

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science Agronomique

Spécialité/Option: phytopathologie et phytopharmacie

Département: d'écologie et génie de l'environnement

**Thème : Etude de virulence de quelque souche d'Erwinia sp sur
quelque variété de pomme de terre.**

Présenté par : Mlle : MIRECHE Halima

Mlle : OUSSAIFIA Nedjet

Devant le jury composé de :

Président: Mr. KHALADI.O (M.A.A)

Université de Guelma

Examineur : Mr. BOUMAAZA.B (M.A.A)

Université de Guelma

Encadreur : Mr. BENADA. M (M.A.A)

Université de Guelma

Juin 2016

Remerciements :

Nous remercions dieu tout puissant de nous avoir guidé durant ces années et nous permet de réaliser ce mémoire en nous donnant la force, la patience et la volonté.

*Nous exprimons également notre profond respect aux membres du jury Monsieur : **Khaladi Omar** et **Boumaaza Boualem** pour avoir accepté de juger et d'évaluer ce modeste effort.*

*Nous tenons à remercier sincèrement et profondément notre encadreur chargé de cours à l'université de Guelma, Monsieur **Benada Mohamed**.*

*Ce travail a été effectué au laboratoire de l'université de Guelma. À cet effet, nous tenons à remercier vivement mademoiselle : **Hakima**. La technicienne du laboratoire.*

Nous tenons également à remercier vivement tous les enseignants qui nous ont pris en charge Durant à toutes les années théoriques.

Nous adressons mes remerciements au personnel de la bibliothèque du département pour leur aide morale et fraternelle qui ont toujours manifeste.

*Enfin, nous tenons à exprimer tout notre reconnaissance et notre remerciement à tous ceux qui ont contribué de près ou loin à la réalisation de ce travail. Et n'oublierai pas de remercier profondément ma chère **Nesserine***

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...?.

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,

Le respect, la reconnaissance...?

Ainsi, c'est tout simplement que

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux.

A ma mère qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau .Ni sacrifices, ni privatisations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ces enfants.

A mon cher papa qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.

Veillez trouver ici, le témoignage de mon amour éternel.

Que dieu vous procure santé, prospérité et bonheur...

A ma sœur fatiha et mes frères nadjib,wahid, abd djalil et zaki que dieu vous garde et vous protège que votre chemin soit plein succès. Ainsi leurs enfants :haithem ,hadil moutaz,nada,rahma ,Chaïma, et alla al Rahman.

A ma proche homme mon fiancé Mohamed.

A toute ma famille. A tous mes professeurs :

A tous mes amis et mes collègues :

ma chère nedjet (mon binom) et le plus proche nesserine, assia,widad, warda siham,wafaa,safia,laila,fouzia,salima.

A toutes les personnes qui m'ont aidée à réaliser ce travail.

A tous que j'aime et qui m'aiment.

Halima



Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...?.

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,

Le respect, la reconnaissance...?

Ainsi, c'est tout simplement que

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux.

A ma mère qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau .Ni sacrifices, ni privatisations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ces enfants.

A mon cher papa qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.

Veillez trouver ici, le témoignage de mon amour éternel.

Que dieu vous procure santé, prospérité et bonheur...

A mes sœurs Nesserine, chamse-elhouda, Hassina et mes frères soufiane, wahab, djamele, fateh, farid ,Mouldi, que dieu vous garde et vous protège que votre chemin soit plein succès. Ainsi leurs enfants : khalede adem, selma.

A toute ma famille. A tous mes professeurs :

A tous mes amis et mes collègues :

Ma chère Halima (mon binom) et le plus proche assia, djemaa, hanene, fella, mabrouka.

A toutes les personnes qui m'ont aidée à réaliser ce travail.

A tous que j'aime et qui m'aiment.

NEDJET



Sommaire

Liste de figure

Liste de tableaux

Liste d'abréviation

Résumé

| | |
|---|-----------|
| Introduction générale..... | 1 |
| Chapitre 01 : Etude Bibliographique | 2 |
| I. Généralité sur la pomme de terre..... | 3 |
| 1. Définition..... | 3 |
| 2. Classification | 3 |
| 3. Description morphologique | 3 |
| 3.1. Partie aérienne..... | 3 |
| 3.2. Partie souterraine | 3 |
| 4. Physiologie et multiplication de la pomme de terre | 4 |
| 4.1. Cycle sexué | 4 |
| 4.2. Cycle végétatif | 5 |
| II. Le pathogène : Erwinia..... | 6 |
| 1. Définition..... | 6 |
| 2. Nouvel appellation..... | 7 |
| 3. position Systématique..... | 7 |
| 4. Les différentes espèces | 9 |
| 4.1. Erwinia carotovora..... | 9 |
| 4.2. La pourriture molle bactérienne..... | 13 |
| 4.2. Erwinia amylovora..... | 16 |
| 4.3. Erwinia Dickeya spp..... | 18 |
| III. Pouvoir pathogène des bactéries pectinolytiques | 23 |
| 1. Principaux facteurs de virulence..... | 23 |

| | |
|--|-----------|
| IV. La lutte contre Erwinia | 23 |
| 1. Stratégies de lutte contre les <i>Pectobacterium</i> sp. | 23 |
| 1.1. La lutte physique..... | 24 |
| 1.2. La lutte chimique | 24 |
| 1.3. La lutte génétique et transgénèse | 24 |
| 1.4. La lutte biologique | 25 |
| Chapitre 02 : Matériels et Méthodes | 27 |
| I. L'origine des souches..... | 28 |
| II. Teste de confirmation | 29 |
| 1. Préparation du milieu de culture LPGA | 29 |
| 1.1. Repiquage de bactérie (<i>Erwinia</i> spp) | 29 |
| 1.2. les tests de confirmation..... | 30 |
| III. TEST amylolytique..... | 36 |
| IV. Teste d'hypersensibilité au tabac | 37 |
| V. Teste de virulence (Test de pathogénicité sur tranches de pomme de terre)..... | 38 |
| Chapitre 03 : Résultats et discussion | 40 |
| I. Teste de confirmation | 41 |
| 1. Coloration de gram | 41 |
| 2. Teste d'oxydase | 41 |
| 3. Teste de catalase | 42 |
| 4. Test de hugh leifson..... | 42 |
| 5. L'activité amylolytique | 42 |
| 6. Teste d'hypersensibilité au tabac..... | 43 |
| 7. Test de virulence..... | 44 |
| Résultats sur la variété Condor | 46 |
| Résultats sur la variété LAURA | 47 |
| Résultats sur la variété MARGARITA | 48 |

| | |
|--|-----------|
| Résultats sur la variété BELLAROSA | 49 |
| Résultats sur la variété SPUNTA | 50 |
| Conclusion..... | 53 |
| Perspective | 53 |
| Références et bibliographies..... | 54 |
| Liste d'annexes | 61 |

Résumé

Les bactéries *Pectobacterium* sont classées parmi les agents pathogènes les plus importants économiquement pour la culture de la pomme de terre. Au cours des dernières années, une augmentation des maladies dues à ces bactéries a pu être observée. Si l'utilisation d'outils moléculaires spécifique d'identification et d'évaluation de la diversité génétique est nécessaire, ne faudrait-il pas explorer d'autres marqueurs moléculaires complémentaires pour une meilleure maîtrise du matériel génétique de la bactérie. L'objectif de ce travail repose sur le fait de faire une étude comparative entre différents types de souches des bactéries d'*Erwinia* en se basant premièrement sur voir la pathogénicité de ces souches sur plantes de tabac ensuite faire une étude comparative de virulence entre les souches bactériennes et différentes variétés de pomme de terre (*solanum tuberculum*).

Notre travail, qui se divise en trois parties qui sont :

- I. Une étude biochimique des souches *Erwinia*, pour permettre de confirmer qu'on est bien dans le groupe d'*Erwinia* qui sont : bactérie gram négative, oxydase négative, catalase positive et la dégradation des glucides par voie fermentative.
- II. Une étude sur plante de tabac pour nous permettre de savoir qui est parmi des souches d'*Erwinia* qui sont pathogène ou non (saprophyte), ou on a trouvé la majorité des souches qui sont pathogènes et aussi des souches saprophytes comme *JELLY* par exemple.
- III. Faire une étude comparative entre les souches d'*Erwinia* sur différentes tranches de pomme de terre et cela sur l'effet de virulence. Les résultats obtenus nous ont permis de faire une comparaison remarquable entre des souches qui sont regroupés en souches virulentes [*SOL*, *SA*, *MAI*] et des souches non virulentes [*EA*, *ZA*, *JELLY*] qui n'ont aucun effet sur les tranches de pomme de terre et aussi on a remarqué qu'il existe une différence de sensibilité ou de résistance entre différentes variétés de pomme de terre.

Mots clés : *Pectobacterium*, *Erwinia*, pomme de terre, pourriture molle, feu bactérienne, la virulence.

Abstract :

The *Pectobacterium* bacteria are classified among the most economically important pathogens for growing potato. In recent years, an increase in diseases caused by these bacteria could be observed. If the use of specific molecular tools for identification and genetic diversity assessment is necessary, should we not explore other additional molecular markers to better control the genetic material of the bacteria.

Our works, that devised in three parts which are:

- I. A biochemical study of *Erwinia* strains, in order to confirm that we reely in the group of *Erwinia* which are: gram negative bacteria, negative oxidase, positive catalase and the degradation of carbohydrates by fermentative way.
- II. A study on the tabac plant in order to enable us to know who among *Erwinia* strains that are pathogenic or not (commensal) , or we found the majority of strains that are pathogenic and also saprophytic strains as *JELLY*.
- III. Make a comparative study between strains of *Erwinia* on different slices of potatos on the virulence effect. The results that we have allowed us to do a remarkable comparison between strains that are grouped into virulent [SOL , SA, MAI]and non-virulent[EA, ZA, JELLY] strains, which have no effect on the potato slices and also we noticed that there is a difference sensitivity or resistance between different variety of potato.

Keywords :

Pectobacterium, *Erwinia*, potato, soft rot, bacterial fire, virulence.

الملخص :

تعتبر البكتوبكتريوم *Pectobacterium* من بين العوامل الممرضة الأكثر أهمية اقتصاديا في مجال زراعة البطاطس حيث لوحظ ارتفاع نسبة الامراض الناتجة عن هاته البكتيريا خلال السنوات الاخيرة.

إن الاستخدام للأدوات الجزيئية الخاصة أمر ضروري لتحديد و تقسيم التنوع الوراثي ,وينبغي استكشاف أدوات أخرى مكتملة للوسمات الجزيئية لتحسين الرقابة على المواد الجينية للبكتيريا.

عملنا ينقسم الى ثلاثة أجزاء وهي:

1. دراسة كيميوية لسلاسل الإروينيا , لتأكد من أنها في المجموعة الإروينيا والتي هي: بكتيريا غرام سلبية , وأكسيدز سلبية وإيجابية الكاتلاز و تحطم او تهدم الكريوهيدرات بطريقة م عفنة
2. دراسة عن نبات التبغ نسمح لنا أن نعرف من بين سلالات إروينيا الممرضة والغير ممرضة (المسببة للمرض أم لا: رمية) فقد وجد أن معظم السلالات المسببة للمرض مثل جيلي *JELLY*
3. إجراء دراسة مقارنة بين سلالات الإروينيا على مختلف شرائح أو قطع لأنواع مختلفة من ا لبطاطس وأثر الافتراس .

النتائج المتحصل عليها سمحت لنا بإجراء مقارنة معتبرة بين السلالات المجموعة الخبيثة (SOL ,SA,MAI)والغير خبيثة (*EA,ZA,JELLY*), ووجدنا أن هناك أنواع البطاطس حساسة للمرض وأخرى مقاومة له.

الكلمات المفتاحية

البكتوبكتريوم، الإروينيا، البطاطس، العفن المائع، الالتهيب الجرثومي، حدة الجرثوم

Liste des abréviations

D.zeae : *Dickeya zeae*

E : *Erwinia*

E.a : *Erwinia amylovora*

E.c : *Erwinia carotovora*

E.ca : *Erwinia atroseptica*

E.cb : *Erwinia betavasculorum*

E.cc : *Erwinia carotovora*

E.co : *Erwinia odoriférant*

E.cw : *Erwinia wasabiae*

Er.ch : *Erwinia chrysanthemi*

H₂O₂ : Eau oxygénée

HL : Hugel Lifson

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

LNPV : Laboratoire national de la protection des végétaux

LPAA : Extrait de levure peptone Agar amidon

LPGA : Extrait de levure peptone Agar Glucose

MH : Muller Hinton

OF : L'oxydation e de la fermentation

P.a : *Pectobacterium atrosepticum*,

P.ca : *Pectobacterium carotovorum, subsp atrosepticum*

Pcc : *Pectobacterium carotovorum, subsp carotovorum*

pH : Potentiel d'hydrogène.

µl : Microlitre

ufc : Unité format colonie

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre..... | 4 |
| Figure 2 : Schéma du cycle végétatif de la pomme de terre | 6 |
| Figure 3 :Aspect de quelques symptômes causés par <i>Pectobacterium</i> sp..... | 12 |
| Figure 4 : Différentes phases de l'infection de la pomme de terre par <i>Erwinia carotovora atroseptica</i> (Extrait de Mieux comprendre la pomme de terre Ed.....) | 13 |
| Figure 5 : Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne | 15 |
| Figure 6 : Cycle de vie de Feu bactérienne | 17 |
| Figure 7 : (a, b, c d) Symptômes de Feu bactérienne sur différentes parties de pomme de terre..... | 20 |
| Figure 8 : (a, b) les symptômes sur les tubercules | 21 |
| Figure 9 : Coulage le milieu (LPGA)..... | 29 |
| Figure 10 : L'ensemencement de colonie | 30 |
| Figure 11 : La croissance de bactérie | 30 |
| Figure 12 : La déposition de violet de gentiane..... | 31 |
| Figure 13 : Les lames après rinçage..... | 31 |
| Figure 14 : L'addition du Lugol..... | 31 |
| Figure 15 : L'état de fuchine | 32 |
| Figure 16 : La lame avant l'observation au microscope | 32 |
| Figure 17 : Disque d'oxydase | 33 |
| Figure 18 :Teste de catalase | 34 |
| Figure 19 : Le milieu de Hugh Leifson | 35 |
| Figure 20 : Coulage des milieux LPAA..... | 36 |
| Figure 21 : L'activité d'amylolytique | 36 |
| Figure 22 : L'exposition de souche à La vapeur de lugol | 37 |
| Figure 23 : L'aspect de l'activité d'amylolytique..... | 37 |

| | |
|--|----|
| Figure 24 : L'injection de suspension bactérienne..... | 38 |
| Figure 25: Nécrose sur tabac | 38 |
| Figure 26 : Le rinçage du tubercule avec l'éthanol | 38 |
| Figure 27: Le poids initiale de tranche..... | 39 |
| Figure 28 : Les tranches dans les boites..... | 39 |
| Figure 29: L'élimination de la pourriture..... | 39 |
| Figure 30 : (a, b) : L'observation microscopique des souches d' <i>Erwinia</i> après coloration de Gram x 100 | 41 |
| Figure 31 : Résultat de teste d'oxydase..... | 41 |
| Figure 32 : Résultat de teste de catalase..... | 42 |
| Figure 33: Milieu hugh leifson avant la réaction | 42 |
| Figure 34 : Résultat de hugh leifson après 24h..... | 42 |
| Figure 35: L'activité d'amylolitique | 43 |
| Figure 36 : Tabac sain | 43 |
| Figure 37 : La souche JELLY | 43 |
| Figure 38 : L'aspect de nécrose sur les feuilles | 44 |
| Figure 39 : Effet des souches d' <i>Erwinia</i> sur la variété de DESIRE..... | 45 |
| Figure 40 : Effet des souches d' <i>erwinia</i> sur la variété de CONDOR | 46 |
| Figure 41 : Effet des souches d' <i>Erwinia</i> sur la variété de LAURA..... | 47 |
| Figure 42 : Effet des souches d' <i>Erwinia</i> sur la variété de MARGARITA | 48 |
| Figure 43 : Effet des souches d' <i>Erwinia</i> sur la variété de BELLAROSA | 49 |
| Figure 44 : Effet des souches d' <i>Erwinia</i> sur la variété de SPUNTA | 50 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 01 :Le reclassement des Erwinia spp au cours des dernières années..... | 8 |
| Tableau 02 : Autres caractéristiques biochimiques et physiologiques d'Erwinia carotovora | 10 |
| Tableau 03 :L'origine des souches | 28 |
| Tableau 04 : Résumé de résultat des souches d'E avec les tests de confirmation | 44 |
| Tableau 05 : Résultat de calcule pour la variété deDESIRE..... | 45 |
| Tableau 06 :Résultat de calcule pour la variété de CONDORE..... | 46 |
| Tableau 07 :Résultat de calcule pour la variété de LAURA..... | 47 |
| Tableau 08 :Résultat de calcule pour la variété de MARGARITA..... | 48 |
| Tableau 09 :Résultat de calcule pour la variété deBELLAROSA..... | 49 |
| Tableau 10 :Résultat de calcule pour la variété deSPUNTA..... | 50 |
| Tableau 11 : Résultat de calcule lavariable dépendante: perte poids..... | 51 |

Introduction générale

Introduction générale

La pomme de terre est une plante annuelle à multiplication végétative. Sa reproduction est alors assurée par le tubercule, qui donne naissance à des germes. Les bourgeons aériens des germes se développent en rameaux feuillés, tandis que les bourgeons souterrains évoluent en stolons. Lorsque les stolons cessent leur élongation et que des renflements apparaissent, alors le stade de tubérisation est atteint. Une fois formés, les tubercules commencent leur grossissement (Arvalis., 2008).

Les bactéries du genre *Erwinia* peuvent être à l'origine de plusieurs maladies de la pomme de terre, comme des pourritures de tiges appelées «jambes noires» et des pourritures de tubercules appelées «pourritures molles». Les symptômes de jambe noire induits varient d'une pourriture humide à sèche des tiges selon les conditions climatiques, alors que les tubercules peuvent être atteints de pourritures molles au champ et en conservation (Helias., 2008). De récents travaux de taxonomie ont abouti à un remaniement de la nomenclature des pathogènes responsables de ces symptômes, qui appartiennent dorénavant à deux genres: *Pectobacterium* (anciennement *Erwinia carotovora*) et *Dickeya* (anciennement *Erwinia chrysanthemi*). L'étude de la diversité d'un agent bactérien responsable de dégâts économiques importants tel que le *Pectobacterium* est un sujet complexe, pour lequel, plusieurs interrogations peuvent être suscitées : Le *Pectobacterium* n'est-il pas un groupe de bactéries homogène facile à identifier et à caractériser par les outils standards d'identification phénotypique utilisés en routine dans les laboratoires de bactériologie ou nécessite il l'intervention d'outils moléculaires spécifiques, la survie des *Erwinia* est influencée par plusieurs facteurs, comme la faible disponibilité des nutriments (surtout lors de la récolte et des rotations), la température et l'humidité (Pérombelon & Hyman ., 1989). Dans ce milieu qui peut être considéré hostile par rapport aux tissus végétaux comme ceux de la pomme de terre.

L'objectif de ce travail repose sur le fait de faire une étude comparative entre différents types de souches des bactéries *d'Erwinia* en se basant premièrement sur voir la pathogénicité de ces souches sur plantes de tabac ensuite faire une étude comparative de virulence entre ces souches bactériennes et différentes variétés de pomme de terre (*solanum tuberculum*) commercialisé en Algérie, en cherchant la souche la plus virulente et aussi la variété de pomme de terre la plus résistante pour développer un nouveau modèle végétal capable de diminuer les pertes de rendement ainsi que les pertes économiques.

Chapitre 01 :

Etude Bibliographique

I. Généralité sur la pomme de terre

1. définition

La pomme de terre (*Solanum tuberosum L.*) appartient à la famille de *solanacées*. Le genre *solanum* regroupe environ 2 000 espèces dont plus de 200 sont tubéreuses (Hawkes., 1990). Dont les tubercules font l'objet d'un commerce international important. C'est une plante vivace qui se propage par multiplication végétative et qui est cultivée comme une espèce annuelle.

