

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: Science de la nature et de la vie.
Spécialité/Option: Phytopathologie et phytopharmacie.
Département: écologie et génie de l'environnement.
Filière : Science agronomique.

Thème

Etude de l'activité antibactérienne des trois huiles essentielles sur *Erwinia carotovora* agent responsable de la pourriture molle de la pomme de terre (*Solanum tuberosum L*).

Présenté par :

- GUERGAH Bochra
- KAFI Salma

Devant la commission composée de :

Mme Laouar H.	Président	Université de Guelma
Mr. Benaada M.	Encadreur	Université de Guelma
Mr. Boumaaza B.	Co-encadreur	Université de Guelma
Mme. Allioui N.	Examineur	Université de Guelma
Mme Chahat N.	Membre	Université de Guelma
Mr. Zitouni A.	Membre	Université de Guelma
Mme Ouchtati N.	Membre	Université de Guelma

Juin 2017

Remerciements

Avant tout, nous avons remercié Dieu tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens de pouvoir accomplir ce modeste travail. Je remercie notre encadreur chargé de cours à l'université de Guelma Monsieur : Benada. M. et Co-encadreur Boumaaza B. Vous avez bien voulu me confier ce travail riche d'intérêt et me guider à chaque étape de sa réalisation. Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles.

Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute mes admirations. Nous saisis cette occasion pour vous exprimer ma profonde gratitude envers vous témoignant l'expression de mon respect.

Mes profondes remerciements vont aussi au Président Mme Laouar et examinateur Dr Allioui et les membres du jury. Vous nous faites l'honneur d'accepter avec une très grande amabilité de siéger parmi mes jurys. Veuillez accepter cette contribution chers professeurs, en gage de mon grand respect et ma profonde reconnaissance.

Ce travail a été effectué au laboratoire de l'université de Guelma. À cet effet, nous tenons à remercier vivement madame : Bahia. La technicienne du laboratoire. Nous n'oublions pas madame Houria et Asmaa.

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

Nous nous saurons finir sans remercier monsieur Boumaaza 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 Sarra benharoun.

Dédicace

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et du devoir accompli

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère RAZIKA qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger ...

A mon père CHERIF, école de mon enfance et berceau de ma culture. Qui est toujours un exemple pour moi, et qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les bonnes.

Que dieu les gardes et les protège.

A mon adorable sœur AMIRA pour son aide et ces conseils dans les moments difficiles durant la rédaction de ce mémoire

A mes sœurs NEDJWA et LAILA et mon frère FETHI

A toute la famille

A mon binôme KAFI SALMA

A ma meilleure amie Benharoun Sarra

A tous mes amies

A tous ceux qui me sont chères

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux que j'aime

A tous mes camarades de la promotion

Bochra

Dédicace

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et du devoir accompli

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère Chahla qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger ...

A mon père Abedallah, école de mon enfance et berceau de ma culture. Qui est toujours un exemple pour moi, et qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les bonnes.

Que dieu les gardes et les protège.

A mon adorable sœur Nawel pour son aide et ces conseils dans les moments difficiles durant la rédaction de ce mémoire

A mes sœurs Karima et Zeineb et mes grandes mères pour son soutien moral

A mon mari Abed Arrazak

A toute la famille

A mon binôme Guergah Bochra

A ma meilleure amie Benharoun Sarra

A tous mes amies

A tous ceux qui me sont chères

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux que j'aime

A tous mes camarades de la promotion

Salma

Tables des matières

Résumé	
Abstract	
ملخص.....	
Liste Des Tableaux	
Liste Des Figures	
Liste Des Abreviations	
Introduction	1
Partie Bibliographique	
Chapitre I : Généralité de la pomme de terre	
1- Historique et origine de la pomme de terre.....	3
2- Taxonomie	3
3- Description morphologique	4
4- Cycle de développement de la pomme de terre	5
4.1- Cycle sexué	5
4.2- Cycle végétatif	5
4.2.1- La dormance.....	5
4.2.2- La germination	5
4.2.3- La croissance.....	6
4.2.4- La tubérisation	6
4.2.5- Fructification.....	6
5- Importance économique.....	7
6- Les maladies de la pomme de terre.....	8
Chapitre II : L'agent pathogène	
1- Le genre <i>Erwinia</i>	10
1.1- Caractéristiques d' <i>Erwinia</i>	10
1.2- Taxinomie des <i>Pectobacterium</i> et <i>Dickeya spp.</i>	10
1.3- Différents espèces	11
1.3.1- <i>Erwinia amylovora</i>	11
1.3.2- <i>Erwinia chrysanthemi (Dickeya)</i>	11
1.3.3- <i>Erwinia carotovora (Pectobacterium carotovorum)</i>	12
1.3.3.1- Symptômes.....	14
a- Symptômes sur plant et sur tubercule	14
b-Symptômes sur les parties aériennes.....	14
c- Symptômes sur les tubercules	14
1.3.3.2 - Les moyennes de lutte contre <i>pectobactérium sp.</i>	15
Lutte prophylactique	16
La lutte physique	16
Lutte chimique.....	17
Lutte génétique.....	17
Lutte biologique	17

Chapitre III : Les huiles essentielles	
1- Définition	19
2- La composition chimique des H.Es	19
3- Propriétés des H.Es	19
4- Activité antibactérienne	20
5- Mode d'action des huiles essentielles	20
Partie Expérimentale	
Chapitre I : Matériels et Méthodes	
1- Matériels	22
1.1- Matériels biologique	22
1.2- Matériels végétaux	22
2- Méthodes	23
2.1- Préparation du milieu LPGA	23
2.2- Les tests de confirmation de l'identification des souches	23
2.3- Coloration de Gram	23
2.4- Les tests biochimiques	23
2.4.1- Teste d'oxydase	23
2.4.2- Teste catalase	24
2.4.3- Teste de Hugh Leifson	24
3- Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles	24
Chapitre II : Résultats et Discussion	
1- Tests microbiologiques	26
Coloration de gram	26
2- Tests biochimiques	27
2.1- Test d'oxydase	27
2.2- Teste catalase	27
2.3- Test de Hugh Leifson	28
3- Résultat du teste de l'activité antibactérienne des huiles essentielles	29
3.1- Activité antibactérienne d'huile de Tea tree sur les 4 souches testées	29
3.2- Activité antibactérienne de clou de girofle sur les 4 souches testées	30
3.3- Activité antibactérienne d'Eucalyptus commun sur les 4 souches testées	32
3.4- Classement des souches selon leurs sensibilités/resistances vis-à-vis d'H.E	33
Discussion	35
Conclusion	39
Références et Bibliographiques	
Annexes	

Résumé

L'activité antimicrobienne des trois huiles essentielles de Tea tree (*Melaleuca alternifolia*), clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et Eucalyptus commun (*Eucalyptus globulus*) a été réalisée *in vitro* sur quatre souches bactériennes parasites de pomme de terre ; BOU1, MAI, SA et SOL par la méthode de dilution et de diffusion de disque. Les trois huiles essentielles des plantes étudiées, présentent des activités inhibitrices significatives sur les quatre souches testées. Dans tous les cas, l'inhibition de l'activité antimicrobienne est liée à une inhibition de la croissance bactérienne notamment avec les concentrations élevées en huile essentielle. Le H.E d'*E.globulus* avec sa forte concentration (25%) montrent un grand pouvoir inhibiteur sur BOU1 par rapport aux autres HE testés. En outre, l'HE de Tea tree avec sa forte concentration (25%) s'est révélée la plus active sur MAI, SA et SOL par rapport aux autres HE testés. Les souches testées n'ont pas une sensibilité similaire *vis-à-vis* de l'HE. Parmi les souches testées, BOU1 à Gram+ apparaît comme la souche la plus sensible à toutes les huiles essentielles. A contrario, la souche SA à Gram- semble plus résistante *vis-à-vis* de l'HE d'*E.globulus*

Mots clés : Activité antimicrobienne, *E.globulus*, Huiles essentielles, *Melaleuca alternifolia*, pomme de terre, *pectobacterium*, *Syzygium aromaticum*, *Solanum tuberosum*.

