American bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. *J Bacteriol.* 5 , 191- 229.

100) Winkelmann G (2002) Metal Transport. *J Biol Chem* 273: 28617–28624. Boughammoura, A., Matzanke, B.F., Böttger, L., Reverchon, S., Lesuisse, E., Expert,

Références Bibliographique

D. and Franza, T. (2008) Differential role of ferritins in iron metabolism and virulence of the plant-pathogenic bacterium *Erwinia chrysanthemi* 3937. J. Bacteriol. 190, 1518–1530.

Y

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

102) Yadav, S. – Kaushik, R. – Saxena, A.K. – Arora, D.K. 2011. Diversity and phylogeny of plant growth promoting bacilli from moderately acidic soil. In Journal of Basic Microbiology, vol. 51, pp. 98–106.

103) Yaganza, E.-S. 2005. Utilisation post-récolte de sels organiques et inorganiques pour lutter contre la pourriture molle de la pomme de terre: base physico-chimique, F. Université Laval, 3:56-63.

Z

104) Zhao G (2002) Iron and Hydrogen Peroxide Detoxification Properties of DNA-binding Protein from Starved Cells. A FERRITIN-LIKE DNA-BINDING PROTEIN OF ESCHERICHIA COLI. J Biol Chem 277: 27689–27696

Annexes

1. Appareillage :

Nom d'Appareil	Image d'Appareil
<ul style="list-style-type: none">• Balance de précision	
<ul style="list-style-type: none">• Centrifugeuse 5804	
<ul style="list-style-type: none">• Etuve memmert	
<ul style="list-style-type: none">• Agitateur magnétique (AGITADOR MAGNETICO MC-8)	
<ul style="list-style-type: none">• Réfrigérateur	
<ul style="list-style-type: none">• Spectrophotomètre UV	
<ul style="list-style-type: none">• Vortex VELP	
<ul style="list-style-type: none">• Bain marie memmert	
<ul style="list-style-type: none">• Autoclave WiseVen	

ANNEXES

1. Gélose nutritive

Composition	Gramme/ litre
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Peptone	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar-Agar	15g
PH	7.2

Autoclavage 120°C pendant 20 minutes.

2. Milieu Crystal Violet Pectate (CVP) : (Héliaset al. ,2005)

Composition	Gramme/litre
Mix A	
Tryptone (Oxoid L42)	1g
Tri-Sodium citrate	5g
CaCl ₂ .2H ₂ O (10%)	2g
Crystal violet (1%)	100ml
Agar	6g
Eau distillée	500ml
Mix B	
NaOH (5M/l)	2ml
Pectin	18g
Eau distillée	500ml

BUT : pour déterminer l'activité pectolytique des bactéries.

Pour 1L à pH 7 à 7.2

ANNEXES

3. Milieu King B (bouillon) (King et al ., 1954).

Pour 1L à pH7,2

Peptone dite « B »	20.0g/L
Glycérol	10.0g/L
Hydrogénophosphate de potassium	1.5g/L
Sulfate de magnésium heptahydraté	1.5g/L

4. Milieu succinate media (SM) :(Schaad, 2001).

Pour 1L à pH77.2

K ₂ HPO ₄	6.0g/l
KH ₂ PO ₄	3.0g/l
MgSO ₄	0.2g/l
Sulfate d'ammonium (NH ₄) ₂ SO ₄	1.0g/l
Acide succinique	4.0g/L

5. Bouillon nutritif (BN)

Pour 1L à pH77.2

Ingrédients	Gramme / litre
peptones	10g
Extrait de bœuf	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium	5g
pH final	6.8 à7

6. Mueller Hinton (MH) :

Pour 1L à pH7-7.2

Composition	Gramme/litre
Infusion de viande de bœuf	2g
Hydrolysate de caséine	17.5g

ANNEXES

agar	17g
Amidon	5g