Cette plante à tubercules a subi une évolution que rarement des végétaux connaissent (amélioration et séquençage génétique par le biais de la biotechnologie). Les chiffres de sa consommation directe et de ses différentes transformations dans l'industrie lui prédisent un avenir des plus prometteurs. (Rousselle *et al.*.,1992).

2. Classification

La place de la pomme de terre dans le règne végétal est :

- **Ordre** :*Solanales*.
- **Famille** :*Solanaceae*.
- **Genre** :*Solanum*.(Hawkes., 1990).

3. Description morphologique

3.1. Partie aérienne

Chaque plante est composée d'une ou plusieurs tiges herbacées de port plus ou moins dressé et portant des feuilles composées (Rousselle *et al.*., 1992). Comme les tiges et les feuilles, le fruit contient une quantité significative de solanine, un alcaloïde toxique caractéristique du genre.

Les inflorescences sont des cimes axillaires, les fleurs sont autogames : ne contiennent pas de nectar, elles sont donc peu visitées par les insectes et la fécondation croisée est presque inexistante dans la nature (Rousselle *et al.*., 1992).

Certaines fleurs sont souvent stériles. La production de fruits est généralement rare parfois nulle. On connaît des variétés de pommes de terre qui fleurissent abondamment mais qui ne fructifient pas (Soltner ., 1988).

3.2. Partie souterraine

Le système souterrain représente la partie la plus intéressante de la plante puisqu'on y trouve les tubercules qui confèrent à la pomme de terre sa valeur alimentaire. L'appareil souterrain comprend le tubercule mère desséché et des tiges souterraines ou stolons (Bernhards., 1998).

Le tubercule de pomme de terre n'est pas une portion de racine, c'est une tige souterraine. Comme toutes les tiges, il est constitué d'entre nœuds, courts et épaissis dans le cas présent, et porte des bourgeons (que l'on appelle les « yeux ») situés dans de petites dépressions. En se développant, les bourgeons donnent les germes et les futures tiges aériennes.

Les racines prennent naissance sur différentes parties : au niveau des nœuds enterrés des tiges feuillées, au niveau des nœuds des stolons ou encore au niveau des yeux du tubercule. (Bernhards., 1998).

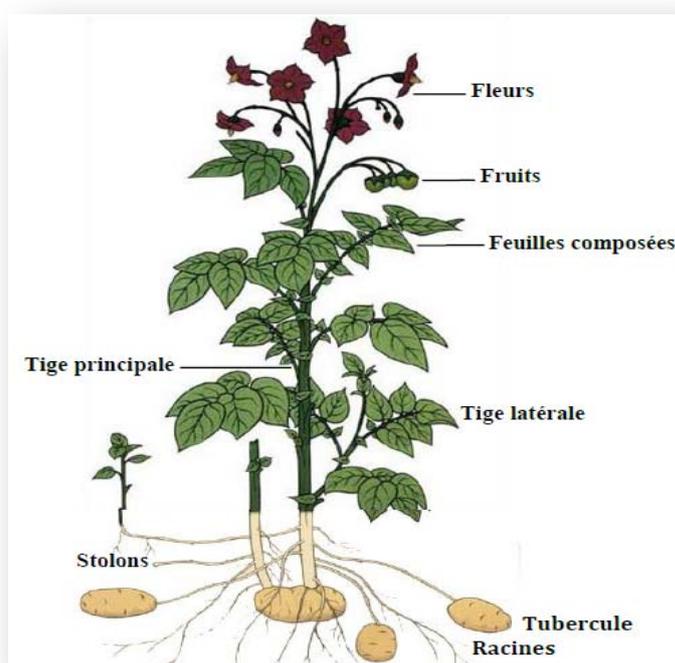


Figure 1 : Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre (Bernhards., 1998).

4. Physiologie et multiplication de la pomme de terre

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

4.1. Cycle sexué

Le fruit est une baie sphérique ou ovoïde de 1 à 3 centimètres de diamètre, il contient généralement plusieurs dizaines de graines (Bernhards., 1998), et peut aller jusqu'à 200 graines (Rousselle et al., 1992).

La pomme de terre est très peu reproduite par graines dans la pratique agricole, cependant la graine est l'outil de création variétale.

La germination est épigée et les cotylédons sont portés au-dessus du sol par le développement de l'hypo cotyle. En conditions favorables, quand la jeune plante a seulement quelques centimètres de hauteur, les stolons commencent à se développer d'abord au niveau des cotylédons puis aux aisselles situées au-dessus, et s'enfoncent dans le sol pour donner des tubercules (**Bernhards.,1998**).

4.2. Cycle végétatif

Le tubercule n'est pas seulement un organe de réserve, c'est aussi un organe qui sert à la multiplication végétative, cette dernière se déroule en trois étapes : la dormance, la germination et la tubérisation (**Chaumeton et al.,2006**).

4.2.1. Dormance :

Après la récolte, la plupart des variétés de pommes de terre traversent une période où le tubercule ne germe pas, quelles que soient les conditions de température, d'éclairage et d'humidité. Il s'agit de la période de dormance, et sa durée dépend beaucoup de la variété et des conditions d'entreposage, et surtout de la température. Pour hâter la germination, on peut traiter chimiquement les tubercules de semence ou les exposer alternativement à des températures élevées et basses (**Chaumeton et al., 2006**).

4.2.2. Germination :

Au cours du stockage, une évolution interne du tubercule conduit d'abord à un seul germe qui se développe lentement et dans ce cas c'est toujours le germe issu du bourgeon terminal qui inhibe les autres bourgeons : ce phénomène est la dominance apicale. Puis un petit nombre de germes à croissance rapide se développent. Ensuite un nombre de plus en plus élevé de germes démarrent, traduisant une perte progressive de la dominance apicale. Ils s'allongent lentement, se ramifient, deviennent filiformes et finalement tubérisés. (**Bernhards., 1998**).

4.2.3. Tubérisation :

Le tubercule est la justification économique de la culture de pomme de terre puisqu'il constitue la partie alimentaire de la plante et en même temps, son organe de propagation le plus fréquent.

Ce phénomène commence d'abord par un arrêt d'élongation des stolons après une période de croissance. La tubérisation est réalisée dès que le diamètre des ébauches est le double de celui des stolons qui les portent. Outre les processus de multiplication cellulaire, le grossissement

des ébauches de tubercules s'effectue par accumulation dans les tissus des substances de réserve synthétisées par le feuillage. Ce grossissement ralentit puis s'arrête au cours de la sénescence du feuillage (Bernhards., 1998).

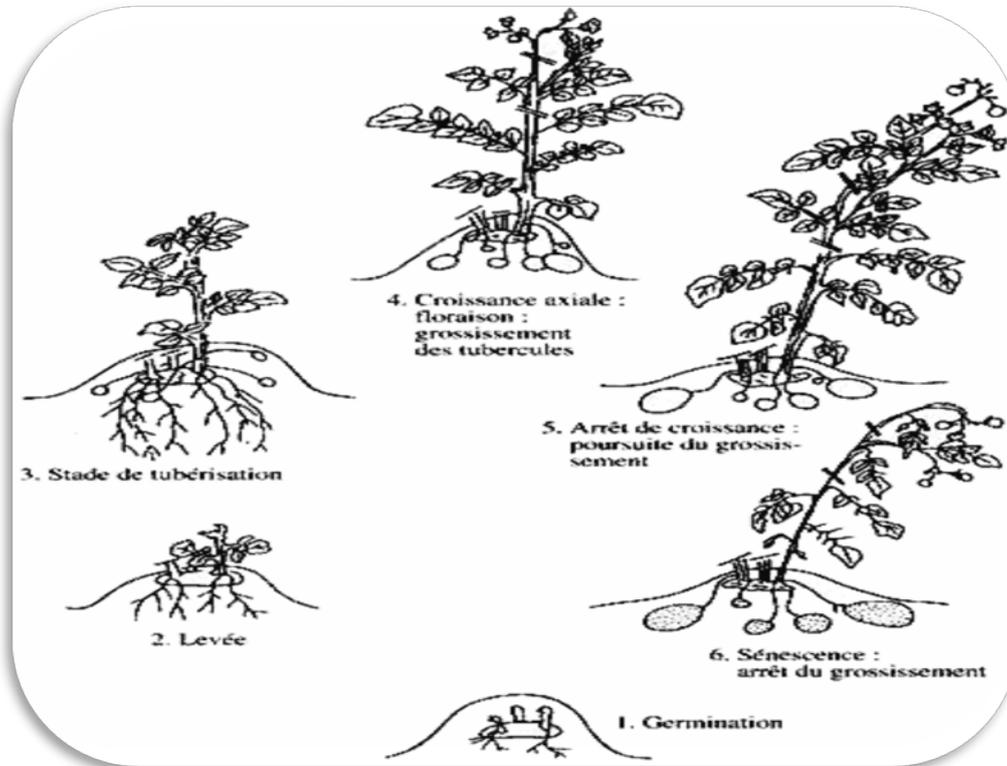


Figure 2 : Schéma du cycle végétatif de la pomme de terre (Bernhards ., 1998).

II. Le pathogène : *Erwinia*

1.Définition

Les bactéries du genre *Erwinia* (*E*) peuvent être à l'origine de plusieurs maladies de la pomme de terre, comme des pourritures de tiges appelées «*jambes noires*» et des pourritures de tubercules appelées «*pourritures molles*» (Helias., 2008).

Les symptômes de *jambe noire* induits varient d'une pourriture humide à sèche des tiges selon les conditions climatiques, alors que les tubercules peuvent être atteints de pourritures molles au champ et en conservation (Helias., 2008). De récents travaux de taxonomie ont abouti à un remaniement de la nomenclature des pathogènes responsables de ces symptômes, qui appartiennent dorénavant à deux genres: *Pectobacterium* (anciennement *Erwiniacarotovora*) et *Dickeya* (anciennement *Erwinia chrysanthemi*) (Helias.,2008). Si on se réfère aux analyses réalisées sur 718 échantillons de plantes malades prélevés en Suisse (tiges et tubercules) entre 1986 et 2010, on isole en moyenne 66 % de *Dickeya* et 34 % de *Pectobacterium*(Cazelles et Schwaerzel ., 1992 ; Dupuis et al ., 2010). Les *Dickeya*

pénètrent dans le tubercule par les lenticelles, le stolon ou des blessures. Des contaminations peuvent également avoir lieu au cours du stockage, notamment si un tubercule malade est en contact avec un tubercule sain (Rousselle *et al.*, 1996). Cependant, les bactéries peuvent rester à l'état latent dans le tubercule et se multiplier une fois que les conditions du milieu deviennent favorables (Hélias., 2008). Quelques travaux ont permis de mettre en évidence l'existence de différences de sensibilité variétale au développement de *jambes noires* au champ (Radtke et Rieckmann., 1991 ; Allefs *et al.*, 1996). En revanche, l'étude menée par (Haynes *et al.*, 1997) sur tranches de tubercules inoculées n'a pas permis de démontrer qu'il existait une différence de sensibilité variétale au développement de *pourritures molles*. Il est difficile de déterminer si l'absence de différence de sensibilité entre variétés est à imputer à la méthode utilisée, ou si les variétés testées (Atlantic, Norchip et Supérieur) appartiennent à un même groupe de sensibilité. Cette même étude a comparé la virulence de deux isolats de *Pectobacterium* et d'un isolat de *Dickeya* sur les trois mêmes variétés (Gerardin *et al.*, 2013).

2. Nouvel appellation

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

3. position Systématique

- Règne : *Bacteria*
- Embranchement : *Protobacteria*
- Classe : *Gammaproteobacter*
- Ordre : *Enterobacteriales*
- Famille : *Enterobacteriaceae*
- Genre : *Erwinia* (in, Gharsi et Sekefali., 2015)

Tableau 01 : le reclassement des *Erwinia* spp au cours des dernières années (Ch. Ochsenein et Keiser ; HESA Zollikofen 1., 1990).

| Ancienne appellation | Nouvelle appellation | Importance | Autres plante hôtes |
|--|-----------------------------------|---|---|
| Erwinia Carotovora Ssp. Atroptica (Eca) | Pectobacterium Atrosepticum (Pca) | <ul style="list-style-type: none"> • Agent pathogène de la jambe noire le plus fréquent dans les pays d'Europe du nord. • Préfère une température plus fraîche. | Limitée essentiellement aux pommes de terre |
| Erwinia Carotovora Ssp. Atroptica (Ecc) | Pectobacterium carotovorum (Pcc) | <ul style="list-style-type: none"> • Souvent isolée lors de pourriture molle des tubercules et pourriture des tiges (p.ex. après humidité stagnante). • Mène plus rarement à la jambe noire. • Bien étendue dans le sol et sur les tubercules. • Plutôt un parasite de faiblesse. | Très large spectre d'hôtes (légumes, tournesols, tabac, etc.) |
| Erwinia Chrysanthemi (Ech) | Dickeya Dianthicola (Dcd) | <ul style="list-style-type: none"> • Agent pathogène le plus courant de la jambe noire en Suisse (sa fréquence a augmenté). • Préfère les températures élevées. • Est présent dans les ruisseaux | Tomates, endives, artichauts (moins analysés) |

4. Les différentes espèces

4.1. *Erwinia carotovora*

4.1.1. Définition :

Erwinia carotovora a été particulièrement étudiée en raison de son pouvoir pathogène sur plusieurs plantes, et surtout chez la pomme de terre (**Pérombelon ., 1989**). L'espèce *Erwinia carotovora* (*E.c*) est actuellement divisée en cinq sous- espèces :

atroseptica (*E.ca*), *carotovora* (*E.cc*), *odoriférant* (*E.co*) et *wasabiae* (*E.cw*) ainsi que la sous-espèce *betavascularum* (*E.cb*). Cette classification a été réalisée sur la base de caractéristiques physiologiques et biochimiques, ainsi que sur leur pouvoir pathogène. *E.ca* et *E.cb* paraissent relativement proches taxonomiquement. *E.cb* est responsable d'une pourriture de la betterave, dite nécrose racinaire (**Thomson et al., 1981**). L'action des *E.ca* est généralement limitée à la pomme de terre dans des climats tempérés frais, à des températures comprises entre environ 18°C et environ 20°C (**Pérombelon ., 1980**).

4.1.2. Caractéristiques :

Les *Erwinia carotovora* (*E.c*) sont des bactéries psychrotrophes qui se développent à des températures comprises entre 5 et 36 °C avec un optimum entre 27+et 30 °C. D'après leurs caractéristiques sérologiques, on distingue plus de 40 sérogroupes, dont quatre (I, XVIII, XX et XXII) seulement regroupent les *E.ca*; la majorité (> 65%) des *E.ca* appartiennent au séro groupe I. De leur côté, les *E.cc* sont plus hétérogènes, avec plus de 36 sérogroupes connus parmi les 70% des souches isolées sur la pomme de terre (les sérogroupes III et XXIX sont plus fréquemment associés à la pomme de terre)(**De Boer et Sasser., 1986; De Boer., 1994**). Les *E. carotovora* sont des bâtonnets (0,5-1 µm de diamètre sur 1-3 µm de longueur) Gram-négatif mobiles (flagelles péritriches), anaérobies facultatifs et ayant une forte activité pectolytique (**Lelliot et Dickey ., 1984; Stevenson et al ., 2001**). Elles utilisent l'acétate, le citrate, le formate, le lactate, le fumarate, le gluconate, le malate et le succinate, mais non le benzoate, le malonate, l'oxalate, le propionate ou le tartrate comme sources de carbone et d'énergie (**Lelliot et Dickey ., 1984**).

Tableau 02 : Autres caractéristiques biochimiques et physiologiques *d'Erwinia carotovora* :(Leliot et Dickey ., 1984).

| Réaction | Réponse | Production d'acide à partir de : | Réponse |
|---|---------|----------------------------------|---------|
| -Production de pigment rose diffusible | - | L -Arabinose | ++ |
| -Production de pigment bleu | - | -Cellobiose | ++ |
| -production de pigment jaune | - | -Dextrine | - |
| -Croissance mucoïde | + | -Tréhalose | ++ |
| -H ₂ S à partir de la cystéine | ++ | -Xylose | ++ |
| -substances réductrices à du saccharose | + | -Fructose | ++ |
| -présence d'acétoïne | ++ | -D-Galactose | ++ |
| -présence d'uréase | - | -D-Glucose | ++ |
| -oxydation du gluconate | - | -Glycérol | + |
| -production de gaz à partir du D-glucose | + | Myo-Inositol | + |
| -Hydrolyse de la caseïne | + | -Inuline | - |
| -Croissance dans du bouillon au KCN | + | -Lactose | ++ |
| -Liquéfaction de la gélatine | ++ | -M altose | + |
| -présence de phénylalanine déaminase | - | -D-Mannitol | ++ |
| -présence d'indole | - | -D-Mannose | ++ |
| -réduction du nitrate | ++ | -Mélézitose | - |
| -Croissance dans 5% de NaCl | ++ | -Mélibiose | ++ |
| -présence de désoxyribonucléase | - | -Raffinose | ++ |
| -présence de phosphatase | - | -L-Rhamnose | ++ |
| -présence de lécithinase | - | -Ribose | ++ |
| -sensibilité à l'érythromycine (15µg disque). | - | -Sorbitol | ++ |
| | | -Amidon | - |
| | | - Saccharose | ++ |

4.1.3. Symptôme :

➤ Symptômes sur plant et sur tubercule :

L'apparition et la nature des symptômes causés par *Pectobacterium* spp et *Dickeya*spp dépendent des conditions environnementales (température et humidité), de la pomme de terre (génotype, âge physiologique des tubercules, teneur en calcium, en eau, etc.), de la partie du végétal infectée et enfin des interactions avec d'autres agents pathogènes, tels que *Clostridium* spp.,*Clavibacter michiganensis*, *Verticillium* spp., et le nématode *Ditylenchusdestructor*, inféodés à cet hôte (**Pérombelon., 1992b ; Pérombelon., 2002 ; Charkowski ., 2006**). Il existe également une difficulté à distinguer les symptômes dus à chacune de ces bactéries (*Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp.) sur tubercule ou sur plant de pomme de terre.

➤ Symptômes sur les parties aériennes :

Pectobacterium spp. Attaquent la tige du plant de la pomme de terre en cours de végétation provoquant ainsi la jambe noire (ou *Blackleg*). Les bactéries colonisent d'abord les vaisseaux du xylème de la plante et se multiplient par la suite dans les espaces intercellulaires de l'hôte en sécrétant une série de pectinases qui dégradent la paroi mitoyenne des cellules et déstabilisent le parenchyme provoquant ainsi la macération des tissus. Ces phénomènes interrompent le transport de l'eau et des éléments minéraux, vers le sommet de la plante, provoquant des symptômes de flétrissement et de jaunissement du feuillage (**Hélias et al .,2000a**). L'infection induit ensuite une pourriture molle de la tige qui prend une coloration brune foncée à noire, à la base des tiges, du point d'attache des feuilles sur la tige, ainsi que des nécroses plus ou moins sèches(**Pérombelon., 1972; Pérombelon et Kelman ., 1987 ; Charkowski ., 2009**).

➤ Symptômes sur les tubercules :

La maladie est provoquée par les trois bactéries (*P.ca*, *P.cc* et *Dickeya* spp.) qui peuvent agir séparément ou simultanément (**Pérombelon., 2002; Toth et al., 2003 ; Van der Wolf et De Boer .,2007**).Les symptômes observés sur tubercules se caractérisent par des pourritures molles. Des petites tâches diffuses d'aspect graisseux commencent généralement par apparaître autour des lenticelles, des blessures ou du talon, puis s'étendent rapidement à l'intérieur du tubercule. La bactérie dégrade les tissus du tubercule provoquant une macération du parenchyme. La *pourriture molle*, de couleur claire, brunit jusqu'au noir. Au niveau des tissus du tubercule, la production de poches gazeuses, sont à l'origine d'une odeur

nauséabonde très prononcée (Pérombelon .,1980). Les tissus infectés sont nettement délimités des parties saines. En conditions sèches, les lésions peuvent devenir creuses, dures et sèches. Dans d'autres cas, l'infection est stoppée et la zone malade se dessèche, laissant une zone creuse remplie d'une masse de matériel mort, dur et noir. En stockage, la pourriture peut s'étendre à tout le stock causant ainsi des dégâts très importants (Pérombelon ., 2002). Les attaques précoces de la bactérie au champ peuvent faire pourrir les tubercules-mères et provoquer des pertes à la levée ou fonte de semis (Pérombelon et Salmond ., 1995).