Abstract

The antimicrobial activity of the three essential oils of Tea tree (*Melaleuca alternifolia*), clove (*Syzygium aromaticum*) and Common Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) was evaluated *in vitro* on four bacterial strains of potato; BOU1, MAI, SA and SOL by the disk diffusion and micro dilution method. The three essential oils of the plants showed significant inhibitory activities against four strains tested. In all cases, the inhibition of the antimicrobial activity is related to an inhibition of the bacterial growth in particular with the high concentrations of essential oil. *E.globulus* H.E with its high concentration (25%) show a great inhibitory power on BOU1 compared to the other EO tested. In addition, the Tea tree EO with its high concentration (25%) was the most active on MAI, SA and SOL compared to the other EO tested. The strains tested do not have a similar sensitivity to EO. Among the strains tested, BOU1 Gram+ appears to be the most sensitive strain to all essential oils. In contrast, strain SA Gram- appears to be more resistant to *E.globulus*.

Key words: Antimicrobial activity, *E.globulus*, Essential oils, *Melaleuca alternifolia*, *pectobacterium*, potato, *Syzygium aromaticum*, *Solanum tuberosum*.

ملخص

تم تنفيذ النشاط المضاد للبكتيريا لثلاثة زيوت أساسية، زيت شجرة الشاي (*Melaleuca alternifolia*) والقرنفل (*Syzygium aromaticum*) و الاوكالبتوس (*Eucalyptus globulus*) على أربع عينات طفيلية من بكتيريا المعزولة البطاطا (SA،MA1،SOL و BOU1) بطريقة التخفيف و انتشار الأقراص. الزيوت الأساسية الثلاث للنباتات المدروسة أظهرت النشاطات التثبيطية الفعالة على العينات المختبرة. في جميع الحالات، النشاط التثبيطي البكتيري مرتبط بتثبيط نمو البكتيري خصوصا عند التراكيز العالية للزيت الأساسي. الزيت الأساسي ل *E.globulus* عند التركيز 25% أظهر قدرته التثبيطية الفعالة على العينة BOU1 مقارنة بالزيوت الأساسية الأخرى المدروسة. أما زيت شجرة الشاي عند التركيز العالي 25% له قدرة تثبيطية جد عالية على كل من العينات SA،MA1،SOL. من بين العينات المدروسة أظهرت عينة BOU1 ذات Gram الموجب الأكثر حساسية مقارنة بالعينة SA ذات Gram السالب الأكثر مقاومة لزيوت *E.globulus*.

الكلمات المفتاحية: البطاطا، الزيوت الأساسية، النشاط المضادة للبكتيريا، *Melaleuca* ، *E.globulus* ، *Syzygium aromaticum* ، *Solanum tuberosum* ، *pectobacterium* ، *alternifolia*.

Liste Des Tableaux

Tableau 1: Les principales maladies de la pomme de terre.....	8
Tableau 2: Autres caractéristiques biochimiques et physiologiques d' <i>Erwinia carotovora</i>	13
Tableau 3 : Les origines des souches testées.....	22
Tableau 4: Les huiles essentielles testées.....	22
Tableau 5: Les caractères morphologiques étudiés pour l'identification bactérienne.....	26
Tableau 6: Les caractères biochimiques des souches étudiées.....	28
Tableau 7 : Classement des souches vis-à-vis d'HE de tea tree.....	33
Tableau 8 Classement des souches vis-à-vis d'HE de clou de girofle.....	33
Tableau 9 : Classement des souches vis-à-vis d'HE de E.globulus.....	33

Liste des Figures

Figure 1 : Plante pomme de terre.	3
Figure 2: Cycle végétatif de la pomme de terre.	7
Figure 3: Tubercules de pommes de terre infectées par Eca 709 après trois jours d'incubation à 24 °C et à 100% d'humidité relative..	15
Figure 4: Colonie bactérien <i>d'erwinia carotovora</i>	22
Figure 5 : Observation microscopique de Bacilus sp.d' après coloration de Gram	26
Figure 6 : Observation microscopique de pectobactérium sp. après coloration de Gram. 26	
Figure 7: Résultat de teste d'oxydase.....	27
Figure 8: Résultat de teste de catalase.....	27
Figure 9: Résultat de teste oxydase et catalase de deux souches (MA1 et BOU1).....	27
Figure 10: Milieu HL avant la réaction.....	28
Figure 11: Résultat d'HL après 24h.....	28
Figure 12: L'activité antibactérienne d'huile de tea tree sur les 4 souches testées	29
Figure 13: L'activité antibactérienne d'huile de clou de girofle sur les 4 souches testées . 30	
Figure 14: L'activité antibactérienne d'huile d'E. commun sur les 4 souches testées.....	32

Liste d'abréviation

A.alternata: *Alaternaria alternata*

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADP : Adénosine diphosphate

ARN : Acide ribonucléique

ATP: Adénosine triphosphate

° : Degré

°C: Degré Celsius

C: concentration

cm: centimètre

D. dadantii: *Dickeya dadantii*

E: *Erwinia*

Ea: *Erwinia amylovora*

Ec: *Erwinia carotovora*

Eca: *Erwinia carotovora atroseptica*.

Ecc: *Erwinia carotovora carotovorum*

Ech: *E.chrysanthemi*

E.globulus: *Eucalyptus globulus*

EPPO: European and Mediterranean Plant Protection Organization

FAO: Food Alimentation Organisation

F. solani: *Fusarium solani*

G- : Gram négatif

G+ : Gram positif

g l⁻¹ : gramme par litre

h : heure

ha : hectare

HEs : Huiles Essentielles

HL : Hugh et Leifson

H₂O: L'Eau

H₂O₂: L'Eau oxygénée

H₂S : sulfure d'hydrogène

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

KCN : Cyanure de potassium

Kg /an : kilogramme par année

LPGA: Levure Peptone Glucose Agar

LNPV : Laboratoire National de la Protection des Végétaux

MH : Mueller-Hinton

ml : millilitre

mm : millimètre

NaCl : Chlorure de sodium

OF: Oxydation et Fermentation

OGM : organisme Génétiquement Modifié

P : probabilité

Pa: *Pectobactérium atrosepticum*

Pc: *Pectobactérium carotovorum*

P.cc: *Pectobactérium carotovora crotovora*

pH : potentiel Hydrogène

QS : *Quorum sensing*

R. erythropolis: *Rhodococcue erythropolis*

Secs: secondes

S.tuberosum: *Solanum tuberosum*

Sp.: Sous espèce

Subsp.: *Sub-espèce*

UFC: unité formant colonie

µg : micro gramme

µl : micro litre

µm : micro mètre

%: Pour cent

Introduction

Introduction

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L) originaire de la Cordillère des Andes (Amérique du Sud) constitue la principale denrée alimentaire non céréalière et une ressource financière des populations à l'échelle mondiale. Le secteur de la pomme de terre est en pleine évolution et la production mondiale de la pomme de terre est estimée à 320711961 tonnes pour une surface de 19264021 ha durant l'année 2007 (FAO, 2008). L'augmentation de la demande liée à la consommation de la pomme de terre, ce qui a engendré une extension continue de cette culture ; Ainsi, la FAO a déclaré l'année 2008 comme étant l'année internationale de la pomme de terre. Ceci lui confère la cinquième plante cultivée après la canne à sucre, le maïs, le blé et le riz (FAO, 2008).

Cette culture a connu depuis quelques années un problème phytosanitaire majeur liées à des changements dans l'environnement comme la température, la sécheresse, la salinisation et au développement des maladies, telles que celles causées par la bactérie *Erwinia* conduisant non seulement à une diminution de rendement, mais aussi à d'importantes altérations qualitatives du produit.

Les bactéries du genre *Erwinia* peuvent être à l'origine de plusieurs maladies bactériennes de la pomme de terre, notamment la pourriture des tiges (Jambes noires) et la pourriture de tubercule (Pourriture molle). Les symptômes de jambe noire induits varient d'une pourriture humide à sèche des tiges selon les conditions climatiques par l'agent causal *Erwinia chrysanthemi*, alors que les tubercules peuvent être atteints de pourriture molle au champ et en conservation par l'agent causale *Erwinia carotovora* (Helias, 2008).

De récents travaux de taxonomie ont abouti à un remaniement de la nomenclature des agents pathogènes responsables de pourriture molle et jambe noire, qui appartiennent dorénavant à deux genres: *Pectobacterium carotovorum* (anciennement *Erwinia carotovora*) et *Dickeya* (anciennement *Erwinia chrysanthemi*) (Helias, 2008).

Dans le champ la pourriture molle peut également conduire à des pertes de récolte considérable. Au cours des dernières années, la propagation de la pourriture molle au stockage est peut être mieux contrôlée grâce à l'amélioration des techniques de stockage.

De nos jours la lutte chimique s'est révélée être une méthode de lutte performante et indispensable pour combattre les agents pathogènes (Leroux, 2003 ; Pezet et al., 2004). Ce sont essentiellement des pesticides de synthèse qui sont considérés comme l'arme la plus efficace, mais l'épandage massif et répété de certains de ces pesticides chimiques conduit à une pollution de notre environnement. Ainsi, des résidus sont retrouvés dans l'eau, dans les sols et dans les

produits finis. En effet, l'utilisation massive des pesticides a engendré l'apparition de souches résistantes, contre lesquelles les produits actuels sont devenus peu efficaces voire inefficaces.

En regard à ces inconvénients, il est important de trouver des solutions alternatives qui permettront de continuer à lutter contre les maladies tout en diminuant l'emploi de produits chimiques. Néanmoins à l'heure actuelle où les pressions économique, écologique, sanitaire et législative sont de plus en plus fortes, on comprend l'intérêt d'exploiter d'autres moyens de lutte. Ces moyens sont donc basés sur la rationalisation des pratiques agricoles (fumigation-stérilisation en horticulture, désinfection des graines, rotation des cultures, contrôle du vecteur de la maladie), par l'utilisation de variétés résistantes, des micro-organismes bénéfiques.

Une autre alternative à l'utilisation des pesticides consiste à utiliser des composés naturels et qui peuvent être essentiellement connues pour leur pouvoir antibactérienne (**Regnault-Roger, 2012 ; Kassi et al., 2014 ; Xue et al., 2014**).

L'objectif général de ce travail est d'étudier l'effet *in vitro* de l'activité antibactérienne des trois huiles essentielles sur la croissance d'*Erwinia carotovora* agent causal de la pourriture molle de la pomme terre (*Solanum tuberosum*).

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comportera deux parties. Dans une première partie, une revue bibliographique sera présentée sur la plante hôte, les huiles essentielles et la description de la bactérie pathogène utilisées dans ce travail. La deuxième partie du manuscrit présentera la démarche expérimentale. Elle s'articule selon trois sections distinctes : dans un premier chapitre, les matériels et les méthodes utilisés, notamment les huiles essentielles ainsi que les bactéries pathogènes. Les résultats obtenus, suivis de la discussion puis la conclusion. Les références bibliographiques constitueront la dernière partie du manuscrit.

Partie

Bibliographique

Chapitre I

Généralité de la pomme de terre.

1- Historique et origine de la pomme de terre

La pomme de terre, semble avoir pris naissance et avoir vécu à l'état spontané dans les rivages d'Ouest de l'Amérique latine. Sa consommation par la population indique date des temps immémoriaux. Elle fut introduite en Europe, vers la deuxième moitié du 16^{ème} siècle par les navigateurs au les pirates. Mais cultivée jusqu'à la fin du 18^{ème} siècle sur une faible étendue. Nous pouvons constater son expansion prodigieuse durant le 19^{ème} siècle en Europe, et c'est l'entrée de la pomme de terre dans l'alimentation humaine qui a éloigné pour toujours la famine qui sévissait périodiquement. La pomme de terre arriva en Algérie en 1956, rapporté par l'Amirouche (**Isnart, 1972**).

La pomme de terre, se reproduit soit de façon végétative par les tubercules, soit sexuellement par des graines. Elle peut être diploïde, tétraploïde (**Kenneth, 1966**). Les pommes de terre tétraploïdes sont les plus importantes et les plus répandues car ce sont les plus fertiles (**Figure 1**).

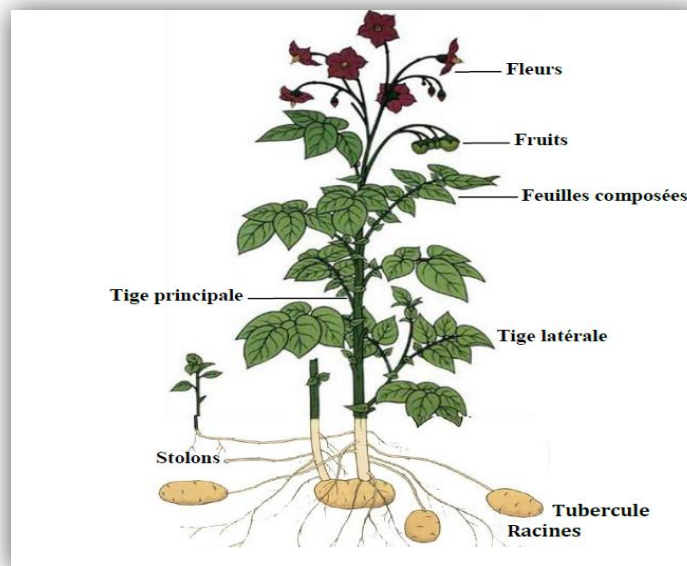


Figure 1 : morphologie de la pomme de terre (**Kenneth, 1966**).

2- Taxonomie

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) appartient à la famille des solanacées, genre *solanum* (**Quezel et Santa, 1963**), comprend 1000 espèces dont plus de 200 sont tubéreuses (**Dore et al., 2006 ; Hawkes, 1990**), on pensait autrefois que la pomme de terre était issue d'une plante sauvage unique, l'espèce *S.tuberosum*, dès 1929, les botanistes avaient montré que cette origine était plus complexe et que l'on retrouvait parmi les ancêtres des espèces de pomme de

terre cultivés, des plantes sauvages différentes (**Rousselle et al., 1992 ; Dore et al., 2006**). L'espèce cultivée dans nos régions, *Solanum tuberosum* L. subsp. *Tuberosum* comprend plusieurs centaines de variétés différant par la forme, la couleur, la texture ou encore par le contenu en amidon des tubercules.

Selon (**Boumlik, 1995**), la position systématique de la pomme de terre est la suivante :

- **Embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous classe** : Gamopétales
- **Ordre** : solanales
- **Famille** : Solanacées
- **Genre** : *Solanum*
- **Espèce** : *Solanum tuberosum* L

3- Description morphologique

La pomme de terre est une plante dicotylédone annuelle de la famille des solanacées dont l'espèce commune blanche cultivée a pour nom latin *Solanum tuberosum* (**Kleinkopf, 1983**).

L'appareil aérien est constitué de plusieurs tiges principales souvent ailées, la plante adoptant avec l'âge un port plus ou moins étalé (caractéristique variétale). Les feuilles sont alternes, composées imparipennées et comportent de 7 à 15 grandes folioles latérales primaires flanquées de folioles secondaires, des folioles intercalaires et de foliolules se distinguant par leur mode d'insertion sur le rachis (**Rousselle et al., 1996**). Les fleurs sont souvent stériles. La production de fruit (baie sphérique) est donc généralement rare.

L'appareil souterrain comprend le tubercule mère desséché, les stolons (tiges souterraines diagéotropes) portant éventuellement des tubercules fils dans leur région subapicale ainsi que des racines adventives (**Rousselle et al., 1996**). Il 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. Cultivé pour la consommation, pour la transformation ou comme semence, le tubercule représente environ 75 à 85 % de la matière sèche totale de la plante (**Rousselle et al., 1996**).

4- Cycle de développement de la pomme de terre

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 contenir 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 (**Soltner, 2005a**).

La germination est épigée et les cotylédons sont portés au-dessus du sol par le développement de l'hypocotyle. 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 quatre étapes :

4.2.1- La dormance

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

4.2.2- La germination

Lorsqu'un tubercule est placé dans des conditions d'environnement favorables (16-20°C, 60-80% d'humidité relative) aussitôt après la fin de son repos végétatif, il commence à germer. Après une évolution physiologique interne les tubercules deviennent capables d'émettre des bourgeons, 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 (**Soltner, 2005**). 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 tubérisent (**Bernhards, 1998**).

4.2.3- La croissance

Une fois le tubercule mis en terre au stade physiologique adéquat, les germes se transforment en dessous du sol en tiges herbacées pourvues de feuilles ce qui rend la plante autotrophe dès que la surface foliaire atteint 300 à 400 cm² (**Rousselle et al., 1996**). Les bourgeons axillaires donnent, au dessus du sol des rameaux, et en dessous, des stolons (**Soltner, 2005**).