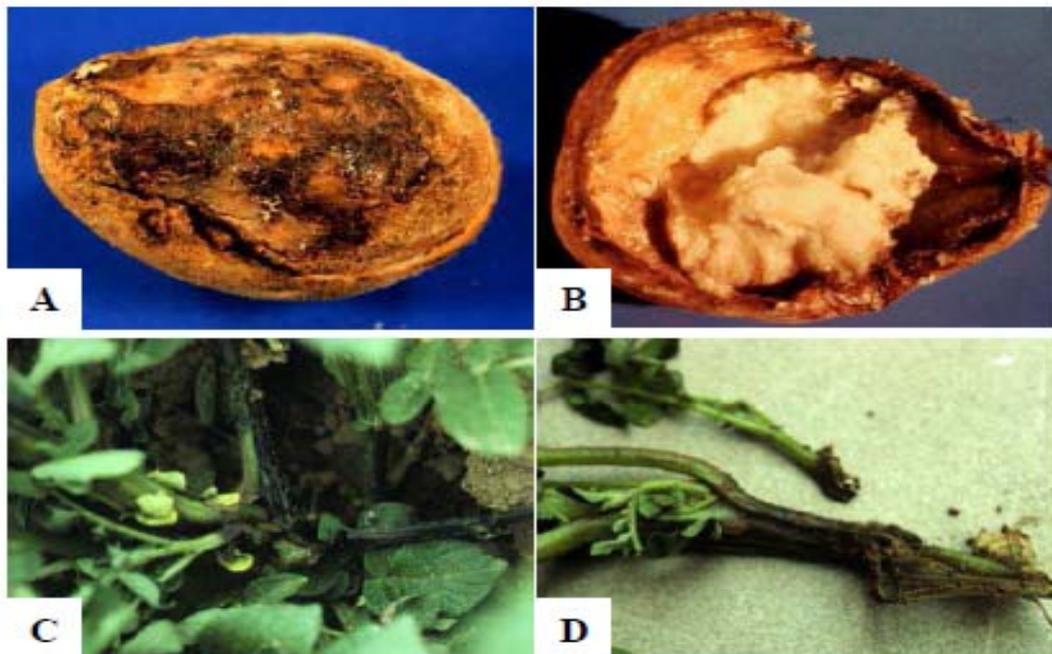


Figure 3 :Aspect de quelques symptômes causés par *Pectobacterium* sp.,(d'après Christ et al .,1998).

(A) Pourriture molle de l'extérieur de tubercule.

(B) Pourriture molle de l'intérieur de tubercule.

(C et D) Jambe noire à la base des tiges.

4.1.4. Plante hôte :

Les entérobactéries du genre *Pectobacterium spp* ont un spectre d'hôte très large puisqu'ils induisent des maladies chez des espèces variées d'angiospermes. Ces pathogènes infectent notamment des plantes d'intérêt agronomique telle que les pommes de terre (*Solanumtuberosum*).

Les bactéries pectinolytiques qui affectent la pomme de terre sont responsables de nombreuses maladies, que ce soit au champ ou au stockage. Ces bactéries appartiennent aux genres *Pectobacterium* et *Dickeya*. On recense principalement quatre espèces pathogènes de

la pomme de terre: *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum*, *Dickeya dianthicola* et '*Dickeya solani*' (Toth et al., 2011).

4.1.5. Conditions d'infection:

La bactérie peut survivre dans les débris de récoltes, dans les entrepôts et dans certaines larves d'insectes (asticots). Les températures minimales, optimales et maximales pour le développement du pathogène sont de 5, 22 et 37 °C. ⁽¹⁾

4.2. La pourriture molle bactérienne

4.2.1. Définition :

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 [Fig4](Yaganz., 2005).

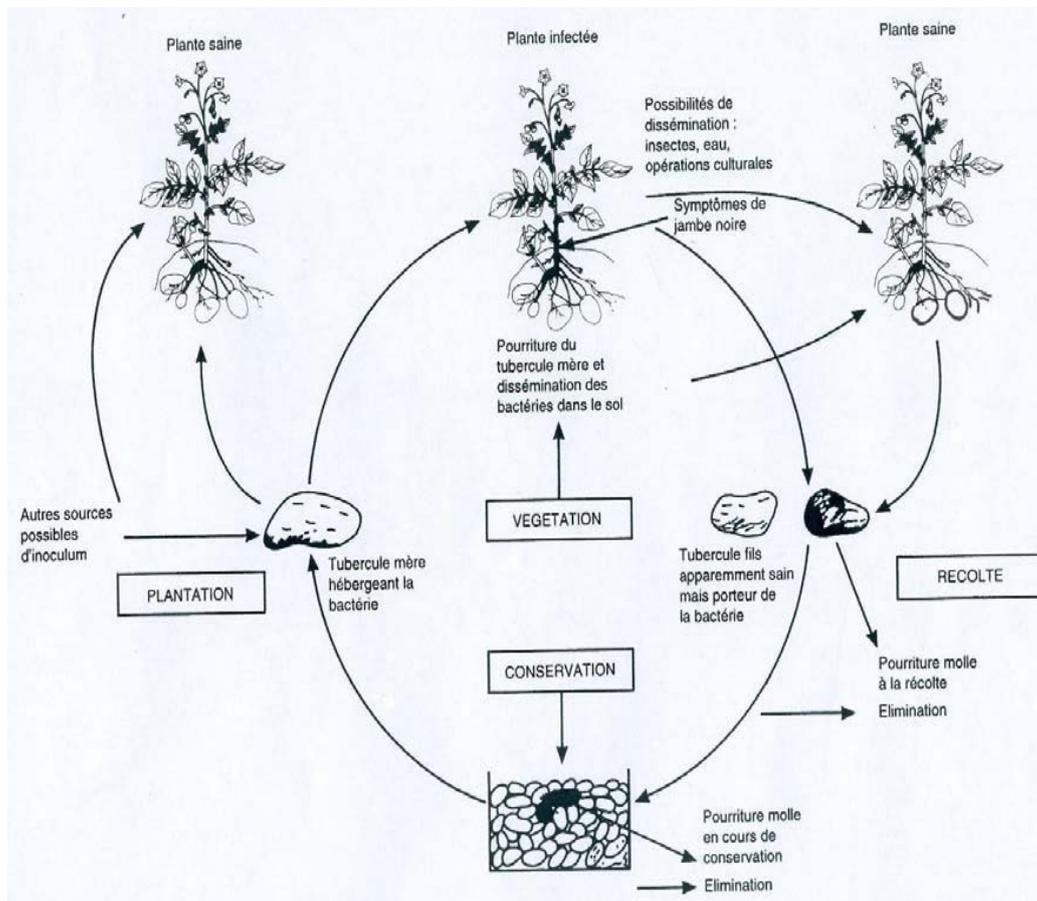


Figure 4 : Différentes phases de l'infection de la pomme de terre par *Erwinia carotovora* atroseptica (Extrait de Mieux comprendre la pomme de terre Ed.(INRA, Novembre.,1996).

4.2.2. Description de la maladie :

La *pourriture molle* est la plus importante maladie bactérienne de la pomme de terre à l'échelle mondiale, et les pertes économiques qui lui sont reliées peuvent être particulièrement importantes (De Boer., 1994 ; Sharga et Lyon.,1998). Les semences et les sols infectés sont une importante source 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 (Stevenson et al., 2001). Les blessures mal cicatrisées, les lenticelles et le stolon des tubercules sont les principales portes d'entrée des bactéries responsables de cette maladie. L'infection qui est facilitée par la présence de films d'eau sur les tubercules, débute par une invasion des espaces intercellulaires du parenchyme du tubercule. Occasionnellement, elle peut atteindre des éléments du xylème et du phloème et s'accompagner de formation localisée de mélanine (Fox et al., 1972). En entrepôt, la pourriture débute généralement sur des tubercules situés au fond de la pile de pommes de terre, où la ventilation est déficiente et la condensation fréquente, à tel point qu'au moment de s'en rendre compte, une bonne partie des récoltes est déjà irrécupérable. Les tissus infectés ont une apparence humide et une consistance légèrement granuleuse, avec une couleur crème à brun clair, dégageant une odeur nauséabonde (Stevenson et al., 2001).

4.2.3. Cycle de développement de la pourriture moelle bactérienne :

La *pourriture molle* des tubercules et la jambe noire sont souvent déjà associées au champ. Les tubercules atteints tôt peuvent être complètement détruits jusqu'à la récolte. Selon le mode de contamination, la pourriture débute au bout du stolon ou aux lenticelles. Les parties atteintes montrent d'abord une décoloration légèrement brune. Un halo brun, qui plus tard se creuse, apparaît sur les lenticelles infectées. La transformation de la chair en une bouillie aqueuse est typique de la maladie. Elle n'est retenue que par la peau d'une consistance de parchemin qui éclate à la moindre pression. La pourriture incolore qui en sort devient rapidement rougeâtre à brun foncé au contact de l'air. Elle dégage une odeur de moisi et de renfermé. La maladie est causée par des blessures ou par infection de pourriture brune (mildiou). Les tissus décomposés sont souvent colonisés en plus par d'autres bactéries, ce qui peut, dans des conditions d'anaérobies, produire une odeur très repoussante (acide butyrique) et l'écoulement de mucosités purulentes. (Ochsenbein et Keiser., 1990).

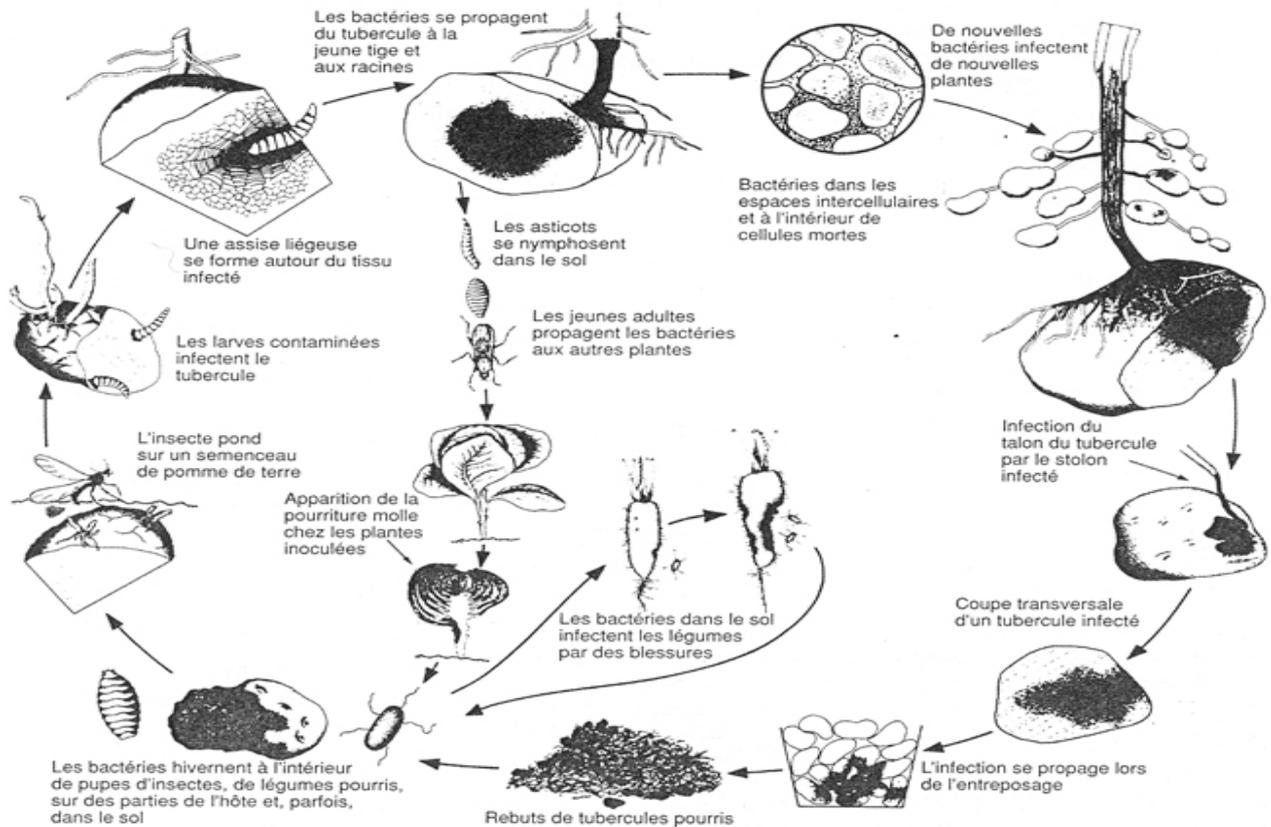


Figure 5 : Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne (Howard et al., 1994)

4.2.4. Agents bactériens responsables de la pourriture molle de pomme de terre :

Trois espèces d'ex *Erwini* peuvent causer la maladie de la pourriture molle " soft-rot en anglais" : *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp *carotovorum* et *Dickeya dadantii*. Ces bactéries appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et forment un groupe d'agents pathogènes des *Solanum tuberosum*. Ce sont des bacilles Gram négatif, en bâtonnets droits de 0,5 à 1,0 µm par 1,0 à 3,0 µm, anaérobies facultatives, mobiles grâce à des flagelles péritriches, isolées par paires et parfois en chaînes courtes, oxydase négative et catalase positive (Dickey et al., 1984).

4.3. *Erwinia amylovora*

4.3.1. Définition :

L'agent pathogène responsable du feu bactérien est la bactérie *Erwinia amylovora* (*E.a*) qui colonise les tissus sous-corticaux de nombreuses espèces de la famille des *Rosaceae*. Il s'agit d'un organisme nuisible pour lequel la lutte est obligatoire en tout temps et en tout lieu (arrêté du 31 juillet 2000). Le feu bactérien a été observé pour la première fois en France en 1978 en Anjou après avoir été introduit accidentellement dans les Britanniques en 1957. Avant cela, la maladie était présente aux Etats-Unis.

4.3.2. Caractéristiques :

Erwinia amylovora (*E.a*) est une *enterobactérie* mobile par ciliation péritriche (5 à 7 flagelle) ; elle se présente sous forme de cellule isolées ou associées par deux ; elle est oxydase négative et catalase positive. Elle se distingue des autres *entérobactéries* par son incapacité à se multiplier en anaérobiose et à réduire les nitrates. Pour assurer sa croissance, la bactérie exige l'addition au milieu () d'acide nicotinique (Lelliott et Dickeyea., 1984) ; son optimum de température (T) se situe entre 25 et 27 °C. Elle utilise le sorbitol et le mélibiose comme source de carbone (C), l'isoleucine, la méthionine et la thréonine comme sources d'azote. Généralement les souches d'*E. A* sont sensibles au chloramphénicol, à l'oxytétracycline et à l'acide nalidixique (Hauben et al., 1998).

4.3.3. Plantes hôtes :

Erwinia amylovora est la bactérie responsable du feu bactérien chez les plantes des espèces végétales appartenant à la sous-famille des *Maloideae* au sein de la famille des *Rosaceae*. Le feu bactérien est probablement la plus grave maladie affectant les Poiriers et Pommiers dans de nombreux pays. La bactérie est notamment disséminée sur de longues distances par les plantes hôtes qu'elle infecte de façon latente. (Anonyme., 2005).

4.3.4. L'action d'*Erwinia amylovora* :

Provoque l'arrêt de la sève montante (sève brute) du point d'introduction ou d'hivernage vers les parties hautes de la plante. Le résultat visible se traduit par le dessèchement progressif des parties aériennes vers les parties plus basses (Cartel., 1998).

4.3.5. La biologie de la bactériose et la propagation du Feu Bactérien :

L'agent pathogène hiverne sous l'écorce des plantes infectées l'année précédente. Les parties attaquées présentent des chancres, créant des zones déprimées liées à un affaissement de l'écorce.

Au printemps, les bactéries se multiplient grâce à des conditions climatiques favorables en termes de températures (entre 12°C et 24°C) et d'humidité.

Les insectes, les oiseaux, la pluie et le vent peuvent disséminer la maladie d'une plante d'une culture à l'autre, entraînant des bactéries contenues dans les gouttelettes d'exsudat dégagées au bord des chancres ou plus tard sur les pousses ou les fruits nouvellement infectées. La maladie est également transmise par l'homme (taille, arrosage par aspersion, transport de greffons malades...).

La pénétration se fait par les plaies naturelles ou artificielles (chute des pétales, grêle, plaie de taille ...).

La période de floraison des plantes hôtes est la plus propice à de nouvelles infestations.

Peu après l'infestation, les fleurs flétrissent et les pousses herbacées se recourbent en une crosse caractéristique.

Les branches, le feuillage et les inflorescences prennent une coloration brune à noire qui donne l'impression visuelle de brûlure (d'où le terme de Feu Bactérien).

La maladie gagne rapidement les branches, les charpentières pour atteindre finalement, si rien n'est fait et si les conditions sont favorables, le tronc. Cela peut entraîner la mort de l'arbre.

Sur les branches, la zone attaquée se crevasse formant à nouveau des chancres qui constituent une source d'inoculum pour l'année suivante (Fredon.,2010).

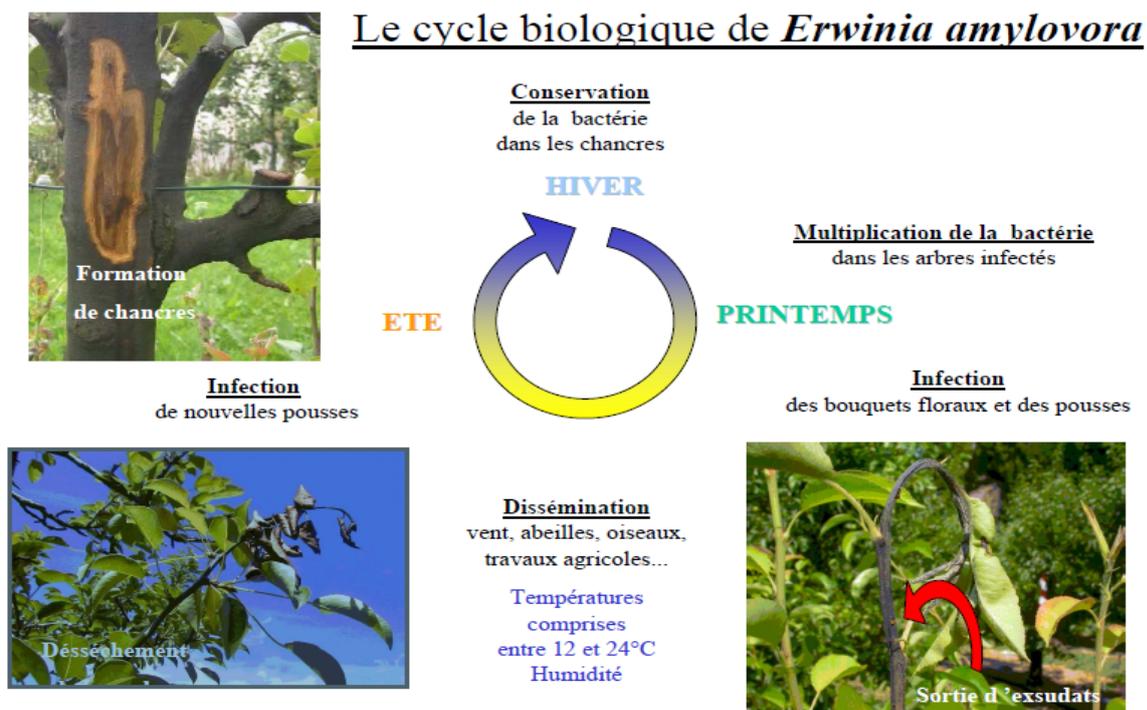


Figure 6 : Cycle de vie de Feu bactérienne⁽²⁾

4.3.6. Symptômes observés sur végétaux contaminés :

- Flétrissement des inflorescences et des feuilles de bouquets floraux). L'ensemble se courbe en forme de crosse et reste en place.
- Dessèchement, brunissement du feuillage des rameaux atteints comme « grillés » par le feu.
- Momification des jeunes fruits qui ne tombent pas.
- Présence d'exsudat : gouttelettes sur chancre et sur les écorces des zones parasitées.
- Portions d'écorces affaissées, desséchées avec formation de chancre. (Cartel., 1998)

4.3.7. Méthode de détection et d'identification :

L'identification d'E. a au laboratoire s'avère difficile. En effet les *caractères biochimiques couramment utilisés se révèlent souvent négatifs et sa détermination repose donc sur la combinaison de plusieurs techniques :

- **Méthodes classique :**

Elles consistent à isoler les colonies bactériennes sur des milieux plus ou moins sélectifs (SNA Billing et al., 1961) ; KB (king et al., 1954) ou CCT (Ishimaru et Klos., 1984) et à réaliser des tests de pouvoir pathogène sur tranches de pomme immature ou sur semis de pommier.