4.2.4- La tubérisation

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

4.2.5- Fructification

Elle débute durant la phase de floraison. Elle commence par la nouaison des fleurs de l'inflorescence de base et se poursuit par les inflorescences supérieures au fur et à mesure de l'apparition des inflorescences et de la fécondation des fleurs. Les fruits se développent, grossissent et après avoir atteint leur taille définitive, ils commencent par perdre leur coloration verte au profit du jaune puis au rouge de plus en plus accentué (**Naika et al., 2005**).

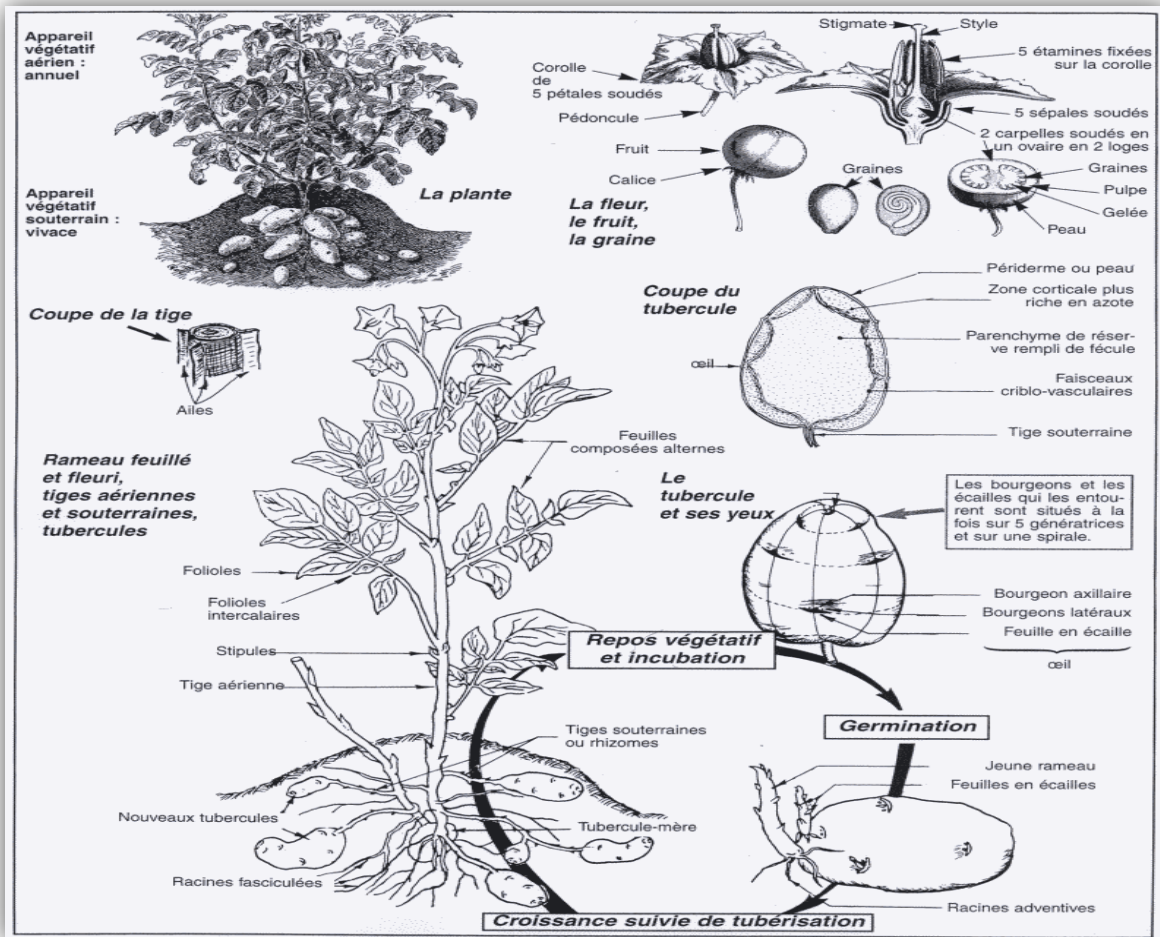


Figure 2 : Cycle végétatif de la pomme de terre (Soltener, 2005).

5- Importance économique

Cultivée dans plus de 150 pays, la pomme de terre joue un rôle clé dans le système alimentaire mondial. C'est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde ; elle vient en quatrième position après le blé, le riz et le maïs qui constituent la base de l'alimentation humaine.

En 2013, la production mondiale de pommes de terre est estimée à 368.1 millions de tonnes, pour une surface cultivée de 19.4 millions d'hectares, soit un rendement moyen de 18.9 tonne par hectare. Ce chiffre n'inclut pas les plants (semences) qui représentent 32.2 millions de tonnes. C'est la chine qui occupe le premier rang des pays producteurs avec une production qui atteint 88.9 millions de tonnes en 2013 (1).

En Algérie, la culture de pomme de terre est constituée l'économie agricole dorsal ; sa superficie est estimée à 130 000 ha annuellement, soit 30 % de la superficie totale consacrée aux cultures maraîchères. La pomme de terre est un produit de base pour le consommateur algérien

au même titre que les céréales et les légumes secs ; la consommation par habitant est estimée à 110kg/an (FAO STAT, 2013).

6- Les maladies de la pomme de terre

Les principales maladies qui touchent la pomme de terre sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Les principales maladies de la pomme de terre (Bernhards, 1998 ; Cirad et Gret ,2002).

Les maladies	La cause	Les symptômes
Mildiou	<i>Phytophthora infestans</i>	Brunissement de la base des tiges ou de portions de tige et de pétioles. Taches jaunâtres devenant brunes sur les feuilles de la base.
Alternariose	<i>Alternaria solani</i> ; <i>A. alternata</i>	Sur feuilles : taches nécrotiques, bien délimitées, de taille variable, situées plutôt sur les feuilles du bas ; présence d’anneaux concentriques sur les taches importantes. Sur tubercules : pourritures brunes à noires, très sèches, assez typiques, avec une dépression.
Rhizoctone noir	<i>Rhizoctonia solani</i> ; <i>Rhizoctonia violacea</i>	Les tubercules contaminés portent à la surface de petits amas noirs très durs, appelés sclérotés, qui sont très visibles sur les tubercules lavés.
Verticilliose	<i>Verticillium albo-atrum</i> et <i>Verticillium dahlia</i>	jaunissement des feuilles suivi par un flétrissement du feuillage.
Fusariose	<i>F. solani</i>	Flétrissement et la pourriture des racines et du collet.
Pourriture grise	<i>Botrytis cinerea Pers</i>	Les symptômes observable sur fleurs, fruits, tiges, feuilles, se traduisent généralement par un pourrissement des tissus infectés, suivi par l’apparition d’un feutrage gris.
Anthraxose	<i>Colletotrichum coccodes (Wallr.)</i>	Les symptômes se manifestent sur les tubercules ou arrivant à maturation sous forme de petites tâches rondes creusées dans la peau. Lorsque ces tâches s’étendent, leur centre

Chapitre I : Généralité sur la pomme de terre (Solanum tuberosum L)

		prend une couleur sombre ou développe des anneaux concentriques mouchetés.
Virus X de Mosaïque	Potato virus X	Décoloration bénigne en forme de mosaïque légère entre les nervures.
Mosaïque Y et nécroses	Potato virus Y	Nécroses, rabougrissement des plants ; pertes de rendement.
Virus de l'enroulement	Potato Leaf Roll virus (PLRV)	Marbrures ; perte de rendement, chlorose et enroulement des folioles.
L'enroulement des feuilles	Potato virus S (PVS)	Mosaïque légère à sévère en fonction des souches.
Pourriture molle et jambe noire	<i>Erwnia carotovora</i>	La pourriture des racines dans le sol et les tubercules durant le stockage.
Gale commune	<i>Streptomyces scabies</i>	Les symptômes de la gale commune se manifestent uniquement en surface des tubercules.
Chancre bactérien	<i>Clavibacter michiganensis subsp.</i>	le dessèchement des bords des folioles principalement chez les feuilles inférieures suivis du dessèchement lent et général de la plante sans manifester de flétrissement, et souvent par des marbrures externes et très rarement des taches «Oculaires caractéristiques sur fruits».
Flétrissement bactérien	<i>Ralstonia solanacearum.</i>	Le symptôme caractéristique de la maladie est le flétrissement irréversible de l'appareil végétatif aérien de la plante qui survient après blocage, par la bactérie de la circulation de l'eau dans la plante.

Chapitre II

L'agent pathogène

1- Le genre *Erwinia*

1.1- Caractéristiques d'*Erwinia*

Les *Erwinias* (*E*) sont des bacilles à Gram négative d'une taille de l'ordre de 0,5-1µm par 1-3µm anaérobies facultatifs, non sporogènes, mobiles via des flagelles péritriches. Sur milieu de culture, sont soit isolés, par paires ou parfois en courtes chainettes (**Dickey et al., 1984**), achevant une croissance optimale à des températures de 25-30°C selon les espèces (**Preombelon et Kelman, 1980**). Ces bactéries se propagent amplement dans l'environnement et sont fréquemment présentes dans les lacs, les ruisseaux et les eaux souterraines ainsi que dans le sol (**Chatterjee et Cui, 2002**). Ce genre regroupe nombreuses bactéries phytopathogènes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Depuis 2008, *Erwinia chrysanthemi* (*Ech*) est reclassifiée comme étant un ensemble d'espèces du genre *Dickeya* c'est la raison pour laquelle *Ech* est citée dans la bibliographie avant 2008 et au delà de 2008 c'est le genre *Dickeya* qui est mentionné.

1.2- Taxinomie des *Pectobacterium* et *Dickeya* spp.

Les bactéries pectinolytiques des genres *Dickeya* et *Pectobacterium* ont une forme de bâtonnet (0,5-1µm de diamètre sur 1-3µm de longueur), sont anaérobies facultatives et munies de flagelles péritriches (**Charkowski, 2006**). Elles sont anciennement classées dans le genre *Erwinia* proposé par Erwin Frink Smith. Ce dernier contenait les bactéries phytopathogènes de la famille des *Enterobacteriaceae* y compris les *Erwinias* qui causent des nécroses sur les organes des plantes hôtes. Les *Erwinias* pectinolytiques comprenaient trois espèces (ou sous-espèces) principales: *Erwinia carotovora* sous-espèce *carotovora* (*Ecc*); *Erwinia carotovora* sous-espèce *atroseptica*(*Eca*) et *Ech* (**Dye, 1969**).

- Règne : Bactéria
- Embranchement : Protobacteria
- Classe : Grammaproteobacter
- Ordre : Enterobacterales
- Famille : *Enterobacteriaceae*
- Genre: *Erwinia* (2).

1.3- Différents espèces

Dans le genre *Erwinia* nous avons 3 espèces : *Erwinia amylovora* est l'agent causal de la maladie feu bactérien, *Erwinia chrysanthemi* (*Dickeya*) est l'agent causal de la maladie jambe noire et *Erwinia carotovora* (*Pectobactérium* sp.) est l'agent causal de la maladie pourriture molle.

1.3.1- *Erwinia amylovora*

Erwinia amylovora (*Ea*) a été appelée *Bacillus amylovorus* et *Bacterium amylovorum*. Cette espèce appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les membres de cette famille sont Gram négatifs et anaérobies facultatifs. Les cellules d'*Ea* sont des bâtonnets droits mesurant 0,5 à 1µm sur 1 à 3µm. Elles sont souvent individuelles et ne forment pas de chaîne cellulaire, ne possédant pas d'endospores et sont mobiles par des flagelles péritriches. Cette Bactérie ne dégrade pas la pectine comme on le croyait avant, mais hydrolyse la gélatine.

Sur Gélose Nutritive à 5% de saccharose, les colonies d'*Ea* sont bombées, muqueuses, et blanchâtres à centre légèrement flocculant. La température optimale de croissance est de 25°C, alors que la température maximale de croissance est de 33 à 35°C. L'espèce est une entérobactérie mobile par ciliation péritriche (5 à 7 flagelles) ; elle se présente sous forme de cellules isolées ou associées par deux ; elle est oxydase négative et catalase positive (**Lelliott et Dickey, 1984**).

1.3.2- *Erwinia chrysanthemi* (*Dickeya*)

Erwinia chrysanthemi est une entérobactérie phytopathogène se trouvant préférentiellement dans les régions tropicales et subtropicales à des températures assez élevées de l'ordre de 35-37°C, où est responsable de la pourriture molle chez une large gamme d'espèces végétales (**Perombelon et Kelman, 1980**).

Erwinia chrysanthemi est surtout responsable de maladies chez les *Dahlia*, chrysanthème, oeillet, *Dieffenbachia* spp., *Euphorbia pulcherrima*, *Kalanchoe blossfeldiana*, bananier, *Philodendron* spp., *Saintpaulia ionantha*, pomme de terre, *Syngonium podophyllum* et maïs. De même, il attaque naturellement, *Allium fistulosum*, *Brassica chinensis*, canne à sucre, *Capsicum*, *cardamomum*, carotte, céleri, chicorée, *Colocasia esculenta*, *Hyacinthus* sp., *Leucanthemum maximum*, luzerne, oignon, patate douce, des Poaceae telles que *Brachiaria mutica*, *Brachiaria ruziziensis*, *Panicum maximum* et *Pennisetum purpureum*; radis, riz, *Sedum spectabile*, sorgho, tomate, tabac, tulipe et des plantes ornementales de serre telles que *Aechmea fasciata*, *Aglaonema pictum*, *Anemone* spp., *Begonia intermedia* cv. Bertinii, *Cyclamen* sp., *Dracaena marginata*, *Opuntia* sp., *Parthenium argentatum*, *Pelargonium capitatum*, *Phalaenopsis* sp.,

Polyscias filicifolia et *Rhynchosyilis gigantea*. Le signalement sur *Primula obconica* est une erreur voir aussi **Bradbury (1986)**.

Erwinia chrysanthemi provoque une pourriture molle qui dégrade les organes charnus des plantes tels que tubercules, racines, boutures en vert ou feuilles charnues. C'est aussi un pathogène de flétrissement, qui colonise le xylème et devient systémique dans la plante, aspect le plus alarmant dans le cas de multiplication végétative. Il peut demeurer sous forme latente dans les plantes souches (ornementales, bananiers) et donc être disséminé par des boutures de celles-ci. Pour la pomme de terre, les tubercules sont une source de la maladie importante. La bactérie peut survivre dans le sol (dans des débris de plantes) et persiste donc entre deux saisons. La dissémination et la pénétration de la bactérie sont favorisées par des taux d'humidité élevés et la présence d'eau. La maladie se développe à des températures élevées, en général 25-30°C.

1.3.3- *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium carotovorum*)

Erwinia carotovora (*Ec*) ou *Pectobacterium carotovorum* (*Pc*) est une bactérie phytopathogène qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle provoque la pourriture molle de nombreux fruits ou légumes (dont la pomme de terre). Cette bactérie ne survit pas dans la terre et utilise un vecteur insecte pour se propager d'une plante à une autre. Cette bactérie entraîne le développement d'une pourriture molle des tubercules. Les attaques précoces du parasite peuvent faire pourrir les tubercules-mères en terre et provoquer des manques à la levée ; ces tubercules contaminés assurent l'essentiel des contaminations mais le développement de la maladie dépend largement des facteurs climatiques. En outre, Il peut y avoir une sensibilité variétale à la bactérie (**Toth et al., 2003**). L'entérobactérie *Pc* est une bactérie opportuniste possédant les mêmes caractéristiques qu'*Ech* et est apte à affecter un large éventail d'hôtes dans de très vastes aires géographiques, autant dans les zones tropicales que dans celles tempérées. Cette espèce est en fait divisée en deux sous-espèces qui sont:

➤ *Erwinia carotovora subsp carotovora* (*Ecc*)

Bactérie psychrotrophe se développant à des températures s'allongeant de 20-30°C (**Perombelon, 2002**). Pourtant sur gélose nutritive ou en bouillon nutritif, la croissance de cette bactérie s'arrête à des températures supérieures à 36°C (**Preombelon et Kelman, 1980**). Elle est fréquemment isolée à partir des pourritures humides des organismes de réserve et des pourritures aériennes des tiges (**Toth et al., 2003**).