- **Méthodes sérologiques :**

Les techniques les plus souvent utilisées sont le test d'agglutination sur lame, l'immunofluorescence et la technique ELISA et ses dérivés (Mohamed., 2000).

4.4. Erwinia Dickeya spp

4.4.1. Définition :

Les *E. chrysanthemi* (Er.ch) sont désormais intégrées dans le nouveau genre *Dickeya*. Avec une température de croissance optimale élevée (35-37 °C) (Janse et Ruissen., 1988), *Dickeya* a été jusqu'à présent surtout identifiée sous les climats chauds et en serre. Parmi les six nouvelles espèces décrites dans ce nouveau genre, *Dickeya zea* et *Dickeya dianthicola* sont pathogènes sur la pomme de terre (Samson et al., 2005). Alors que *D. zea* est plus particulièrement décrite dans des régions chaudes, *D. dianthicola* est plus fréquente dans des zones tempérées comme en Europe. Les symptômes dus aux *Dickeya* spp varient selon les conditions climatiques (température, humidité) et sont difficilement reconnaissables de ceux provoqués par les *Pectobacterium* spp.

Outre, la pomme de terre, *D. zea* peut être isolée également à partir de □maïs, tabac, ananas et *chrysanthème*. *D. dianthicola* provoque des dégâts sur tomate, artichaut, endive, et sur

certaines plantes ornementales comme les dahlias, iris, kalanchoe ou œillet (Samson et al., 1987). L'augmentation de l'incidence des *Dickeya* dans les cultures de pomme de terre (Hélias et al., 2006 ; Crowhurst ., 2006 ;Van der Wolf et al .,2007) est probablement liée aux températures estivales élevées ces dernières années .La diversité observée chez *Dickeya* isolées récemment en zones tempérées (Palacio-Bielsa et al., 2006 ; Laurila et al., 2007) .

4.4.2. Symptômes :

A la base de la tige se développe une lésion noire, souvent visqueuse (jambe noire), généralement commentant à partir du tubercule de semence, Les feuilles s'enroulent, jaunissent et finalement flétrissent. Les tubercules pourrissent à partir du stolon.

En conditions chou et froides, l'attaque est moins violente et le noircissement peut se limiter B la moelle, la plante pouvant produire des tubercules aériens. ⁽³⁾

4.4.3. Description des symptômes en végétation :

Les attaques précoces du parasite peuvent faire pourrir les tubercules-mères et provoquer des manques à la levée.Le symptôme le plus typique est l'apparition du phénomène de jambe noire c'est-à-dire une pourriture noire plus ou moins humide de la base des tiges (et parfois des racines), due au développement bactérien. Les tissus se ramollissent et la mauvaise alimentation en eau de la plante peut entraîner un flétrissement du feuillage, ainsi qu'un jaunissement et un enroulement des feuilles qui rend très nets les symptômes sur les plantes fortement touchées. Les conditions humides et fraîches favorisent la bactérie mais les symptômes s'expriment souvent mieux après un déficit hydrique.

Erwinia chrysanthemi provoque en conditions plus chaudes un flétrissement et une pourriture brune à noire de l'intérieur des tiges. ⁽³⁾

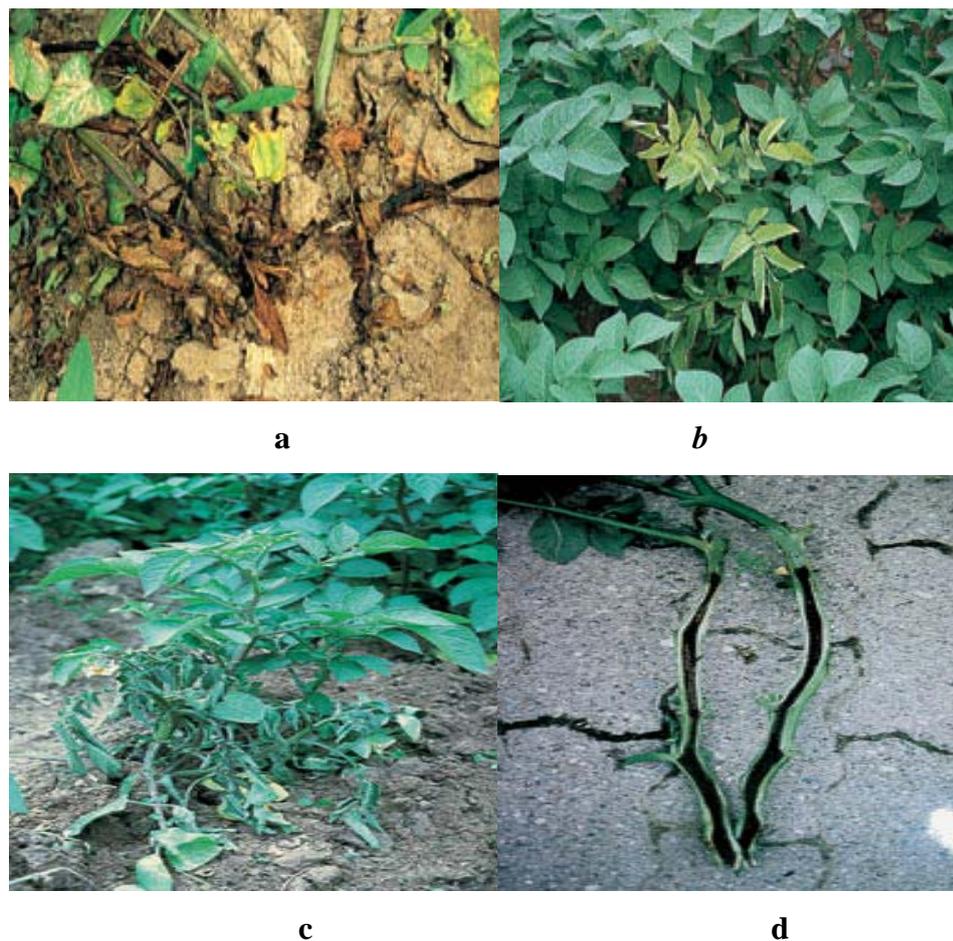


Figure 7 : (a, b, c d)Symptômes de Feu bactérienne sur différentes parties de pomme de terre.

(3)

4.3.4. Description des symptômes sur tubercules :

Les symptômes sur tubercules se caractérisent par des *pourritures molles* internes démarrant souvent du stolon. La bactérie dégrade les tissus du tubercule qui deviennent spongieux et la pourriture, d'abord de couleur claire, brunit ensuite (photo de gauche ci-dessous). D'autres organismes saprophytes se surajoutent rapidement et entraînent la formation d'odeurs nauséabondes et de mucosités.⁽³⁾

Lors d'excès d'eau en terre ou en stockage, on peut observer des pourritures lenticellaires (photo de droite ci-dessous) [Fig.8].



Figure 8 : (a, b) les symptômes sur les tubercules⁽³⁾.

4.4.5. La dissémination de l'agent pathogène :

Transmise par les semences, le pathogène survit dans les débris, tubercules, outils. Les insectes et les nématodes.

La contamination des tubercules, ainsi que la survie du pathogène dans le sol est favorisée par des conditions humides et fraîches, tandis que les symptômes sur tige (jambe noire) sont favorisés par des conditions humidité La bactérie peut survivre dans le sol ⁽³⁾

4.4.6. Dégâts :

Les plantes infectées meurent souvent entièrement ou leur capacité de rendement est fortement réduite. La pourriture molle dans le champ peut également conduire à des pertes de récolte considérables. Au cours des dernières années, la propagation de la pourriture molle au stock a pu être mieux contrôlée grâce à l'amélioration des techniques de stockage. Le producteur de plants de pommes de terre peut se voir refuser sa marchandise en raison d'une infection d'*Erwinia*. Contrairement à la marchandise de consommation, les plants de pommes de terre atteints de pourriture molle ne peuvent pas être mis en valeur prématurément. Ils doivent être stockés jusqu'au printemps lorsque les températures sont plus élevées pour la pré-germination.(Ochsenbein et al .,1990).

4.4.7. Rôle du tubercule dans la transmission et la dissémination :

Le tubercule, qui peut assurer la survie des bactéries au cours de la conservation et leur transmission aux tubercules fils, lors de la culture suivante, constitue la source d'inoculum la plus connue (Pérombelon.,1980). Les bactéries peuvent être localisées dans le système vasculaire, les lenticelles ou à la surface des tubercules (Nielsen., 1978 ; Pérombelon., 2000). Si elles tendent à disparaître rapidement de la surface des tubercules en conditions sèches, les populations bactériennes sont capables de se maintenir pendant les six à sept mois de stockage à un niveau de contamination sensiblement constant au sein des lenticelles Par ailleurs, les blessures occasionnées lors de la manipulation des tubercules (plantation, récolte, tri) constituent autant de portes d'entrée qui permettent la pénétration de *Pectobacterium* et

Dickeya (Pérombelon., 1980 ; Van Vuurde *et al.*, 1994). Ce type de contamination se produit principalement lors du contact de tubercules sains avec des tubercules malades (Elphinstone et Pérombelon., 1986a). Par ailleurs, les bactéries persistent mieux au niveau des blessures profondes où elles sont bien protégées de la dessiccation après leur cicatrisation (Pérombelon., 1992a).

Outre l'humidité du sol, le niveau de contamination du tubercule de semence est un facteur important pour le développement de la maladie. Ainsi, des tubercules fortement contaminés par le pathogène ont plus de chances de voir la maladie se développer, indépendamment des conditions environnementales (Bain *et al.*, 1990).

Les repousses et résidus de culture permettant la survie et la multiplication des bactéries constituent par ailleurs des sources de contamination importantes (Pérombelon et Kelman., 1980).

4.3.8. Rôle du sol et de la rhizosphère :

Toutefois, des études (Burr et Schroth., 1977 ; McCarter -Zorner *et al.*, 1985) mettent en évidence la présence de *Pectobacterium* au sein de la rhizosphère de différentes cultures (laitues, carottes, betteraves à sucre). Les cultures de *brassicacae* (brocoli, colza, rutabaga, navet, chou) sont reconnues comme hébergeant *Pectobacterium* fréquemment et à des niveaux relativement élevés (McCarter- Zorner *et al.*, 1985 ; Pérombelon et Hyman., 1989). Les bactéries sont également isolées à partir de rhizosphères d'adventices (laiteron, mouron, pâturin, amarante, chénopode blanc, renouée) (Burr et Schroth., 1977 ; McCarter- Zorner *et al.*, 1985).

L'importante gamme d'hôtes de cette pathogène laisse supposée que d'autres adventices pourraient permettre son maintien dans l'environnement⁽⁴⁾

Plus que l'humidité du sol, c'est sa température qui semble affecter la survie des bactéries. Ainsi, (Pérombelon et Hyman., 1989) montrent que les bactéries *Pectobacterium* meurent rapidement dans un sol dépassant les 25 °C, alors qu'elles peuvent survivre plusieurs semaines, voire plusieurs mois, à des températures de l'ordre de 10 à 20 °C. Des résultats similaires rapportés par De (Mendonça et Stanghellini., 1979) montrent la survie de *Pectobacterium* spp. Dans les couches inférieures du sol (15-30 cm) où les conditions environnementales sont plus stables et favorables (fluctuations de températures et d'humidité moindres). *Pectobacterium carotovorum* sub sp., décrite comme ayant une plus grande capacité de survie que *Pectobacterium atrosepticum*, est également plus fréquemment mise en évidence dans l'environnement (Pérombelon et Hyman., 1989 ; Stanghellini., 1982).⁽⁴⁾

III. Pouvoir pathogène des bactéries pectinolytiques

-Principaux facteurs de virulence

Pectobacterium carotovorum subsp carotovorum, *Pectobacterium atrosepticum*, et *Dickeya dadantii* 3937 sont les trois bactéries pectinolytiques pour lesquelles les bases moléculaires qui déterminent leur pouvoir pathogène sont largement étudiées. Ces bactéries sécrètent, de façon synchrone et en réponse à un mécanisme de régulation appelé quorum sensing l'ensemble des enzymes lytiques (pectate lyases, pectinases, polygalacturonase, cellulase, protéase, etc.) dont l'activité est responsable des symptômes de macération observables sur plants et tubercules (**Charkowski., 2006**). Cet arsenal enzymatique est particulièrement bien adapté à la dégradation de tous les composants des parois cellulaires végétales, ce qui explique l'ampleur des dégâts observés et leur vitesse d'apparition. Il existe d'autres mécanismes importants participant au pouvoir pathogène des *Pectobacterium* sp à savoir : la mobilité, l'acquisition du fer via la production des sidérophores, la formation de biofilm, le chimiotaxisme, etc.

Six systèmes de sécrétion permettant de sécréter les enzymes lytiques ou les facteurs de virulences sont développés par les bactéries Gram négatif et en particulier les *Pectobacterium* sp. Ils sont différenciés selon leur fonctionnement, l'assemblage de la machinerie et le type de substrats. Les systèmes de sécrétion de type I, III, IV et VI permettent une sécrétion en une seule étape, du cytoplasme au milieu extracellulaire ou directement dans la cellule-hôte. Les systèmes de type II et V permettent la translocation en deux étapes des protéines du périplasme à travers la membrane externe (**Sandkvist., 2001**).

IV. La lutte contre *Erwinia*

1. Stratégies de lutte contre les *Pectobacterium* sp.

La lutte contre les maladies phytopathogènes est une préoccupation majeure de l'agriculteur. Chaque année, la production agricole mondiale est réduite de 12 à 14%, 15% des dommages étant d'origine bactérienne. Les pertes économiques causées par les maladies phytopathogènes, et l'absence de moyens de lutte efficaces motivent aujourd'hui le développement recherches multidisciplinaires visant à protéger du mieux possible les cultures .Les différentes stratégies de lutte qui existent à l'heure actuelle, contre les maladies bactériennes des plantes et en particulier contre les *Pectobacterium* sp, sont des moyens de lutte physique, chimique, génétique et biologique.(**Kettani., 2012**).

1.1. La lutte physique

Si la manipulation soignée des plantes pendant la récolte et le stockage permet de réduire les blessures et limiter ainsi les possibilités d'infection par le pathogène, d'autres moyens de lutte physique permettent de lutter contre les *Pectobacterium* (Czajkowski *et al.*, 2011).

Différents moyens peuvent être mis en œuvre tels que : La ventilation d'air extérieur pendant le transport et les contrôles de température et d'humidité pendant le stockage sont des pratiques supplémentaires qui peuvent limiter l'infection ou la propagation du pathogène. Les producteurs ont aussi les moyens de limiter la pourriture molle pendant le stockage en éliminant les tubercules endommagés ou malades. De plus, des mesures sont à l'étude, visant à limiter la présence des pathogènes sur le tubercule après récolte et leur dissémination dans l'environnement. (Moreau *et al.*, 2005) envisagent l'utilisation de réacteurs de décontamination dont la technologie est basée sur l'émission de plasmas froids pour traiter les eaux de lavage des tubercules après récolte (Kettani, 2012).

1.2. La lutte chimique

Pour des raisons de protection de l'environnement, les doses faibles des traitements chimiques des cultures à base de cuivre ou d'organomercure demeurent peu efficaces (Priou and Jouan, 1996). De nouveaux composés capables d'altérer l'intégrité cellulaire bactérienne ou d'inhiber la croissance des *Pectobacterium*, des solutions salées de chlorure d'aluminium et de métabisulfite de sodium (Yaganza *et al.*, 2004) ou encore de peptides de synthèse (Kamysz *et al.*, 2005), se sont avérés très efficaces lors d'essais au laboratoire. Si ces composés peuvent sembler très intéressants grâce à leur large spectre d'hôte (fongique et le risque écologique d'altération des équilibres microbiens apparaît très important (Kettani, 2012).

1.3. La lutte génétique et transgénèse

D'après les études génétiques sur la résistance de la pomme de terre aux maladies (Gebhardt et Valkonen, 2001), les quelques régions susceptibles de jouer un rôle dans la résistance à *Pa* semblent éparpillées sur les 12 chromosomes de cette plante. L'amplitude de cette résistance varie en fonction de la variété étudiée. (Pasco, 2005) montre ainsi que sur un panel de 16 variétés, la variété Kerpondy est peu sensible, tandis que la variété Ackergesegen est très sensible aux pourritures molles engendrées par *Pa*. Cependant, l'obtention par croisement variétal de plants résistants et en même temps, présentant des caractères améliorant le rendement, la conservation, les critères organoleptiques ou la teneur en amidon ou sucres réducteurs est actuellement difficile, car longue et aléatoire (Kettani, 2012).

Certains généticiens ont proposé la création de variétés transgéniques de pomme de terre, ayant intégrées un ou plusieurs gènes d'origine microbienne, végétale ou animale. L'exemple le plus étudié est la production de lysozyme par la plante transgénique après intégration dans son génome d'un gène originaire d'un bactériophage. On a montré que le lysozyme pourrait inhiber la multiplication des bactéries et maintiendrait ainsi leur densité en dessous du niveau de virulence. Cependant, son action non spécifique pose un risque environnemental similaire à celui évoqué précédemment pour les composés chimiques à large spectre d'hôte (**Kettani., 2012**).

1.4. La lutte biologique

La lutte biologique est définie classiquement comme l'utilisation d'agents biologiques (virus, bactéries, champignon, nématodes...), pour lutter contre les organismes pathogènes et les ravageurs des plantes. Cette technique repose essentiellement sur l'exploitation des relations dynamiques entre la plante et son environnement. Différentes approches de base de la lutte biologique ont ainsi été définies : la compétition, le parasitisme, l'antibiose et l'induction des systèmes de défense chez la plante.

- **La compétition** entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour la croissance (**Neeno-Eckwall et al., 2001**).
- **Le parasitisme** ou l'utilisation d'organismes vivants (appelés auxiliaires) pour empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés par des organismes nuisibles. Plus d'une centaine d'espèces d'auxiliaires sont utilisées dans le monde mais la très grande majorité est représentée par des insectes parasitoïdes. Aucun traitement de lutte efficace contre les *Pectobacterium* basé sur ce mécanisme n'est disponible actuellement.
- **L'antibiose** ou l'inhibition d'un microorganisme par le produit métabolique d'un autre est proposé par certains auteurs comme une approche de lutte biologique efficace contre les *Pectobacterium* sp. (**Baz et al., 2012**) montrent que l'utilisation des actinomycètes, connus pour produire des substances antibiotiques, inhibe le développement de la pourriture molle de quatre cultivars différents de pomme de terre causé par Pcc et Pa. D'autres microorganismes modèles, appartenant au genre *Pseudomonas*, ont été principalement étudiés au laboratoire en tant que biopesticides potentiels pour leur capacité à former des sidérophores de type pseudobactin ou pyoverdine. Cependant, l'efficacité de ces isolats n'a jamais été démontrée au champ. Cela pourrait être attribué aux différences de caractéristiques biotiques et abiotiques des sols, qui ne permettent pas

à ces souches de maintenir dans le temps une population suffisamment élevée pour être efficace (**Kettani., 2012**).