➤ *Erwinia carotovora subsp atroseptica (Eca)*

Cette sous-espèce se trouve toujours en étroite liaison avec les symptômes de la jambe noire, principalement dans les zones tempérées à climat frais et humide (Helias et al., 1998 ; Toth et al., 2003). Bien que ces deux bactéries appartiennent à la même espèce et pouvant causer la même maladie, *Eca* possède des caractéristiques propres les distinguant des *Ecc*, telles son incapacité à croître à une température de l'ordre de 37°C, sa production de substances réductrices à partir du saccharose, des acides à partir du maltose et de l'α-méthylglucoside (Bradbury, J.F, 1986).

Les principaux caractéristiques chimiques et physiologiques d'*Ec* sont résumés dans le tableau 2.

Tableau 2: Autres caractéristiques principales biochimiques et physiologiques d'*Erwinia carotovora* (Lelliott et Dichey, 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	++
Substance réductrices à partir du saccharose	+	Fructose	++
Présence d'acétoïne	++	D-galactose	++
Présence d'uréase	-	D-glucose	+
Oxydation de gluconate	-	Glycérol	+
Production de gaz à partir du D-glucose	+	Myo-Inositol	+
Hydrolyse de la caséine	+	Inuline	-
Croissance dans du bouillon au KCN	+	Lactose	++
Liquéfaction de la gélatine	++	Maltose	+
Présence de phénylalanine déaminase	-	D-Mannitol	++
Présence d'indole	-	D-Mannose	++
Réduction du nitrate	++	Mélézitose	-
Croissance de 5% de NaCl	++	Mélibiose	++
Présence de désoxyribonucléase	-	Raffinose	++
Présence de phosphatase	-	L-Rhamnose	++
Présence de lécithinase	-	Ribose	++
Sensibilité à l'érythromycine (15 µg/disque)	-	Sorbitol	++
		Amidon	-
		Saccharose	++

1.3.3.1- Symptômes

a- 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 *Ditylenchus destructor*, inféodés à cet hôte (Pérombelon, 1992 ; 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 (Pérombelon, 1972 ; Pérombelon et Kelman, 1987 ; Charkowski, 2009).

b-Symptômes sur les parties aériennes

Pectobacterium spp. et *Dickeya spp.* attaquent la tige du plante 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., 2000). 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. Par ailleurs, il faut prendre garde à ne pas confondre les flétrissements et enroulement-jaunissements liés à la jambe noire avec ceux, proches, pouvant apparaître en cas de sclérotiniose, de rhizoctone ou de flétrissement bactérien, causés respectivement par *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani* et *Ralstonia solanacearum*.

c- Symptômes sur les tubercules

La maladie est provoquée par les trois bactéries (*Pca*, *Pcc* 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 (Figure 3). Au niveau

des tissus du tubercule, la production de poches gazeuses, sont à l'origine d'une odeur nauséabonde très prononcée (**Pérombelon et Kelman, 1980**). Les tissus infectés sont nettement délimités des parties saines. En conditions sèches, les lésions peuvent devenir creuses, dures et sèches. Dans d'autres cas, l'infection est stoppée et la zone malade 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 (**Romdhani, 1994 ; 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**). D'autres bactéries pectinolytiques (*Clostridium spp.*, *Bacillus spp.* et *Pseudomonas spp.*) Peuvent être associées dans la pourriture des tubercules en conservation, particulièrement lorsque les températures sont élevées (**Campos et al., 1982 ; Pérombelon et Kelman, 1987**), mais les *Pectobacterium spp.* et *Dickeya spp.* Macergènes restent les agents les plus fréquents et les plus dommageables.



Figure 3: Tubercules de pommes de terre infectées par *Eca 709* après trois jours d'incubation à 24 °C et à 100% d'humidité relative. (A) : Suintement du tubercule qui favorise la dissémination de la maladie en entrepôt ; (B) : Développement secondaire de moisissure ; (C) : Chair du tubercule pourri ; (D) : Sites d'infection (**Yaganza, 2005**).

1.3.3.2 - Les moyennes de lutte contre *pectobactérium sp.*

A ce jour, il n'existe aucun moyen de lutte curatif contre les bactéries responsables des maladies de la jambe noire et de la pourriture molle de la pomme de terre. En effet, la lutte actuelle se base essentiellement sur l'utilisation de mesures prophylactiques visant à diminuer la quantité et la dissémination du pathogène via les semences et les machines agricoles, afin de limiter les dégâts enregistrés. Plusieurs stratégies de lutte sont toutefois disponibles ou en cours

d'étude comme la lutte chimique, la lutte génétique et la lutte biologique (**Latour et al., 2008 ; Czajkowski et al., 2011**).

Lutte prophylactique

La lutte contre les bactéries de nature prophylactique et comprend en particulier les mesures suivantes :

- Eviter de planter dans des parcelles humides et des zones tassées.
- Utiliser de la plante certifiée et éliminer les tubercules pourris avant plantation.
- Éliminer en végétation l'ensemble des plantes présentant des symptômes.
- Éviter des fumures azotées excessives ainsi que des irrigations trop importantes.
- Limiter les blessures de tubercules lors des manipulations car elles constituent des portes d'entrée pour les bactéries.
- Éviter les excès d'humidité en séchant des la récolte et en conservant en condition aérées et sèches à basse température (**Anonyme, 2008**).

La lutte physique

Si la manipulation soigneuse 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 mises 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 endommagées 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.

Lutte chimique

En plus des mesures prophylactiques, les agriculteurs, ont parfois recours à l'utilisation de produits chimiques peu efficaces et extrêmement dommageables pour l'environnement. Ces produits chimiques sont à base de cuivre (**Rousselle et al., 1996**) et ils sont fortement déconseillés et interdits ou en cours d'interdiction dans plusieurs pays (**Ordax et al., 2006**). Comme alternative, **Mills et al. (2006)** ont montré, par des essais *in planta*, que plusieurs composés chimiques tels que l'acetate d'aluminium et le benzoate de sodium ont une efficacité significative contre le développement de la pourriture molle sur les tubercules de pomme de terre au moment du stockage. De plus, des études menées en laboratoire ont montré la capacité de nouveaux composés chimiques à altérer l'intégrité cellulaire bactérienne ou à inhiber la croissance de ces pathogènes tels que les solutions de chlorure d'aluminium et de metabisulfite de sodium (**Yaganza et al., 2004**) ou des peptides de synthèses (**Kamysz et al., 2005**). Néanmoins, ces produits chimiques, malgré leur efficacité sur les pathogènes pectinolytiques, demeurent une menace non négligeable pour la communauté microbienne bénéfique, et risquent d'altérer les équilibres écologiques dans la rhizosphère (**Latour et al., 2008**).

Lutte génétique

Jusqu'à présent aucune variété de pomme de terre (*Solanum tuberosum*) n'est complètement résistante aux *Pectobacterium* et *Dickeya* spp. (**Lyon, 1989**).

Les plantes transgéniques constituent une alternative dans la lutte génétique par création de variétés de plante de pomme de terre ayant intégré du matériel génétique étranger (un gène ou plusieurs) qui leur confère une résistance *vis-à-vis* des pathogènes. Un gène originaire d'un bactériophage, codant pour la production d'un lysozyme qui dégrade la membrane de certaines bactéries, a été utilisé pour produire des plantes transgéniques produisant ce lysozyme et le transportant dans les espaces intercellulaires. Ces propriétés confèrent à la plante une résistance significative aux attaques de *Pectobacterium atrosepticum* (**During et al., 1993 ; Latour et al., 2008**).

Lutte biologique

La lutte biologique représente une stratégie alternative aux luttes chimique et génétique contre les *Pectobacterium* et *Dickeya*. Cette méthode comprend l'utilisation d'antagonistes ciblant le pathogène soit directement soit via différents mécanismes tels que l'antibiose, la compétition pour les nutriments ou la stimulation des défenses de la plante hôte (**Howarth, 1991**). Le développement des méthodes de lutte biologique contre *Pectobacterium* et *Dickeya* est limité pour l'instant à des essais *in vitro* ou sur tubercules ; très peu d'études ont été menées au

champ pour prouver la capacité des antagonistes à réduire l'incidence de la maladie (**Czajkowski et al., 2011**).

Plusieurs études *in vitro* ont montré la capacité des *Pseudomonas spp.* à limiter le développement des symptômes de jambe noire et de pourriture molle (**Kastelein et al., 1999**).

À partir d'un crible de 10000 bactéries isolées du sol, 96 isolats ont été caractérisés comme présentant un effet d'antibiose *in vitro* sur des espèces de *Pectobacterium* et *Dickeya* et parmi ces isolats, 5 souches de *Pseudomonas* et 1 souche de *Bacillus* ont montré, en serre, une capacité à inhiber le développement des *Pectobacterium* et *Dickeya* seuls ou en combinaison (**Raoul des Essarts, 2015**). *Bacillus subtilis* BS107 a été testé *in vitro vis-à-vis* de plusieurs phytopathogènes y compris les *Pectobacterium* et *Dickeya* (**Sharga et Lyon, 1998**).

Une stratégie de lutte, en cours de développement, consiste à utiliser des bactériophages s'attaquant spécifiquement aux espèces de *Pectobacterium* et de *Dickeya*. Plusieurs travaux ont réalisé l'isolement et la caractérisation de bactériophages capables de limiter le développement des pathogènes de pomme de terre appartenant aux genres *Dickeya* et *Pectobacterium* (**Adriaenssens et al., 2012 ; Czajkowski et al., 2013b ; Czajkowski et al., 2014**).

Chapitre III

Les huiles essentielles

1- Définition

Selon **Bruneton (1999)**. Les huiles essentielles (HEs) sont définies comme étant des extraits volatiles et odorants, que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qu'ils les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous produits du métabolisme secondaire. Les HEs ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : L'aromathérapie.

2- La composition chimique des HEs

Les HEs sont des mélanges complexes et très variables des composants qui appartiennent à deux groupes : les composés terpénoïdes et les composés aromatiques, dont les monoterpènes qui sont formés de deux molécules d'isoprènes constituent les principales composés terpénoïdes, avec présence des diterpènes et des sesquiterpènes (**Seigler, 1998**). Les composés aromatiques sont des dérivés contenant le noyau benzénique. Ces deux groupes sont accumulés dans tous les types d'organes végétaux fleurs, feuilles, écorces, bois, racine, rhizomes, fruits et graines (**Bruneten, 1999**). Il est observé que les HEs lorsqu'ils sont produites dans différents organes de la même plante présentent des profils de composition chimique différentes (**Balandrin et al., 1985**). Les HEs sont principalement composées des monoterpènes et sesquiterpènes avec la formule générale $(C_5H_8)_n$ (**Bauer et al., 2001**). Les composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures comprennent les alcools, les aldéhydes, les esters, les éthers, les cétones, les phénols et les oxydes. Ces composants sont regroupés en composés majeurs et mineurs selon leurs pourcentages dans l'HE (**Okoh, 2010**). Les composés majeurs peuvent constituer jusqu'à 85 % de l'HE, alors que d'autres composés sont présents uniquement sous forme de trace (**Senatore, 1996**).

3- Propriétés des HEs

Les HEs sont employées depuis les temps les plus reculés pour leurs effets thérapeutiques les plus diversifiés. La diversité moléculaire des composants qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés (**Valnet, 1984**).

En effet, les hydrocarbures mono-terpéniques présentent des propriétés antalgiques en usage percutané, vermifuge, emménagogue, antiseptique atmosphérique, antiparasitaire, les hydrocarbures sesquiterpéniques présentent des effets anti-inflammatoires, calmants, hypotenseurs (**Amor, 2006**).

Les pouvoirs offerts par les HEs sont innombrables et variés. Il serait impossible de les mentionner tous. La mise en évidence de leur activité biologique a fait l'objet de nombreuses études (**Bakkali et al., 2008**).

4- Activité antibactérienne

Le spectre des HEs est très étendu, car elles agissent *vis-à-vis* d'un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent résistances antibiotiques.

Les HEs agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**) sauf quelques exceptions, comme par exemples *Aeromonas hydrophila* et *Campylobacter jejuni* qui ont été décrits comme particulièrement sensible à l'action des HEs (**Wan et al., 1998**). Néanmoins *Pseudomonas aeruginosa*, bactérie à Gram positif, reste la moins active *vis-à-vis* des essences végétales.

5-Mode d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des HEs dépend du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**). Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (**Knobloch et al., 1989 ; Sikkema et al., 1995**). Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (**Wendakoon et Sakaguchi, 1995**). Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides (**Zani et al., 1991**). Certains HE provoquent une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K^+) en niveau de cellule: ce mécanisme a été observé avec l'huile de *Melaleuca alternifolia* sur les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram à négatif (*Escherichia coli*) et levure (*Candida albicans*) *in vitro* (**Cox et al., 2000 ; Carson et al., 2002**). Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaires comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides

membranaires grâce à leurs groupements fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman, 2000**).

Les molécules aromatiques telles que les phénols suivis par les aldéhydes puis les cétones viennent ensuite les alcools puis les éthers possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé. En général l'action de l'essence se déroule en trois étapes distinctes :

- Augmentation de la perméabilité suivie par la perte des constituants cellulaires par attaque de l'huile essentielle sur la paroi bactérienne.
- Blocage de la production de l'énergie cellulaire et de la synthèse des composants de structures par acidification de l'intérieur de la cellule.
- Mort de la bactérie par destruction de son matériel génétique.

Partie
Expérimentale

Chapitre I

Matériels et Méthodes

1.1- Matériels

1.1- Matériels biologique

Les souches d'*Erwinia carotovora* nous ont été procurées par le laboratoire de microbiologie fondamental et appliqué à université d'Oran, les origines des souches sont résumées dans le tableau 3 :

Tableau 3 : Les origines des souches testées.

Nom de la souche	Origine
SA	Sidi Ajal Mostaghanem
Sol	Sidi khatab Relizane
MAI	Frouha Mascara
BOU1	Bounif Oran



Figure 1: colonie bactérien d'*Erwinia carotovora*.

1.2 Matériels végétaux

Les huiles essentielles testées dans notre travaille sont résumées dans le tableau 4 :

Tableau 4 : Les huiles essentielles testées.

Nom vernaculaire	Famille	Espèce	Molécule
L'arbre à thé ou Tea tree	Myrtaceae	<i>Melaleuca alternifolia</i>	Terpinèn-4-ol : 30 à 48%
Clou de girofle	Myrtaceae	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugénol (72 à 84%)
Eucalyptus commun	Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i>	1,8 cineol, (69 à 80%)

2-Méthodes

2.1- Préparation du milieu LPGA

Le milieu LPGA est à base de extrait de levure, 5 g l⁻¹ ; peptone, 5 g l⁻¹, glucose, 10g l⁻¹ ; agar, 20 g l⁻¹, pH 6.8).

2.2- Les tests de confirmation de l'identification des souches

L'observation microscopique de l'état frais des bactéries vivantes et permet d'examiner la mobilité des bactéries et détermination de leur morphologie, de leur mode de regroupement, de leur éventuelle et de la quantité approximative de bactérie (**Camille delarras, 2008**). Des bactéries sont considérées comme mobiles lorsque des trajets très différents sont observés. Une bactérie immobile est animée de mouvements d'agitation normaux appelés mouvements browniens, qu'il ne faut pas confondre avec la mobilité (**Canler, 2005**).

2.3- Coloration de Gram

La coloration de Gram est la coloration la plus utilisée en bactériologie. C'est une coloration différentielle qui divise les bactéries en deux groupes : les Gram positif et les Gram négatif. Pour réaliser le test : on a réalisé un frottis bactérien ensuite la coloration Gram qui comprend plusieurs étapes : une coloration au violet de gentiane, ensuite une fixation au Lugol qui crée une laque avec le violet de gentiane dans le cytoplasme bactérien. Par la suite, un bain d'alcool 95° pour éliminer le colorant inutile et décolorer les Gram-. Enfin une coloration à la safranine ; les Gram- seront colorés en rose et les Gram+ resteront violets (**Camille delarras, 2008**).

2.4- Les tests biochimiques

Des tests biochimiques complémentaires ont été réalisés pour la confirmation des souches étudiées.

2.4.1- Test d'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence la présence d'une chaîne respiratoire ainsi que du cytochrome C oxydase qui réduit l'O₂. Pour cela, il s'agit de mettre en contact un prélèvement de biomasse avec une goutte du réactif l'eau distillée stérile. Si on observe une couleur violette la souche est oxydase+ ; si c'est incolore la souche est oxydase-.

2.4.2- Test catalase

La catalase est une enzyme respiratoire qui catalyse la libération de molécules d'eau et d'oxygène à partir du peroxyde d'hydrogène, un produit métabolique toxique pour les bactéries. Pour se faire, on ajoute une goutte de peroxyde d'hydrogène 30% (H₂O₂) à la colonie placée sur une lame de microscope. On observe une production de bulles (libération de gaz) lorsque la réaction est dite positive.