Chapitre 02 :

Matériels et Méthodes

I.L'origine des souches

Les souches d'*Erwinia spp* : *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora*.

Les souches d'*Erwinia* nous ont été procurées par le laboratoire de microbiologie appliqué université d'Oran Es-Senia.

Tableaux03 :l'origine des souches

| origine Les souches | Lieu | wilaya |
|-------------------------------|--------------|---------------|
| M3 | Frouha | Mascara |
| ZA | acheacha | Mostaganem |
| K | Sidi maarouf | Oran |
| PT | frouha | Mascara |
| SA | Sidi adjal | Mostaganem |
| M1 | frouha | Mascara |
| D2 | debedaba | Mostaganem |
| DSA | Sidi adjel | Mostaganem |
| JELLY | bounif | Oran |
| SOL | Sidi adjel | mosta |
| SA | Sidi adjal | mostaganem |
| MAI | frouha | mascara |
| EA | boutlelisse | oran |
| ZA | boutlelisse | oran |

II. teste de confirmation

1.Préparation du milieu de culture LPGA

Les milieux de culture sont des préparations stériles, solides, semi solides ou liquides, utilisées pour faire croître, repiquer ou conserver des micro-organismes. Ils offrent sous forme assimilable toutes les substances indispensables à leur nutrition dans des conditions physico-chimiques optimum. Un bon milieu doit :

- Etre stérile
- Etre nutritif : contenant quantitativement et qualitativement les aliments exigés pour la croissance et l'entretien des micro-organismes.
- Contenir une quantité d'eau suffisante pour permettre le métabolisme microbien.
- Avoir un pH convenable (**Guezlane-Tebibel, et al ., 2008**).

Le milieu de culture utilisé (LPGA) est préparé en utilisant des produits [**voir annexe2**], ensuite le milieu est coulé dans des boîtes de pétri.



Figure9 : Coulage le milieu LPGA(**personnelle., 2016**)

1.1.Repiquage de bactérie (*Erwinia spp*) :

- On flambe les instruments utilisés et on les plonge dans des bacs à désinfectant.
- On prélève à l'anse ou à la pipette Pasteur, une colonie, en respectant les règles de stérilité et on la met dans un milieu de culture LPGA par ensemencement en cadrions.

Le repiquage : est la transplantation d'une culture pure sur un milieu de culture neuf.

L'ensemencement : est l'opération qui consiste à déposer dans un milieu de culture stérile des germes prélevés à partir d'une culture mère : milieu naturel (eau, poussières, sol) ou culture pure. Le transport en général effectué avec un fil à ensemencer, l'anse de platine ou la pipette Pasteur (**Guezlane-Tebibel, et al., 2008**).

- les boîtes ensemencées, sont déposées dans l'étuve à température 28°C pendant 48h en position renversée, couvercles en bas, pour éviter l'eau de condensation sur le couvercle et distinguer.
- Après incubation on observera que la densité des colonies décroît du premier quadrant vers la quatrième. la culture est en générale confluyente dans le premier secteur alors que le dernier présente si l'étalement est bien exécuté, des colonies bien espacées.



Figure10 : L'ensemencement de colonie(personnelle., 2016)

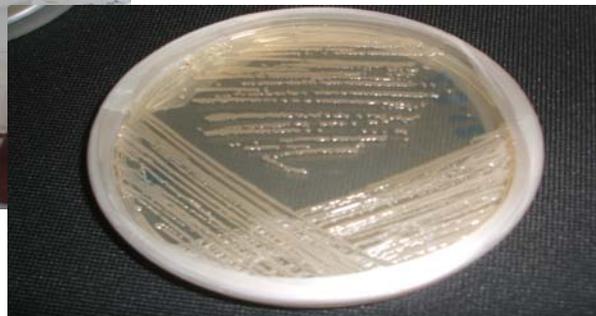


Figure11 :La croissance de bactérie(personnelle., 2016)

1.2. les tests de confirmation

1.2.1. coloration de gram :

La coloration double ou coloration de Gram qualifiée de coloration différentielle car elle permet dès le début de l'examen bactériologique, de cataloguer les bactéries en deux grandes groupes distincts basés sur des propriétés de coloration : les Gram positifs et les Gram négatifs. Cette technique reposant sur les caractéristiques membranaires et de paroi de la bactérie, est devenue l'une des bases de la taxonomie ou de la classification bactérienne. Les facteurs principaux qui interviennent dans cette coloration sont :

- La différence de composition chimique des parois bactériennes dont dépendent également les liaisons ioniques entre groupement basiques du colorant et les groupements acides de la cellule, et la nature du mucocomplexe.
- La différence de perméabilité de la paroi à l'alcool liée à des variations dans la structure et en conséquence la dissolution plus ou moins rapide du complexe formé (**Guezlane-Tebibel, et al., 2008**).

a. préparation d'un frottis :

- Identifier la lame en y inscrivant le nom de la bactérie.
- Délimiter la zone du frottis à l'endos de la lame en traçant un cercle.
- Déposer une gouttelette d'eau du robinet dans la zone délimitée.
- Flamber lance de platine jusqu'à ce qu'elle devienne rouge.
- Trouver une colonie isolée sur la gélose.
- Toucher à cette colonie avec l'anse de repiquage.
- Emulsionner la bactérie prélevée dans la gouttelette d'eau.
- Flamber l'anse de repiquage jusqu'à ce qu'elle devienne rouge .Laisser refroidir l'anse.
- Fixer le frottis à la chaleur selon la technique utilisée par le professeur lors de la démonstration.
- Débuter la coloration.

b. procédure de la coloration de Gram :

- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur frottis fixé.
- Laisser agir 1 à 2minute (min). Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.
- Jeter l'excès de colorant dans un bécher.
- Rincer très brièvement en faisant couler de l' H₂O sur la lame au- dessus du frottis (pas directement sur le frottis).

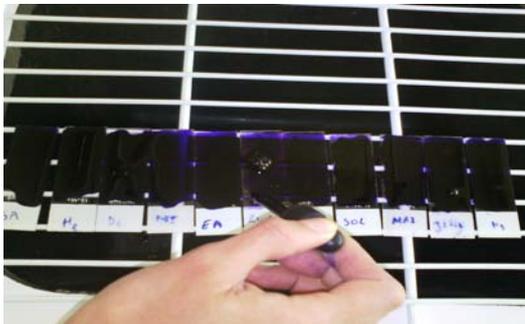


Figure12 :La déposition de violet de gentiane (Personnelle., 2016).

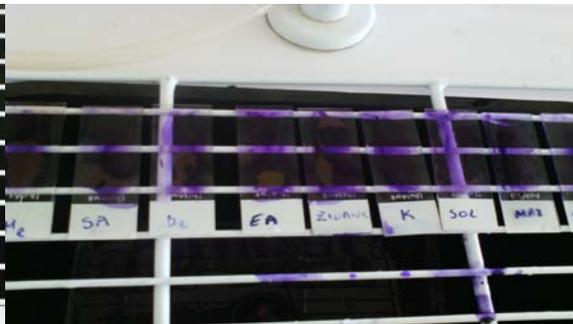


Figure13 :Les lames après rinçage (Personnelle., 2016).

- Déposer quelques gouttes de Lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries.



Figure14 : L'addition du Lugol (personnelle., 2016)

- Laisser agir 30 secs à 1 min.
- Jeter la solution de Lugol dans un b cher et rincer brievement à l'H2O comme précédemment décrit.
- Couvrir la lame avec le mélange d'alcool-acétone pendant 10 secs.
- Rincer à l'eau du robinet. Enlever le surplus d'eau.
- Couvrir la lame avec le fushine.

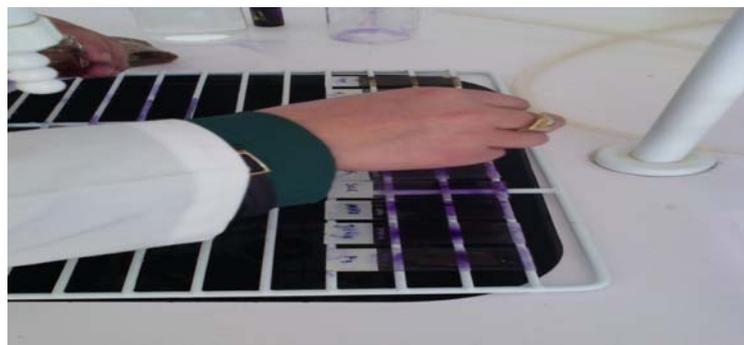


Figure 15 : L' tat de fuchine(personnelle.,2016).

- Laisser agir 60 secs.
- Rincer à l'eau coure.



Figure16 : La lame avant l'observation au microscope (personnelle.,2016)

- En suivant les règles d'utilisation du microscope, examiner les frottis colorés de bactéries par le microscope à l'objectif $\times 100$ en utilisant une goutte d'huile l'immersion.

L'observation à l'état frais :

- Déposer une goutte d'eau distillée sur une lame
- Prélever avec une l'anse une colonie de bactérie
- Mètre la colonie dans la goutte et mélange pour obtenir a un frottis
- Mètre lamelle sur la lame et observé au microscope.

But de l'observation à l'état frais :

- Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de regroupement, de leur mobilité éventuelle et de la quantité approximative de bactérie (**delarras., 2008**).
- Permet de voir la mobilité des bactéries.

Le teste s'effectue de manière suivante :

- Mettre une goutte d'eau sur lame.
- Prendre une colonie bactérienne à l'aide de pipette pasteur ou l'anse de platine et la mettre dans la goutte d'eau.
- Mettre une lamelle sur la goutte et faire observation au microscope optique *40

Les bactéries mobiles se déplacent rapidement dans tous les sens, alors que les bactéries immobiles reste à leur places ou se déplacent en même sens du au flux de l'eau.

1.2.2. Teste d'oxydase

L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaines rebactspiratoires cytochromique bactériennes. La recherche de cette enzyme est utile dans le repérage des colonies de Neisseriaceae et dans le diagnostic des bacilles à Gram négatif. (**Delarras., 2007**).

a. protocole :

Le réactif peut se trouver sous deux formes :

- soit en solution : sur une lame de verre, déposer un carré de papier filtre et l'imbiber d'une solution fraîchement préparée de réactif.
- soit sous forme d'un disque pré-imprégné par le réactif :

Placer un disque non imprégné sur une lame à l'aide d'une pince flambée.

- Déposer une goutte de réactif sur le disque non imprégné.
- Avec une pipette Pasteur prélever une colonie sur milieu solide et la déposer doucement sur le disque.



Figure 17 :Disque d'oxydase(**personnelle., 2016**)

b. Remarque :

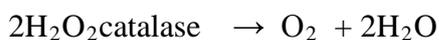
- Ne pas utiliser l'anse métallique pour prélever les bactéries. En effet, le métal peut être recouvert d'un oxyde et un résultat faussement positif.
- Le milieu solide ne doit pas contenir d'indicateur de pH, ni de glucides.

c. Lecture :

- La lecture après 30 secs environ.
- La présence **des taches rose violette** : La bactérie possède l'activité oxydase, elle est dite **Oxydase+**.
- L'absence **des taches rose violette** : La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite **Oxydase-**.

1.2.3. test de la catalase :

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage. La recherche de cette enzyme est utile pour différencier les bactéries appartenant aux familles des *Micrococcaceae*, *Dermcoccaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae*. (Delarras., 2007).



a. Protocole :

Déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (= peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur.

- Prélever une colonie à l'aide de l'anse.
- Mètre la colonie dans la goutte.



Figure 18 :Teste de catalase (photos personnelle., 2016).

b. Remarque :

- L'utilisation de l'anse est possible à condition qu'elle ne possède pas d'action catalasique, ce que l'on vérifiera facilement par un test sans bactérie.

c. Lecture :

- La présence de **bulles d'oxygène** : La bactérie possède la catalase, elle est dite →**Catalase+**.
- L'absence de **bulles d'oxygène** : La bactérie ne possède pas la catalase, elle est dite →**Catalase-**.

1.2.4. teste de Hugh Leifson :

- Le milieu OF, milieu de base pour la détermination de l'oxydation et de la fermentation selon Hugh et Leifson couramment dénommé milieu de Hugh et Leifson, a été mis au point par ces deux microbiologistes en 1953 pour étudier le métabolisme oxydatif et fermentatif des micro-organismes durant la dégradation des glucides (**Delarras., 2007**).

a. Préparation du milieu : [voir annexe 1]

- Ce milieu permet de déterminer la voie d'attaque du glucose utilisé comme source d'énergie par la plupart des bactéries. Pour synthétiser de l'énergie, les bactéries peuvent attaquer par :
 - **Voie oxydative** : le glucose est utilisé uniquement en présence de dioxygène (faible libération d'acides).
 - **Voie fermentative** : le glucose est utilisé en absence de dioxygène et en présence de dioxygène ou seulement en absence de dioxygène (forte libération d'acides) (**LNPV., 2005**).

b. Protocole :

Avec une l'anse prélever une colonie de bactérie et dissocier dans deux tube contenant de liquide HL avec un indicateur de pH.

- Mélangées les deux tube bien
- Déposé quelques gouttes de vaseline dans un tube

- Incuber 24h

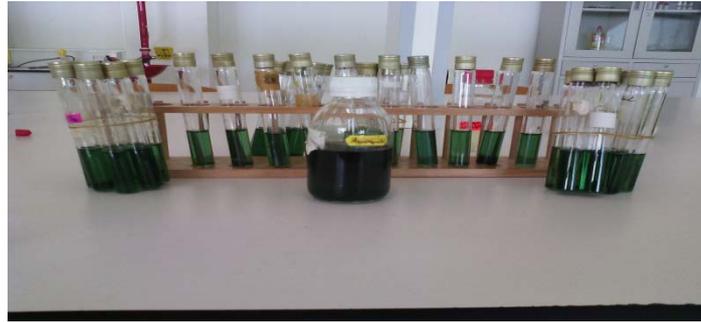


Figure19 :Le milieu de Hugh Leifson (personnelle., 2016)

c. Lecture :

- Changement de couleur vert à jaune dans la zone aérobie seulement : **Glucose dégradé par voie oxydative.**
- Changement de couleur de vert à jaune dans les zones aérobie et anaérobie :**Glucose dégradé par fermentation.**
- Milieu reste vert dans la zone aérobie et anaérobie : **Glucose non dégradé.**

III. TEST amylolitique

On parle d'amidon

- Préparer deux milieux de culture (LPAA) voir annexe.
- Couler chaque milieu dans des boîtes pétri.



Figure20 :Coulage des milieux LPAA. (Personnelle., 2016)

- laisser le milieu jusqu'à solidifie.
- diviser les boîtes en quatre quadrants.



Figure 21 : L'activité d'amylolitique (personnelle., 2016)

A l'aide d'une anse à inoculer stérile, le milieu de culture (milieu servant à mesure l'activité amylolitique des *Erwinia*) par point, en déposant des amas de la bactérie à identifier même souche dans le milieu, incubé pendant 48h à 28°C.

La lecture des résultats se font à l'aide de vapeur de lugol :

On met du lugol dans boîte en verre, ensuite mettre cette dernière sur la flamme jusqu'à ébullition de lugol et avoir de la vapeur, à ce moment on dépose notre boîte de LPAA de façon que la vapeur passe directement sur le milieu.

Résultat positif la boîte se colore en bleu et la bactérie qui a dégradé l'amidon est entourée d'un cercle transparent.



Figure 22 : L'exposition de souche à la vapeur de lugol (personnelle., 2016)



Figure 23 : L'aspect de l'activité d'amylolitique (personnelle., 2016)

IV. Teste d'hypersensibilité du tabac

Le test d'hypersensibilité du tabac met en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie suite au dessèchement des zones d'inoculation sur les feuilles de tabac.

Préparer une suspension bactérienne d'*Erwinia* de l'ordre de 10^9 ufc/ml d'une culture jeune (24h à 48h). Utiliser un plant de tabac ayant atteint le stade de 5 à 6 feuilles.

À l'aide d'une seringue tuberculine de 1 ml, injecter la suspension bactérienne dans l'espace intercellulaire le long de la nervure centrale ou de la nervure secondaire.

L'inoculation de la suspension bactérienne se fait sur la surface inférieure de la feuille. Laisser le plant à la température de la pièce de 24 à 48 heures. Lire la réaction obtenue.

- **Réaction positive :** La zone foliaire inoculée avec la bactérie devient légèrement translucide et a un aspect humide. Par la suite, les tissus s'assèchent et prennent une coloration brun clair à beige (une plage nécrotique).
- **Réaction négative :** Aucun changement dans la couleur et l'aspect du tissu. Un jaunissement ou un brunissement sans assèchement de la zone foliaire inoculée n'est pas une réaction positive.



Figure 24 : L'injection de suspension bactérienne (personnelle., 2016).



Figure 25: Nécrose sur tabac (personnelle., 2016).

V. Teste de virulence (Test de pathogénicité sur tranches de pomme de terre)

Dans notre travail on a testé 6 isolats d'*Erwinia* sur 6 variétés différentes de pomme de terre.

Les isolats utilisés sont : SOL, SA, MAI, EA, ZA et JELLY.

Les variétés de pomme de terre sont : Désiré, Spunta, Laura, Margaritte, Bellarosa et Condor.

Le protocole utilisé pour réaliser ces deux essais est inspiré de celui de (Haynes et al., 1997). Les tubercules sont d'abord lavés bien à l'eau et stérilisés en surface par trempage dans de l'éthanol à 70 % et bref passage sous la flamme d'un bec Bunsen [Fig.26].



Figure 26 : Le rinsage du tubercule avec l'éthanol (personnelle., 2016)

Une tranche, d'environ 5 mm d'épaisseur, est coupée au centre du tubercule, puis placée dans une boîte de Pétri contenant 1 ml d'eau stérile. Un papier filtre de 1 cm² est placé au centre de la tranche. Une première pesée est alors réalisée afin de déterminer le poids initial [Fig.27]. Ensuite, 100 µl de suspension bactérienne (10⁸ ufc/ml) sont déposés sur le papier filtre [Fig.28].



Figure 27 : Le poids initiale de tranche (personnelle.,2016)



Figure 28 : Les tranches dans les boites(personnelle.,2016)

La boîte est ensuite entourée avec du Parafilm pour limiter les échanges gazeux et incubée dans une étuve à 28 °C pendant 48 h.

Au terme de l'incubation, la pourriture causée par les bactéries est enlevée Une seconde pesée est alors réalisée pour obtenir le poids final et calculer la perte de poids [Fig.27]. Cette perte de poids correspond à la part de la tranche dégradée par la bactérie.

Pour l'essai portant sur l'étude de l'agressivité des isolats, 90 tranches de pommes de terre sont coupées.

Chaque isolat est testé sur 15 tranches et 3 tranches témoin sont utilisées pour l'ensemble de l'essai.



Figure29:L'élimination de lapourriture (personnelle., 2016)

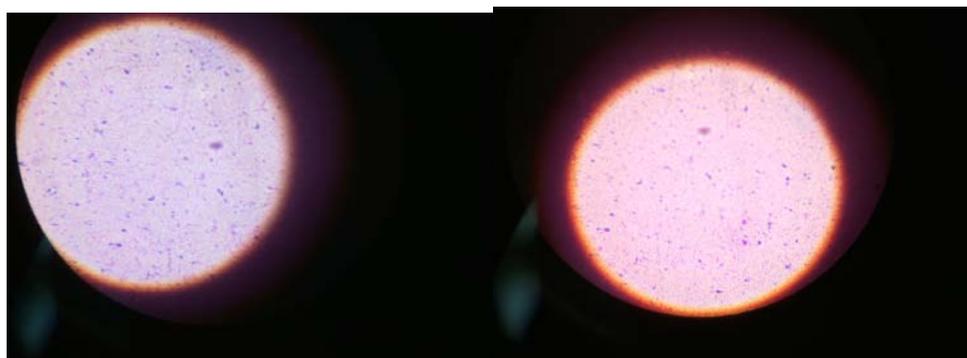
Chapitre 03 :

Résultats et discussion

I. Teste de confirmation

1. Coloration de gram

Après observation microscopique en ajoutant d'huile d'émersion à grossissement x 100, on observe des bactéries en chaînette, de forme coccobacille à bacille, de couleur rose donc c'est bactérie à gram négative [Fig.30]



a

b

Figure30 (a,b) : L'observation microscopique des souches d'*Erwinia* après coloration de Gram x 100 (personnelle., 2016).

Le but de coloration de gram pour présentant les caractéristiques microscopique de bactérie :

- Disposition → en chaînette
- La forme → coccobacille à bacille.

Observation à l'état frais :

On remarque que nos souches d'*Erwinia* se déplacent dans différentes sens donc sont dites mobiles.

2. Teste d'oxydase

La couleur violet sur le disque reflète résultat positive tandis que resultat négative ; le disque réste incolore.

Nos souches n'ont données aucune couleur sur le disque, donc sont **Oxydase -**[Fig.31]



Figure 31 : Résultat de teste d'oxydase (personnelle.,2016).

3. Teste de catalase

Résultat positive se manifeste par présence des billes d'oxygène.

Tous les souches ont données des bulles d'oxygène, donc sont catalase+ (les souches ont l'enzyme catalaseur d'eau oxygéné H_2O_2 (Fig. 32).



Figure32 : Résultat de teste de catalase (personnelle ., 2016).

4. Test de hugh leifson

Changement de couleur du milieu de hugh leifson dans les deux tubes (aérobie et anaérobie), reflète que la voie de dégradation de glucose et de type fermentaire [Fig.34].



Figure33 : Milieu hugh leifson avant la réaction Figure 34 :Résultat de hugh leifson après (personnelle., 2016).24h (Personnelle., 2016).

5. Activité amyloлитique

Après l'effet e lugol, résultat positive se traduit par un halo blanc alors que la boîte preenne la couleur violet et résultat négative, par couleur violet. [Fig.35].

Les souches positives (qui ont activité amyloлитique) sont : SA, SOL, MAI, EA, ZA.

Les souches négatives (qui n'ont pas activité amyloлитique) sont : JELLY, BOU1,



Figure 35 : L'activité d'amylolitique (personnelle., 2016)

6. Teste d'hypersensibilité au tabac

Après 4 jours le résultat positif se manifeste par la présence d'un halo jaune sur les feuilles de la plante de tabac, qui reflète la nécrose. Tandis que résultats négatives, les feuilles restent intactes.

Pour le témoin, les feuilles sont intactes.



Figure 36 : Tabac sain (personnelle.,2016)



Figure 37 : La souche JELLY (personnelle.,2016)

La souche JELLY : pas de nécrose donc c'est une souche qui n'est pas pathogène, donc saprophyte.

Les souches SOL, SA, MS, ZA, EA, M3, M2, BouII, MAI,D2, k,04, PT,JELLY, BouI, DAS, présence d'un halo jaune, donc du nécrose sur les feuilles, ce qui reflète que ces souches sont pathogènes (c'est-à-dire ont la capacité de provoquer une maladie une fois sont en contact avec des plantes hôtes et des conditions favorables).

On note qu'il y a une différence de diamètre de nécrose entre les souches, qui indique la différence de pathogénicité [Fig.38].

Une réaction positive met en évidence le pouvoir pathogène de la bactérie.

Selon les résultats sur plante de tabac on constate que les souches SA, SOL, MAI ont un effet très remarquable par rapport aux autres souches.

Les souches ZA et EA ont presque même effet [Fig.38b].

Les résultats de différents tests de confirmation sont représentés dans le tableau suivant.

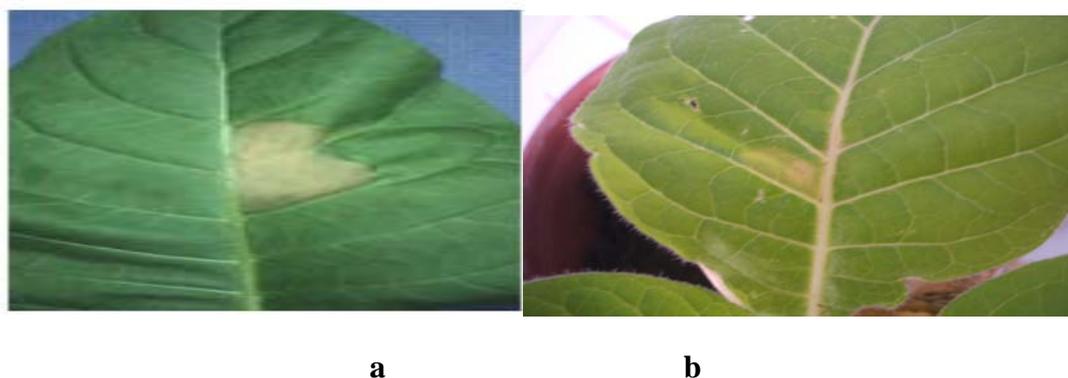


Figure38(a,b) : L'aspect de nécrose sur les feuilles (personnelle.,2016)

Tableau 04 : Résumé de résultat des souches d'E avec les tests de confirmation (personnelle., 2016).

| Les tests Les souches | Coloration de gram | Catalase | Oxydase | HL | Hypersensibilité de tabac (HB de tabac) |
|--------------------------|-----------------------|----------|---------|--------------|---|
| EA | - | + | - | Fermentation | + |
| SA | - | + | - | Fermentation | + |
| SOL | - | + | - | Fermentation | + |
| ZIDANE | - | + | - | Fermentation | + |
| K | - | + | - | Fermentation | - |
| MAI | - | + | - | Fermentation | + |
| M3 | - | + | - | Fermentation | + |
| JELLY | - | + | - | Fermentation | - |
| MI | - | + | - | Fermentation | + |

7. Test de virulence

Après 48h et incubation à 28°C, on voit la présence de pourriture dans les tranches de pomme de terre. En enlevant la pourriture et faire une pesé pour calculer la perte de poids, les résultats obtenue sont représenter dans des tableaux [voir annexe2].

L'analyse statistique est réalisée avec le test de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher avec le logiciel SPSS (Version 20). Pour chaque essai, une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur est effectuée ($\alpha=0,05$). Le premier facteur correspondà la répétition de l'essai. Le deuxième facteur est l'objet de l'étude, c'est-à-dire l'isolat d'*Erwinia* pour l'essai A (comparaison le degré de la virulence des souches d'*Erwinia* sur la même variété) et la

variété pour l'essai B (comparaison d'une souche d'*Erwinia* sur différentes variété). Enfin, l'interaction entre les deux facteurs est également testée.

Les résultats sont représentés dans les tableaux [voir annexe2].

Pour les résultats sur la variété de Desire, sont représenté dans la représentation graphique [fig.39] on constate qu'i y a une différence significative entre les souches.

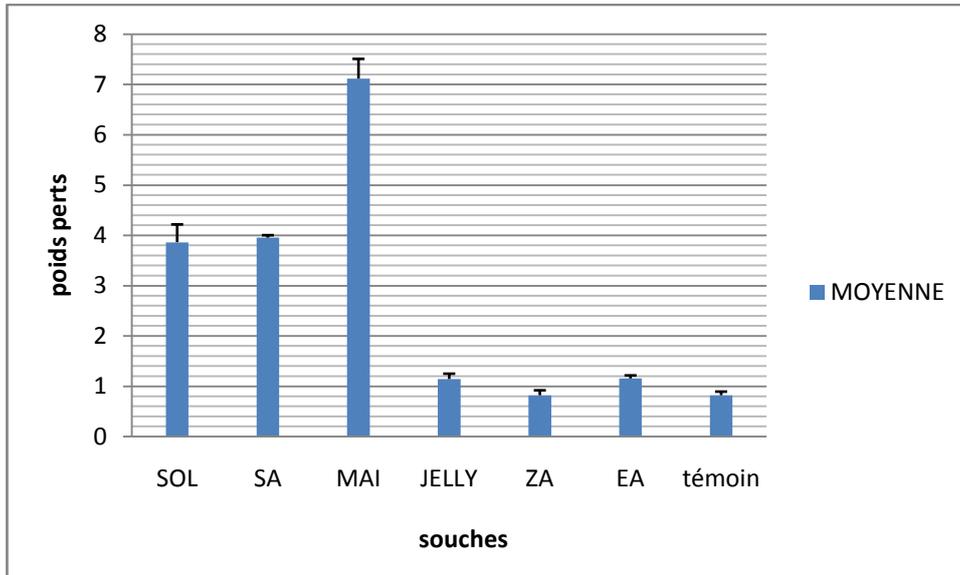


Figure39 : effet des souches d'*Erwinia* sur la variété de DESIRE

Tableau05 :Résultat de calcul pour la variété de DESIRE

| ANOVA à 1 facteur | | | | | |
|-------------------|------------------|--------|--------------------|---------|---------------|
| perte_poids | Somme des carrés | ddl | Moyenne des carrés | F | Signification |
| souche | 102.946 | 6.000 | 17.158 | 386.474 | 0.000 |
| Var.Intra | 0.622 | 14.000 | 0.044 | | |
| Total | 103.567 | 20.000 | | | |

Il ya une différence hautement significative entre les souches $p < 0,001$; $p = 0,000$

On peut deviser les résultats en deux groupe :

0Groupe I qui ont un effet et qui sont SA, SOL et MAI.

Groupe II qui n'a pas un effet en comparant ses résultats avec celle du témoin (JELLY, EA, ZA).

A l'intérieure du groupe I on voit une différence entre les souches : la souche MAI a un grand effet par rapport au SA et SOL.

Résultats sur la variété Condor :

Pour les résultats sur la variété de Condor, sont représenté dans la représentation graphique [fig40]. On constate qu'i y a une différence significative entre les souches.

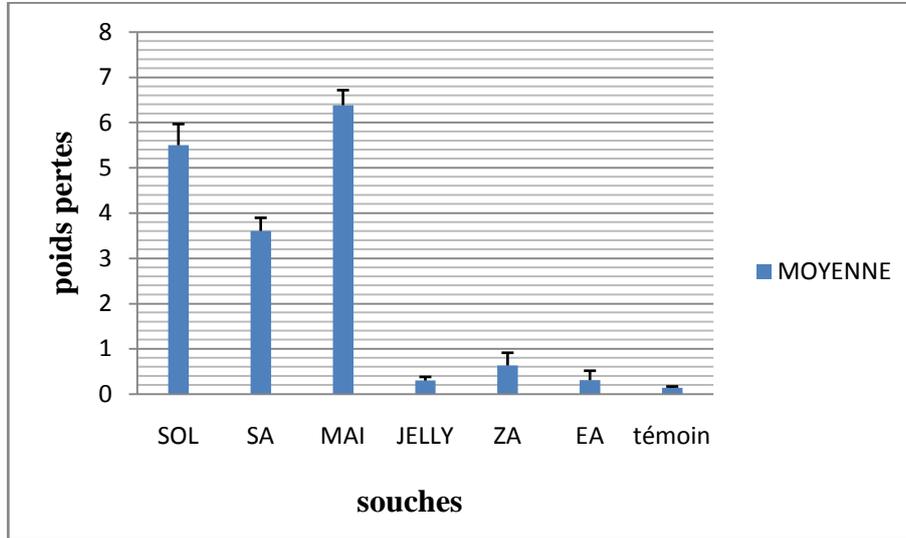


Figure40 :Effet des souches d'*Erwinia* sur la variété de CONDOR

Tableau06 :Résultat de calcule pour la variétéde CONDOR

| ANOVA à 1 facteur | | | | | |
|-------------------|------------------|--------|--------------------|---------|---------------|
| perte_poids | | | | | |
| | Somme des carrés | ddl | Moyenne des carrés | F | Signification |
| souche | 131.817 | 6.000 | 21.970 | 283.008 | 0.000 |
| Var.Intra | 1.087 | 14.000 | 0.078 | | |
| Total | 132.904 | 20.000 | | | |

Il ya une différence hautement significative entre les souches $p < 0,001$; $p = 0,000$

On peut deviser les résultats en deux groupe :

Groupe I qui ont un effet et qui sont SA, SOL et MAI.

Groupe II qui n'a pas un effet en comparant ses résultats avec celle du témoin (JELLY, EA, ZA).

A l'intérieure du groupe I on voit une différence entre les souches : la souche MAI a un grand effet par rapport au SA qui a plus d'effet que SOL qui vienne en troisième position.

Résultats sur la variété LAURA :

Pour les résultats sur la variété de Laura, sont représenté dans la représentation graphique [Fig.41]. on constate qu'i y a une différence significative entre les souches.

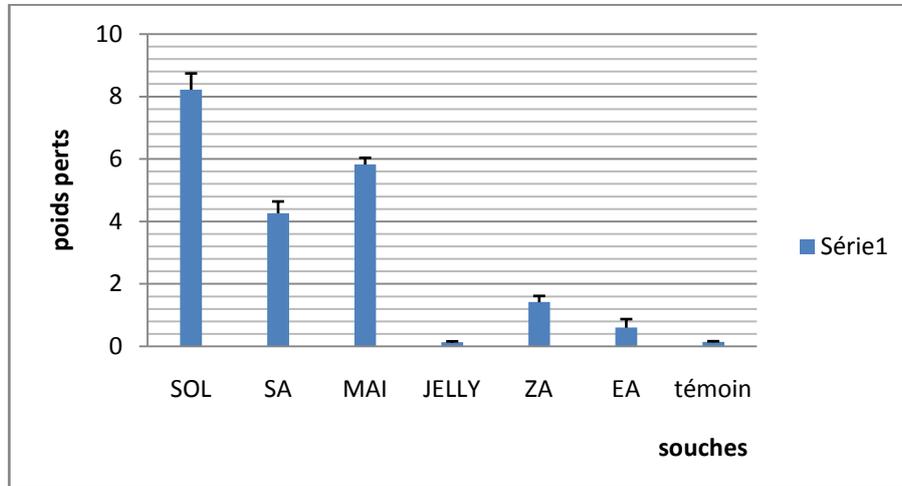


Figure41 :Effet des souches d'*Erwinia* sur la variété de LAURA.

Tableau07 : Résultat de calcule pour la variété de LAURA

| ANOVA à 1 facteur | | | | | |
|----------------------|------------------|--------|--------------------|---------|---------------|
| perte_poids | | | | | |
| | Somme des carrés | ddl | Moyenne des carrés | F | Signification |
| Inter-groupes | 184.265 | 6.000 | 30.711 | 368.129 | 0.000 |
| Intra-groupes | 1.168 | 14.000 | 0.083 | | |
| Total | 185.433 | 20.000 | | | |

Il ya une différence hautement significative entre les souches $p < 0,001$; $p = 0,000$

On peut deviser les résultats en deux groupe :

Groupe I, qui ont un effet et qui sont SA, SOL et MAI.

Groupe II, qui n'a pas un effet en comparant ses résultats avec celle du témoin (JELLY, EA, ZA).

A l'intérieure du groupe I on voit une différence entre les souches : la souche SOL a un grand effet par rapport au MAI qui a plus d'effet que SA qui vienne en troisième position et qui a le moins effet de virulence par rapport aux autres souches du même groupe.

Résultats sur la variété MARGARITA :

Pour les résultats sur la variété de MARGARITA, sont représenté dans la représentation graphique [Fig42].On constate qu’i y a une différence significative entre les souches

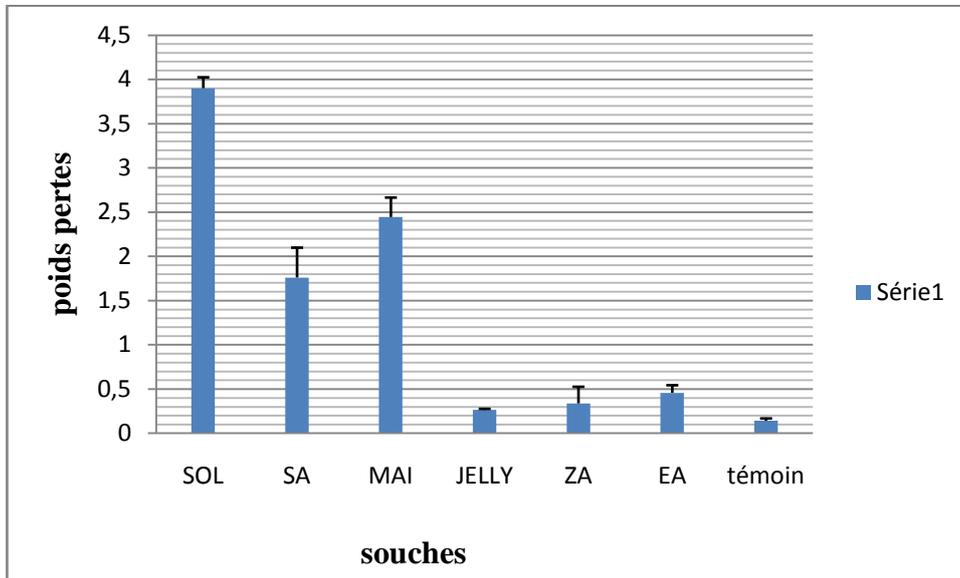


Figure42 : Effet des souches d’Erwinia sur la variété de MARGARITA.

Tableau08 : Résultat de calcule pour la variété deMARGARITA

| ANOVA à 1 facteur | | | | | |
|-------------------|------------------|--------|--------------------|---------|---------------|
| perte_poids | | | | | |
| | Somme des carrés | ddl | Moyenne des carrés | F | Signification |
| Souche | 36.998 | 6.000 | 6.166 | 195.726 | 0.000 |
| Var.Intra | 0.441 | 14.000 | 0.032 | | |
| Total | 37.439 | 20.000 | | | |

Il ya une différence hautement significative entre les souches $p < 0,001$; $p = 0,000$

On peut deviser les résultats en deux groupe :

Groupe I, qui ont un effet et qui sont SA, SOL et MAI.

Groupe II, qui n’a pas un effet en comparant ses résultats avec celle du témoin (JELLY, EA, ZA).

A l’intérieure du groupe I on voit une différence entre les souches : la souche SOL a un grand effet par rapport au MAI qui a effet moyen et plus que SA qui vienne en troisième position et qui a le moins effet de virulence par rapport aux autres souches du même groupe.

Résultats sur la variété BELLAROSA :

Pour les résultats sur la variété de BELLAROSA, sont représenté dans la représentation graphique [Fig.43].On constate qu'i y a une différence significative entre les souches.

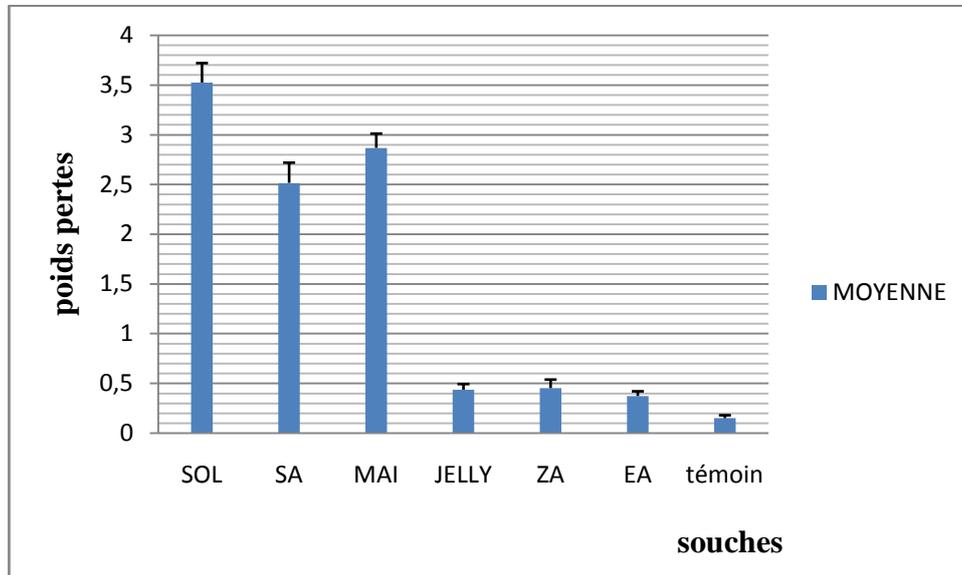


Figure43 :Effet des souches d'*Erwinia* sur la variété de BELLAROSA.

Tableau09 : Résultat de calcule pour la variété deBELLAROSA

| ANOVA à 1 facteur | | | | | |
|----------------------|------------------|--------|--------------------|---------|---------------|
| perte poids | | | | | |
| | Somme des carrés | ddl | Moyenne des carrés | F | Signification |
| Inter-groupes | 37.224 | 6.000 | 6.204 | 382.621 | 0.000 |
| Intra-groupes | 0.227 | 14.000 | 0.016 | | |
| Total | 37.451 | 20.000 | | | |

Il ya une différence hautement significative entre les souches $p < 0,001$; $p = 0,000$

On peut deviser les résultats en deux groupe :

Groupe I, qui ont un effet et qui sont SA, SOL et MAI.

Groupe II, qui n'a pas un effet en comparant ses résultats avec celle du témoin (JELLY, EA, ZA).

A l'intérieure du groupe I on voit une différence entre les souches : la souche SOL a un grand effet par rapport au MAI et SA qui viennent en 2^{ème} position avec un effet presque semblable.

Résultats sur la variété SPUNTA :

Pour les résultats sur la variété de SPUNTA, sont représentés dans la représentation graphique [Fig.44]. On constate qu'il y a une différence significative entre les souches.

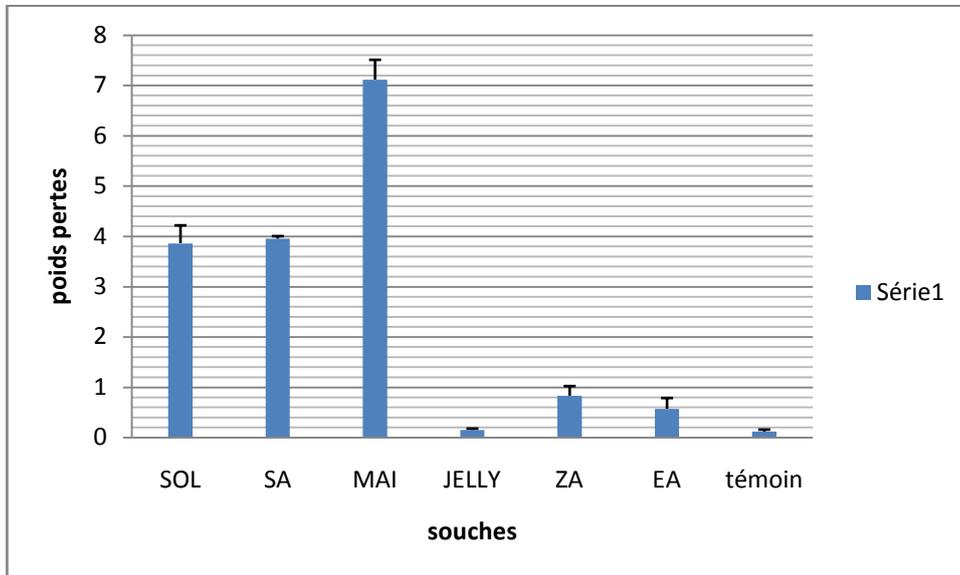


Figure44 : Effet des souches d'*Erwinia* sur la variété de SPUNTA.

Tableau10 : Résultat de calcul pour la variété de SPUNTA.

| ANOVA à 1 facteur | | | | | |
|-------------------|------------------|--------|--------------------|---------|---------------|
| Perte poids | | | | | |
| | Somme des carrés | ddl | Moyenne des carrés | F | Signification |
| Souche | 128.611 | 6.000 | 21.435 | 410.860 | 0.000 |
| Var.Intra | 0.730 | 14.000 | 0.052 | | |
| Total | 129.341 | 20.000 | | | |

Il ya une différence hautement significative entre les souches $p < 0,001$; $p = 0,000$

On peut deviser les résultats en deux groupe :

Groupe I, qui ont un effet et qui sont SA, SOL et MAI.

Groupe II, qui n'a pas un effet en comparant ses résultats avec celle du témoin (JELLY, EA, ZA).

A l'intérieure du groupe I on voit une différence entre les souches : la souche MAI a un grand effet par rapport au SOL et SA qui viennent en 2ème position avec un effet presque semblable.

Tableau11 :Résultat de calcule lavariable dépendante: perte poids

| Tests des effets inter-sujets | | | | | |
|----------------------------------|------------------------------|-----|--------------------|---------|-------|
| Variable dépendante: perte poids | | | | | |
| Source | Somme des carrés de type III | ddl | Moyenne des carrés | F | p |
| souche | 530.269 | 6 | 88.378 | 105.097 | 0.000 |
| variété | 45.072 | 5 | 9.014 | 10.720 | 0.000 |
| Erreur | 95.865 | 114 | 0.841 | | |

Il y a une différence hautement significative entre les souches $p < 0,001$; $p = 0,000$

Il y a une différence hautement significative entre les variétés $p < 0,001$; $p = 0,000$

Donc nous remarquons qu'il y a une différence entre les souches, c'est à dire au moins une des souches est différente des autres significativement de point de perte de poids. Pour voir quelles sont les souches qui diffèrent des autres et quelle est l'ampleur de cette différence; nous avons eu recours au test POST HOC en choisissant le test de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher avec le logiciel SPSS (Version 20.)

Les résultats de comparaison entre les souches par le test PST HOC sont regroupés en tableau **[voir annexe03]**.

Il y a une différence significative entre SOL et autre souches sauf MAI ou $P = 0.119$.

Il y a une différence significative entre SOL et autre souches, $p < 0,001$; $p = 0,000$.

Il y a une différence significative entre MAI et autre souches sauf SOL où $P = 0.119$.

Il y a une différence significative entre JELLY avec SOL, SA et MAI et pas avec EA, ZA et Témoin où $P > 0.05$.

Même chose pour EA, ZA et Témoin que JELLY.

Les résultats de comparaison entre les variétés par le test PST HOC sont regroupés en tableau **[voir annexe03]**.

Ce test nous montre la différence entre les variétés en détail :

- La variété Désiré a une différence significative avec Margaritta et Bellarosa, alors y a aucune différence avec les autres variétés (Condor, Spunta et Laura).
- La variété Condor a une différence significative avec Margaritta et Bellarosa, alors y a aucune différence avec les autres variétés (Désiré, Spunta et Laura).
- La variété Laura a une différence significative avec Margaritta, Spunta et Bellarosa, alors iln'y a aucune différence avec les autres variétés (Condor et Laura).

- La variété Margaritta a une différence significative avec toutes les variétés sauf Bellarosa, qui n'y a aucune différence où $P=0,591$.
- Même résultat pour Bellarosa que celle de Margaritta.
- La variété Spunta a une différence significative avec Margaritta, Laura et Bellarosa, alors y a aucune différence avec les autres variétés (Condor et Désiré).

- En comparant les résultats des différentes variétés on constate que les souches *JELLY*, *EA* et *ZA* n'ont pas effet sur les tranches de pomme de terre, qui s'explique de manière suivantes :

Concernant la souche *JELLY* et en comparant avec résultat de hypersensibilité de tabac, on trouve que *JELLY* est une souche saprophyte, donc elle ne peut pas causer des problèmes sur les tranches de pomme de terre.

Les souches *EA* et *ZA*, qui ont donné un effet sur plante de tabac mais pas sur les tranches de pomme de terre, mais en voyant l'origine de l'isolement et qui est plante de pommier, on constate que c'est des souches d'*Erwinia amylovora*, vue la spécificité et la pathogénicité de ces souches sur les pommiers, donc ne vont pas avoir effet sur pomme de terre.

Les souches *SOL*, *SA* et *MAI*, qui ont donné un effet sur plante de tabac et vue l'origine de l'isolement qui est la pomme de terre, qui nous a donné des *Erwinia carotovora* donc logiquement il y aura un effet sur les tranches de pomme de terre, avec degré qui se diffère d'une variété à l'autre et cela selon la résistance de cette dernière et aussi chaque souche a sa propre degré de pathogénicité (virulence), qui se diffère d'une souches à l'autre.

Conclusion

Conclusion

Les bactéries *pectinolytiques* telles que les *E* sont rendues responsables de nombreuses maladies de la pomme de terre et aussi *E* est une bactérie qui fait partie de la famille des entérobactéries, avec caractéristiques biochimiques : bactérie gram négative, oxydase négative, catalase positive et la dégradation des glucides par voie fermentative et l'activité amylolytique positive et mobile. Elle a plusieurs sous espèces, parmi ces sous espèces on trouve *E. c* et *E. a* la première cause la *pourriture molle* et la deuxième cause le *feu bactérien*.

L'effet des souches d'*Erwinia* sur la plante de tabac a révélé la présence des bactéries saprophytes et des bactéries pathogènes.

La virulence des souches sur tranches de pomme de terre a donné des bactéries qui sont virulente (*SOL, SA et MAI*) avec un degré de virulence qui se diffère d'une bactérie à l'autre et des bactéries non virulentes (*JELLY, EA et ZA*).

Perspective :

Les résultats de cette étude s'appuient sur des essais de laboratoire réalisés avec des tranches de tubercule. Par conséquent, nous ne pouvons généraliser ces conclusions au tubercule entier, mais seulement supposer que les résultats obtenus sont un reflet fidèle de la sensibilité variétale au développement de pourritures molles ainsi que de la virulence des isolats.

En passant à une étude dans *in vivo* et cela en testant les souches sur des variétés de pomme de terre planté dans le sol à la condition naturel et cela pour voir l'effet des conditions climatiques sur l'effet des souches.

Référence et Bibliographie

Références et bibliographies

- **Allefs J ; Vandooijeweert W ; Prummel W ; Keizer L. C. P. & Hoogendoorn J ., 1996.** Components of partial resistance to potato blackleg caused by pectolytic *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* and *E-chrysanthemii*. In: *Plant Pathology* **45**, 486–96.
- **Arvalis., 2008.**In Institut du végétal, Gestion de l'eau et irrigation de la pomme de terre, 48 p
- **Bain R.A ; Pérombelon M.C.M ; Tsor L., Nachmias A .,1990.** Blackleg development and tubé yield in relation to numbers of *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica* on seed potatoes. *Plant Pathology* **39**, 125–33.
- **Baz, M ; Lahbabi, D ; Samri, S ; Val, F ; Hamelin, G ; Madore, I ; Bouarab, K ;Beaulieu, C ; Ennaji, M ; and Barakate, M ., 2012.** Control of potato soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* and *Pectobacterium atrosepticum* by Moroccan actinobacteria isolates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **28**:303-
- **Bernhards.,1998.** Comportement De Trois Variétés De Pommes De Terre (*Spunta, Désirée Et Chubaek*) Entre Deux Milieux De Culture Substrat Et Hydroponique. Mémoire De Magister.Université aboubekr belkaïd – Tlemcen, p78.
- **Boufares Khaled.,2012.** Comportement De Trois Variétés De Pommes De Terre (*Spunta, Désirée Et Chubaek*) Entre Deux Milieux De Culture Substrat Et Hydroponique. Mémoire De Magister.Université aboubekr belkaïd – Tlemcen.
- **Burr TJ, Schroth MN.,1977.** Occurrence of soft rots *Erwinia* spp. in soil and plant material. *Phytopathology* ; **67** : 1382-7.
- **Camille Delarras.,2008.**Microbiologie pratique pour le laboratoire,paris, pp107-476.
- **Cartel.B., 1998.**Le feu bactérien, Environnement, P293-295.
- **Cazelles O. & Schwaerzel R .,1992.** Enquête sur les bactérioses causées par *Erwinia* dans les cultures de plants de pommes de terre en Suisse romande. *Revue suisse Agric* **24**, 215 8.
- **Ch. Ochsenbein et al., 1990.** Aide-mémoir. Plants de pommes de terre .Minimiser le risque de jambe noire et de pourriture molleFédération suisse des producteurs de semences Schweizerischer Saatgutproduzenten-Verband Le Château – Rte de Portalban 40 – 1567 Delley.

- **Chaumeton et al., 2006.** Comportement De Trois Variétés De Pommes De Terre (*Spunta*, *Désirée* Et *Chubaek*) Entre Deux Milieux De Culture Substrat Et Hydroponique. Mémoire De Magister.université aboubekr belkaïd – Tlemcen, p78.
- **Charkowski A.O., 2006.** The Soft Rot *Erwinia*. In: Samuel S. Gnanamanickam (Ed.). *Plant- Associated Bacteria*, pp. 423-505.
- **Christ, B.J., 1989.** Effect of planting date and inoculum level on incidence and severity of powdery sc ab on potato. *Potato Res.* 32:419-424.
- **Czajkowski R ; de Boer W.J ;van Veen J.A ; van der Wolf J.M., 2012.** Characterization of bacterial isolates from rotting potato tubé tissue showing antagonism to *Dickeya* sp. biovar 3 *in vitro* and in planta. *Plant Pathology* **61**, 169-182.
- **Czajkowski R ; Pérombelon M.C.M ; van Veen J.A ; van der Wolf J.M., 2011.** Control of blackleg and tubé soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: à review.*Plant Pathology* **60**, 999-1013.
- **David Gerardin1., Jérémie Rouffiange2, et al.** Université de Haute Alsace, 68000 Colmar, France2Institut Supérieur Industriel agronomique Huy-Gembloux, 4500 Huy, Belgique, Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, 1260 Nyon, Suisse.
- **De Boer S.H., 2002.** Relative incidence of *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica* in stolon end and peridermal tissue of potato tubers in Canada. *Plant Disease* **86**, 960-4.
- **De Boer S.H ; McNaughton M.E., 1987a.** Monoclonal antibodies to the lipopolysaccharide of *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica* serogroup I. *Phytopathology* **77**, 828-832.
- **De Boer S.H ; Verdonck L ; Vrugink H ; Harju P ; Bang H.O ; De Ley J., 1987b.** Serological and biochemical variation among potato strains of *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica* and their taxonomic relationship to other *Erwinia carotovora* strains.*Journal of Applied Bacteriology* **63**, 487-95.
- **De Boer S.H ; Ward L.J., 1995.** PCR detection of *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica* associated with potato tissue. *Phytopathology* **85**, 854-858.
- **De Boer S.H.** Prospects for control of potato diseases caused by pectolytic erwinias. In :Zehnder GW ; Powelson ML ; Jansson RK ; Raman KV., 1994 eds. *Advances in potato pest biology and management*. Saint-Paul, Minnesota : APS Press : 136-48.

- **De Mendonça M ; Stanghellini M.E ., 1979.** Endemic and soilborne nature of *Erwinia carotovora* var. atroseptica, a pathogen of mature sugar beets. *Phytopathology* **69**, 1096-9.
- **Dickey, R.S ; C.H. Zumoff et J.K. Uyemoto ., 1984.** *Erwinia chrysanthemi*: serological relationships among strains from several hosts. *Phytopathology* **74**: 1388-1394.
- **Dupuis B ; Schaerer S ; Gilliland H. & Cazelles O ., 2010.** The Dickeya and Pectobacterium situation in Switzerland. Proceedings of the Dickeya Workshop, 2010. Emmeloord, The Netherlands.
- **Dupuis B ; Michelante D ; Garcia-Albeniz N ; Nimal C ., 2005.** Le point sur les infections par *Erwinia* spp en plant de pommes de terre. *Journée d'étude Pomme de terre – CRAWGembloux – 23 novembre*, pp. 34-40.
- **Fox R. T. V ; J. G.M anners, et A. Myers ., 1972.** Ultrastructure of tissue disintegration and host reaction in potato tubers infected by *Erwinia carotovora* var.
- **FREDON PACA ., 2010.** LE FEU BACTERIEN, ministère de l'agriculture et de la pêche.
- **Gharsi N ; Sekefali H ., 2015.** Effet antagoniste des souches isolées à partir des sols sur *erwinia* spp, Mémoire de master, Université de 8 mai 1945 Guelma, p 58.
- **Hauben L ; Van Gusegem F ; Swings J ., 2005.** Family I. Genus XXIV. *Pectobacterium* Waldee 1945, 469AL emend. Hauben, Moore, Vauterin, Steenackers, Mergaert, Verdonck and Swings 1999a, 1. In: George M. Garrity (eds). Second Edition. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. The Proteobacteria vol 2. The Gammaproteobacteria, part B, pp. 721-730.
- **Haynes K. G ; Potts M. J. E. & Goth R. W., 1997.** Evaluation of the reliability of determining soft rot resistance in potatoes by the tuber slice method. *American Potato Journal* **74**, 265–75.
- **Hawkes ., 1990.** Comportement De Trois Variétés De Pommes De Terre (*Spunta, Désirée Et Chubaek*) Entre Deux Milieux De Culture Substrat Et Hydroponique. Mémoire De Magister. Université aboubekr belkaïd – Tlemcen, p78.
- **Howard, R.J ; Garland, J.A ; and Seaman, W.L., 1994.** Diseases and pests of vegetable crops in Canada. An illustrated compendium. The Canadian

Phytopathological Society and Entomological Society of Canada, Ottawa.e-book, 1994:1-554.

- **Hélias Valérien.,2008.** Synthèse :*Pectobacterium* spp. Et *Dickeya* spp.De la pomme de terre :nouvelle nomenclature pour *Erwinia* spp.symptomatologie, épidémiologie et prophylaxie.Fédération nationale des producteurs de plants de pomme de terre (FNPPPT)/Comité national interprofessionnel de la pomme de terre (CNIPT)/Groupement national interprofessionnel des semences et plants (GNIS)/Institut national de la recherche agronomique, Domaine de la Motte 35653 Le Rheu France valerie.helias@rennes.inra.fr.Cahiers Agricultures vol. 17, n° 4, juillet-août 2008, P 351-354.
- **Hélias V ; Andrivon D ; Jouan B ., 2000a.** 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.
- **Hélias V ; Andrivon D ; Jouan B ., 2000b.** Internal colonisation pathways of potato plants by *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica*. *Plant Pathology* 49, 33-42.
- **INRA Maroc ., 2007.** La protection des plantes des stratégies de lutte intégrées. Les maladies bactériennes de La pomme de terre, INRA, 2007:1-47.
- **Ishimaru, C ; and E.J. KLOS ., 1984.** New medium for detecting *Erwinia amylovora* and its use in epidemiological studies. *Phytopathology* vol. 74 : 1342-1345.
- **Janse JD ; Ruissen MA.,1988.** Characterization and classification of *Erwinia chrysanthemi* strains from several hosts in The Netherlands. *Phytopathology*; 78 : 800-8.
- **King, E.O ; M.K. Ward et D.E. Raney.,1954.** Two simple média for the démonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin.Med.* 44: 301-307.
- **Kamysz W ; Krolicka A ; Bogucka K ; Ossowski T ; Lukasiak J ; Lojkowska E., 2005.** Antibacterial activity of synthetic peptides against plant pathogenic *Pectobacterium* species. *Journal of Phytopathology* **153**, 313-7.
- **Lelliott, r.a ; et r.s. dickey ., 1984.** Genus VII. *Erwinia* Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumweide, Rogers and Smith 1920, 209. Pages 469-476. In Noel R. Krieg and John G. Holt (eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, Md.
- **Lelliott r.a ; et d.e. stead ., 1987.** Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. *Methods in Plant Pathology* Vol 2. pp. 182, 193 et 194.

- **LNPV : Laboratoire Nationale de la Protection Végétaux, mars.,2005.** MéthodeB/05/07 version a ,la mise en evidence D'Erwinia à partir de végétale symptomatique par isolement et identification de la souche.Ministère de l'agriculture, de l'alimentation ,de la pêche et de la ruralité .Direction générale de l'alimentation .sous-direction de la qualité de la protection des végétaux. Sensibilité de la pomme de terre à la pourriture molle provoquée par *Dickeya* spp.unité bactériologie, 7 rue Jean Dixméras 49044 ANGERS cedex 01.
- **Mohamed Faize ., 2000.** Modulation différentielle de l'interaction compatible *Erwinia amylovora*-pommier par des mutants *hrp* de régulation et de sécrétion de l'agent pathogène, Diplôme de doctorat, Université Claude Bernarde-lyon 1, pp9-10.
- **Mohamed kettani halabi ., 2012.** Thèse de Doctorat : Etude de la diversité de *Pectobacterium spp* et des effets induits par les lipopolysaccharides chez les plantes. Agricultural sciences, université paris-sud – ufr des sciences école doctorale sciences du végétale ed 145 université Hassan ii Mohammedia – Casablanca, Spécialité : Biologie. HAL Id: tel-01070631, P219.
- **MOH Ahoussi Augustin.,2012.** Etude des facteurs écologiques influençant la croissance et le développement des *Pectobacterium spp*. Infectant les tubercules de pomme de terre. Thèse de doctorat, Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, Belgique. 113 p.
- **McCarter-Zorner NJ ; Harrison MD ; Graham DC, et al ., 1985.**Soft rot *Erwinia* bacteria in the rhizosphere of weeds and crop plants in Colorado, United States and Scotland. *J Appl Bacteriol* ; 59 : 357-68.
- **McCarter-Zorner NJ ; Graham DC ; Harrison MD, et al.,1982.**The presence of *Erwinia carotovora* in surfacewater. *Am Potato J* 1982 ; 59 : 478.
- **Moreau, M ; Orange, N ; and Brisset, J.L ., 2005.** Application of electric discharges at atmospheric pressure and ambient temperature for bio-decontamination. *Ozone-Science & Engineering* 27:469-473.
- **Neeno-Eckwall, E.C ; Kinkel, L.L ; and Schottel, J.L., 2001.** Competition and antibiosis in the biological control of potato scab. *Canadian Journal of Microbiology* 47:332-340.
- **Nielsen, LW ., 1978.***Erwinia* species in the lenticels of certified seed potatoes.*AmPotato J*; 55 :671-6.

- **Pasco, C., 2005.** Comportement variétal de pomme de terre vis-à-vis des pourritures molles et de la jambe noire : test au champ et en conditions contrôlées. Cahier des Techniques de l'INRA Bulletin de Liaison Interne (spécial), 4:177-181.
- **Palacio-Bielsa, A ; Cambra, M. A ;& López, M. M.,2006.** Characterization of potato isolates of *Dickeya chrysanthemi* in Spain by a microtitre system for bioassay determination. The Annals of Applied Biology, 148, 157–164. doi:10.1111/j.1744-7348.2006.00045.x
- **Pérombelon MCM., 1973.** Sites of contamination and numbers of *Erwinia carotovora* present in stored seed potato stocks in Scotland. *Ann Appl Biol*; 74 : 59-65.
- **-Pérombelon MCM.,1992.** Diversity in erwinias as plant pathogens. In : INRA, ed. *Plant Pathogenic Bacteria, Versailles.*: 113-28.
- **Pérombelon MCM.,2000.** Blackleg risk potential of seed potatoes determined by quantification of tubé contamination by the causal agent and *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica*: a critical review. *OEPP/EPPO Bull* ; 30 : 413-20.
- **Pérombelon MCM ; Kelman A.,1980.** Ecology of the soft rot erwinias. *Annu Rev Phytopathol* ; 18 : 361-87.
- **Pérombelon MCM ; Kelman A., 1987.** Blackleg and other potato diseases caused by soft rot erwinias; proposal for revision of terminology. *Plant Dis* ; 71 : 283-5.
- **Pérombelon MCM ; Hyman LJ.,1987.** Frequency of *Erwinia carotovora* in the Alyth Burn in eastern Scotland and the sources of the bacterium. *J Appl Bacteriol* ; 63 : 281-91.
- **Rousselle et al.,1992.** Comportement De Trois Variétés De Pommes De Terre (*Spunta, Désirée Et Chubaek*) Entre Deux Milieux De Culture Substrat Et Hydroponique. Mémoire De Magister. Université aboubekr belkaïd – Tlemcen, p 78.
- **Rousselle P ; Robert Y. & Crosnier J. C., 1996.** La pomme de terre. INRA, Paris.
- **Samson R ; Poutier F ; Saily M ; Jouan B.,1987.** Caractérisation des *Erwinia chrysanthemi* isolées de *Solanum tuberosum* et d'autres plantes hôtes selon les biovars et sérogroupes. *OEPP/EPPO Bull*; 17 : 11-6.
- **Samson R ; Legendre JB ; Christen R ; et al.,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 zeae* sp. nov. *Int J Evol Microbiol*; 55 :1415-27.

- **Sandkvist, M., 2001.** Type II Secretion and Pathogenesis. *Infection and Immunity* 69:3523-3535.
- **Stanghellini ME ; Meneley JC.,1975.** Identification of soft rot *Erwinia* associated with blackleg of potato in Arizona. *Phytopathology* ; 65 : 86-7.
- **Stevenson W ; Loria R ; Franc GD & Weingartner DP., 2001.** Compendium of potato diseases. American Phytopathological Society, St-Paul, Minnesota (US).
- **Soltner., 1988.** Comportement De Trois Variétés De Pommes De Terre (*Spunta, Désirée Et Chubaek*) Entre Deux Milieux De Culture Substrat Et Hydroponique. Mémoire De Magister. Université aboubekr belkaïd – Tlemcen, p 78.
- **Thomson, S.V ; Hildebrand, D.C ; and Schroth, M.N., 1981.** Identification and nutritional differentiation of the *Erwinia* sugarbeet pathogen from members of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology*, 10:1037-1042.
- **Toth I. K ; Van Der Wolf J. M ; Saddler G ; et al., 2011.** *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology* **60**, 385–99
- **Vreugdenhil et al., 2007** Comportement De Trois Variétés De Pommes De Terre (*Spunta, Désirée Et Chubaek*) Entre Deux Milieux De Culture Substrat Et Hydroponique. Mémoire De Magister. Université aboubekr belkaïd – Tlemcen, p 78.
- **Yaganza E.S ; Rioux D ; Simard M ; Arul J ; Tweddell R.J., 2004.** Ultrastructural alterations of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* caused by treatment with aluminum chloride and sodium metabisulfite. *Applied and Environmental Microbiology* **70**, 6800- 8.
- **Yaganza E.S.,2005.** Utilisation post-récolte de sels organiques et inorganiques pour lutter contre la pourriture molle de la pomme de terre : base physico-chimique. Philosophiae doctor (Ph.D.): Université Laval (Québec, Canada). 175p.

-Site d'internet :

- (1) (file:///D:/Nouveau%20dossier%20ER/la%20pourriture%20molle%20de%20la%20pomme%20de%20terre.htm)
- (2) http://croqcentrevosges.free.fr/pdf/feu_bilogie.pdf
- (3) file:///D:/Documents/Jambe%20noire%20et%20pourriture%20molle%20-.htm
- (4) file:///D:/Documents/%20Pectobacterium%20A0spp.%20et%20Dickeya%20p..htm

Liste d'annexes

L'annexe 1 :

1. Le milieu de culture :

Tous les milieux de culture utilisés sont autoclaves à 120 °c pendant 20 minutes.

➤ Milieu de LPGA (extrait de levure peptone Agar Glucose) :

| | |
|-------------------------|---------|
| Extrait de levure | 5 g |
| Peptone | 5 g |
| Gélose (Agar) | 20 g |
| Glucose..... | 10 g |
| Eau distillée | 1000 ml |
| PH final | 6.72 |

Test de Hugh et leifson :

| | |
|--|--------|
| Bacto Tryptone | 2 g |
| Phosphate de potassium dibasique | 0.3 g |
| Chlorure de sodium..... | 5 g |
| Bleu de bromothymol..... | 0.03 g |
| D(+) glucose..... | 10 g |
| Agar Bactériologique type A | 3 g |
| PH | 7.47 |

➤ Milieu de LPAA (extrait de levure peptone Agar amidon) :

| | |
|-------------------------|--------|
| Extrait de levure | 0.5 g |
| Peptone | 0.5 g |
| Gélose(Agar) | 2 g |
| Amidon | 1 g |
| Eau distillée..... | 100 ml |
| PH | 7.14 |

➤ Milieu de LPCA (extrait de levure peptone cellulose amidon) :

| | |
|-------------------------|--------|
| Extrait de levure | 0.5 g |
| Peptone | 0.5 g |
| Gélose(Agar) | 2 g |
| Cellulose | 1 g |
| Eau distillée..... | 100 ml |
| PH | 7.2 |

➤ Milieu de MH :

1 litre de milieu :

| | |
|----------------------------------|--------|
| Hydrolysât acide de caséine..... | 17.5 g |
| Infusion de viande | 2.0 g |
| Amidon soluble | 1.5 g |
| Agar agar bactériologique | 17.0 g |
| Eau distillée..... | 100 ml |
| PH | 7.4 |

Annexe : 02

| DESIRE E | | | |
|-----------------|---------------------|----------------|-----------------|
| souches | poids pertes | moyenne | ecartype |
| SOL | 3,69 | 3,863333333 | 0,3534591 |
| SOL | 3,63 | | |
| SOL | 4,27 | | |
| SA | 3,93 | 3,953333333 | 0,04932883 |
| SA | 3,92 | | |
| SA | 4,01 | | |
| MAI | 6,75 | 7,116666667 | 0,39208843 |
| MAI | 7,53 | | |
| MAI | 7,07 | | |
| JELLY | 1,04 | 1,143333333 | 0,10503968 |
| JELLY | 1,25 | | |
| JELLY | 1,14 | | |
| ZA | 0,9 | 0,82 | 0,09848858 |
| ZA | 0,85 | | |
| ZA | 0,71 | | |
| EA | 1,1 | 1,153333333 | 0,06110101 |
| EA | 1,14 | | |
| EA | 1,22 | | |
| témoin | 0,76 | 0,82 | 0,07211103 |
| témoin | 0,8 | | |
| témoin | 0,9 | | |

| CONDOR E | | | |
|-----------------|---------------------|----------------|-----------------|
| souches | poids pertes | MOYENNE | ecartype |
| SOL | 5,21 | 5,5 | 0,46808119 |
| SOL | 5,25 | | |
| SOL | 6,04 | | |
| SA | 3,45 | 3,606666667 | 0,28884829 |
| SA | 3,43 | | |
| SA | 3,94 | | |
| MAI | 6,75 | 6,383333333 | 0,33291641 |
| MAI | 6,3 | | |
| MAI | 6,1 | | |
| JELLY | 0,37 | 0,3 | 0,08185353 |
| JELLY | 0,32 | | |
| JELLY | 0,21 | | |
| ZA | 0,93 | 0,633333333 | 0,28148416 |
| ZA | 0,6 | | |
| ZA | 0,37 | | |
| EA | 0,19 | 0,31 | 0,2078461 |
| EA | 0,19 | | |
| EA | 0,55 | | |
| témoin | 0,14 | 0,14 | 0,03 |
| témoin | 0,17 | | |
| témoin | 0,11 | | |

| LAURA A | | | |
|----------------|---------------------|----------------|-----------------|
| souches | poids pertes | moyenne | ecartype |
| SOL | 7,82 | 8,216666667 | 0,52348193 |
| SOL | 8,81 | | |
| SOL | 8,02 | | |
| SA | 4,02 | 4,263333333 | 0,37898989 |
| SA | 4,7 | | |
| SA | 4,07 | | |
| MAI | 5,8 | 5,823333333 | 0,21594752 |
| MAI | 5,62 | | |
| MAI | 6,05 | | |
| JELLY | 0,17 | 0,133333333 | 0,0321455 |
| JELLY | 0,12 | | |
| JELLY | 0,11 | | |
| ZA | 1,45 | 1,416666667 | 0,20207259 |
| ZA | 1,6 | | |
| ZA | 1,2 | | |
| EA | 0,92 | 0,6 | 0,27730849 |
| EA | 0,45 | | |
| EA | 0,43 | | |
| témoin | 0,14 | 0,14 | 0,03 |
| témoin | 0,17 | | |
| témoin | 0,11 | | |

| MARGARITA E | | | |
|--------------------|---------------------|-----------------|-----------------|
| souches | poids pertes | mouyenne | ecartype |
| SOL | 3,81 | 3,9 | 0,12288206 |
| SOL | 3,85 | | |
| SOL | 4,04 | | |
| SA | 1,39 | 1,76 | 0,33719431 |
| SA | 2,05 | | |
| SA | 1,84 | | |
| MAI | 2,22 | 2,443333333 | 0,22007574 |
| MAI | 2,66 | | |
| MAI | 2,45 | | |
| JELLY | 0,27 | 0,263333333 | 0,01154701 |
| JELLY | 0,25 | | |
| JELLY | 0,27 | | |
| ZA | 0,3 | 0,336666667 | 0,18770544 |
| ZA | 0,17 | | |
| ZA | 0,54 | | |
| EA | 0,36 | 0,456666667 | 0,08504901 |
| EA | 0,52 | | |
| EA | 0,49 | | |
| témoin | 0,15 | 0,14 | 0,02645751 |
| témoin | 0,16 | | |
| témoin | 0,11 | | |

| BELLAROSA A | | | |
|--------------------|---------------------|----------------|-----------------|
| souches | poids pertes | moyenne | ecartype |
| SOL | 3,61 | 3,523333333 | 0,19502137 |
| SOL | 3,3 | | |
| SOL | 3,66 | | |
| SA | 2,7 | 2,515 | 0,20305993 |
| SA | 2,33 | | |
| SA | 2,66 | | |
| MAI | 2,81 | 2,866666667 | 0,14364308 |
| MAI | 2,76 | | |
| MAI | 3,03 | | |
| JELLY | 0,42 | 0,436666667 | 0,05686241 |
| JELLY | 0,39 | | |
| JELLY | 0,5 | | |
| ZA | 0,45 | 0,453333333 | 0,08504901 |
| ZA | 0,37 | | |
| ZA | 0,54 | | |
| EA | 0,39 | 0,373333333 | 0,04725816 |
| EA | 0,32 | | |
| EA | 0,41 | | |
| témoin | 0,12 | 0,15 | 0,03 |
| témoin | 0,15 | | |
| témoin | 0,18 | | |

| Spunta | | | |
|---------|--------------|-------------|------------|
| souches | poids pertes | moyenne | ecartype |
| SOL | 3,69 | 3,863333333 | 0,3534591 |
| SOL | 3,63 | | |
| SOL | 4,27 | | |
| SA | 3,93 | 3,953333333 | 0,04932883 |
| SA | 3,92 | | |
| SA | 4,01 | | |
| MAI | 6,75 | 7,116666667 | 0,39208843 |
| MAI | 7,53 | | |
| MAI | 7,07 | | |
| JELLY | 0,13 | 0,15 | 0,02645751 |
| JELLY | 0,14 | | |
| JELLY | 0,18 | | |
| ZA | 0,73 | 0,83 | 0,19078784 |
| ZA | 1,05 | | |
| ZA | 0,71 | | |
| EA | 0,5 | 0,57 | 0,21377558 |
| EA | 0,4 | | |
| EA | 0,81 | | |
| témoin | 0,16 | 0,12 | 0,03605551 |
| témoin | 0,09 | | |
| témoin | 0,11 | | |

Annexe : 03

| TEST POST HOC | | | | |
|---|--------|--|----------------------------|----------|
| Variable dépendante: perte_poids LSD | | | | |
| (I) souche | | Différence des moyennes (I-J) | Erreur standard | p |
| SOL | SA | 1,4611* | .30567 | 0.000 |
| | MAI | -.4806 | .30567 | 0.119 |
| | JELLY | 4,4067* | .30567 | 0.000 |
| | ZA | 4,0628* | .30567 | 0.000 |
| | EA | 4,2339* | .30567 | 0.000 |
| | TEMOIN | 4,5594* | .30567 | 0.000 |
| SA | SOL | -1,4611* | .30567 | 0.000 |
| | MAI | -1,9417* | .30567 | 0.000 |
| | JELLY | 2,9456* | .30567 | 0.000 |
| | ZA | 2,6017* | .30567 | 0.000 |
| | EA | 2,7728* | .30567 | 0.000 |
| | TEMOIN | 3,0983* | .30567 | 0.000 |
| MAI | SOL | .4806 | .30567 | 0.119 |
| | SA | 1,9417* | .30567 | 0.000 |
| | JELLY | 4,8872* | .30567 | 0.000 |
| | ZA | 4,5433* | .30567 | 0.000 |
| | EA | 4,7144* | .30567 | 0.000 |
| | TEMOIN | 5,0400* | .30567 | 0.000 |
| JELLY | SOL | -4,4067* | .30567 | 0.000 |
| | SA | -2,9456* | .30567 | 0.000 |
| | MAI | -4,8872* | .30567 | 0.000 |
| | ZA | -.3439 | .30567 | 0.263 |
| | EA | -.1728 | .30567 | 0.573 |
| | TEMOIN | .1528 | .30567 | 0.618 |
| ZA | SOL | -4,0628* | .30567 | 0.000 |
| | SA | -2,6017* | .30567 | 0.000 |
| | MAI | -4,5433* | .30567 | 0.000 |
| | JELLY | .3439 | .30567 | 0.263 |
| | EA | .1711 | .30567 | 0.577 |
| | TEMOIN | .4967 | .30567 | 0.107 |
| EA | SOL | -4,2339* | .30567 | 0.000 |
| | SA | -2,7728* | .30567 | 0.000 |
| | MAI | -4,7144* | .30567 | 0.000 |
| | JELLY | .1728 | .30567 | 0.573 |

| | | | | |
|---|-----------|--------------------------------------|------------------------|-------|
| | ZA | -.1711 | .30567 | 0.577 |
| | TEMOIN | .3256 | .30567 | 0.289 |
| TEMOIN | SOL | -4,5594* | .30567 | 0.000 |
| | SA | -3,0983* | .30567 | 0.000 |
| | MAI | -5,0400* | .30567 | 0.000 |
| | JELLY | -.1528 | .30567 | 0.618 |
| | ZA | -.4967 | .30567 | 0.107 |
| | EA | -.3256 | .30567 | 0.289 |
| Variable dépendante: perte_poids | | | | |
| LSD | | | | |
| (I) variété | | Différence des moyennes (I-J) | Erreur standard | |
| | | | | |
| DESIRE | CONDORE | .2852 | .28300 | 0.316 |
| | LAURA | -.2462 | .28300 | 0.386 |
| | MARGARITA | 1,3671* | .28300 | 0.000 |
| | BELLAROSA | 1,2148* | .28300 | 0.000 |
| | Spunta | .3238 | .28300 | 0.255 |
| CONDORE | DESIRE | -.2852 | .28300 | 0.316 |
| | LAURA | -.5314 | .28300 | 0.063 |
| | MARGARITA | 1,0819* | .28300 | 0.000 |
| | BELLAROSA | ,9295* | .28300 | 0.001 |
| | Spunta | .0386 | .28300 | 0.892 |
| LAURA | DESIRE | .2462 | .28300 | 0.386 |
| | | | | |
| | CONDORE | .5314 | .28300 | 0.063 |
| | MARGARITA | 1,6133* | .28300 | 0.000 |
| | BELLAROSA | 1,4610* | .28300 | 0.000 |
| | Spunta | ,5700* | .28300 | 0.046 |
| MARGARITA | DESIRE | -1,3671* | .28300 | 0.000 |
| | CONDORE | -1,0819* | .28300 | 0.000 |
| | LAURA | -1,6133* | .28300 | 0.000 |
| | BELLAROSA | -.1524 | .28300 | 0.591 |
| | Spunta | -1,0433* | .28300 | 0.000 |
| | | | | |
| BELLAROSA | DESIRE | -1,2148* | .28300 | 0.000 |
| | CONDORE | -,9295* | .28300 | 0.001 |
| | LAURA | -1,4610* | .28300 | 0.000 |

| | | | | |
|---------------|-----------|---------|--------|-------|
| | MARGARITA | .1524 | .28300 | 0.591 |
| | Spunta | -,8910* | .28300 | 0.002 |
| Spunta | DESIRE | -.3238 | .28300 | 0.255 |
| | CONDORE | -.0386 | .28300 | 0.892 |
| | LAURA | -,5700* | .28300 | 0.046 |
| | MARGARITA | 1,0433* | .28300 | 0.000 |
| | BELLAROSA | ,8910* | .28300 | 0.002 |