2.4.3-Test de Hugh Leifson

Ce test 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 fermentation : 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).

Pour étudier la voie d'attaque d'un glucide, on utilise un milieu semi solide agar contenant un seul glucide et un indicateur de pH (annexe 1) qui permet de voir si la bactérie catabolise le glucose.

3-Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélose en utilisant des disques de papier Watteman stériles : appelée aromagramme. Le principe de la méthode est tiré à partir du titrage des antibiotiques (Benjilali et al., 1986).

Dans des conditions aseptiques et l'aide d'une pince stérile, prélever des disques de papier Watteman stériles (diamètre 5mm) et l'imbiber avec les huiles essentielles (Tea tree, Clou de girofle, Eucalyptus commun) aux différentes concentrations (25%, 12%, 6% et 3%) en mettant seulement en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement l'HE jusqu'à l'imprégnation totale du disque (5µl), puis déposer sur l'agar, inoculé avec le microorganisme choisi. Les boîtes Pétri sont ensuite fermées et laissées dans l'étuve à la température 28°C pendant 24h et 48h. L'expérience est répétée cinq fois pour chaque souche bactérienne et pour chaque concentration pour minimiser les erreurs expérimentale et garantir un bon déroulement de la méthode.

A la sortie de l'incubateur, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour de disque, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre de disque 5mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches *vis-à-vis* de l'huile essentielle (**Pense et al., 2003**).

D'après **Pense et al., (2003)** la sensibilité à l'essence a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensible (-) pour les diamètres moins 8mm.
- Sensible (+) pour les diamètres de 8 à 14mm.
- Très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm.

Analyse statistique

L'ensemble des résultats recueillis ont été saisis et analysés au moyen du logiciel STATBOX 6.0.4, Grimmersot en utilisant l'analyse de la variance ANOVA.

Chapitre II

Résultats et Discussion

1- Tests microbiologiques

Coloration de Gram

Durant notre travail nous avons utilisés quatre souches bactériennes (BOU1, MA1, Sol et SA) provient des différents sites.

Les résultats de ce test montrent que les trois souches présentent une coloration négative. À l'exception de la souche BOU1 donne un résultat positif. Les bactéries prennent une forme coccobacille à bacille à disposition isolés.

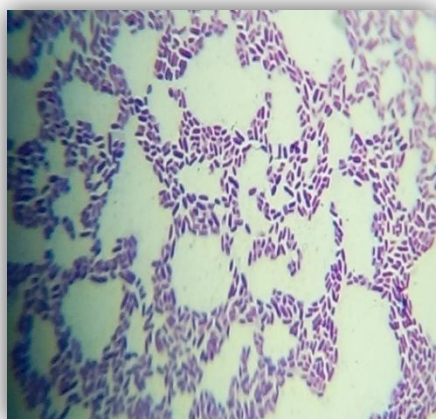


Figure 5: Observation microscopique de *pectobactérium sp.* après coloration de Gram x100.



Figure 6 : Observation microscopique de *Bacillus sp.* après coloration de Gram x100.

Les résultats des tests de confirmation l'identification sont représentée dans le tableau 5 :

Tableau 5: Les caractères morphologiques étudiés pour l'identification bactérienne.

Les souches	Coloration de Gram	Aspect microscopiques
MA1	-	Coccobacille à bacille
Sol	-	Coccobacille à bacille
SA	-	Coccobacille à bacille
BOU1	+	Bacille

2- Tests biochimiques

2.1- Test d'oxydase

La coloration de disque au violet montre un résultat positif tandis que résultat négatif.

Les trois souches (MA1, Sol, SA) sont des souches ne donnent pas une couleur sur le disque, donc l'oxydase est négative. À l'exception la souche de BOU1 oxydase positif (Figure 9).



Figure 7: Résultat de test d'oxydase.

2.2- Test catalase

Résultat positive apparaitre par la présence de bulles d'oxygène.

Les trois souches (MA1, Sol, SA) sont données des bulles d'oxygène, donc catalase positive. Sauf la souche de BOU1 catalase négative.



Figure 8 : Résultat de test de catalase.



Figure 9: Résultat de test oxydase et catalase de deux souches (MA1 et BOU1).

2.3- Test de Hugh Leifson

Les résultats du test d'HL montrent que tous les tubes testés, de les quatre souches, soumis aux conditions d'aérobioses et d'anaérobioses changent tous leurs couleurs vers le jaune. Ceci prouve que les tests sont tout positifs d'HL.



Figure 10 : Milieu HL avant la réaction.



Figure 11 : Résultat d'HL après 24h.

Les principaux caractères biochimiques sont résumés dans le tableau 6 :

Tableau 6 : Les caractères biochimiques des souches étudiées.

Les tests / Les souches	Oxydase	Catalase	HL
MA1	-	+	Fermentation
Sol	-	+	Fermentation
SA	-	+	Fermentation
BOU1	+	-	Fermentation

3- Résultat du teste de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

3.1-Activité antibactérienne d'huile de Tea tree sur les 4 souches testées

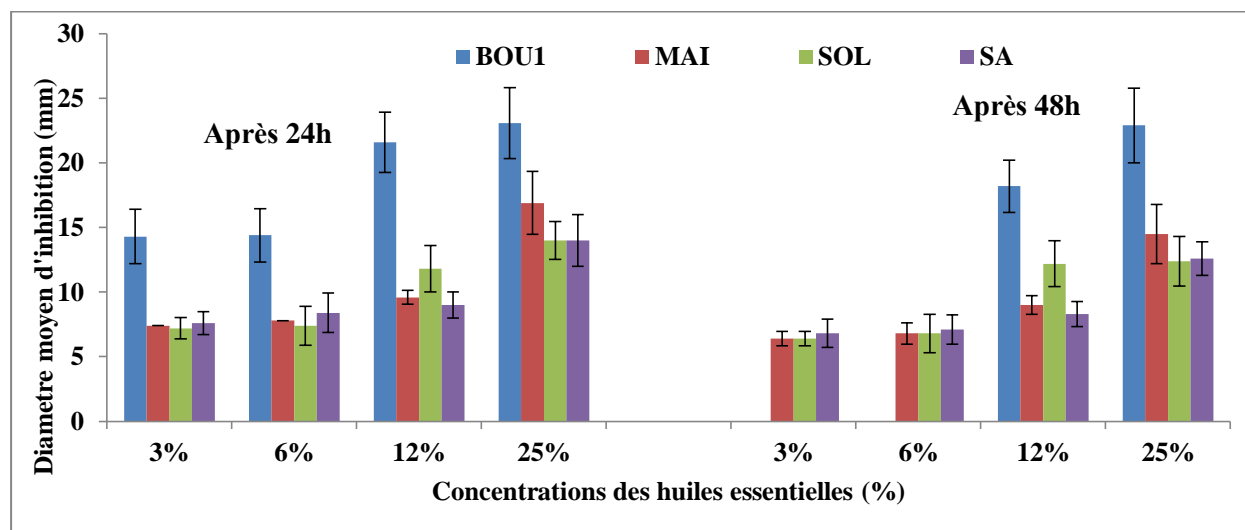


Figure 12: L'activité antibactérienne d'huile de Tea tree sur les 4 souches testées.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles des Tea tree, clou de girofle et Eucalyptus commun a été évaluée *in vitro vis-à-vis* de 4 souches microbiennes BOU1, MA1, SOL et SA ; elle est exprimée par le diamètre d'inhibition de la croissance.

Les résultats indiqués dans la figure12 montrent un pouvoir inhibiteur hautement significatif ($P \leq 0,01$) sur la croissance remarquable par l'huile essentielle testée de Tea tree.

Il semble après 24h que l'huile essentielle de Tea tree a des faibles concentrations (3%) a donné des diamètres d'inhibition allant de 14.3, 14.4, 21.6 et 23.1mm respectivement pour les souches BOU1, MA1, SOL et SA (Figure 12). La même concentration a été réalisé 48h *vis-à-vis* des quatre souches, a montré une diminution de l'inhibition de la croissance bactérienne. Cette réduction est de 100, 13.51, 11.1 et 6.57% respectivement pour les souches BOU1, MA1, SOL et SA.

Aux fortes concentrations des HEs (25%), les résultats de l'activité antibactérienne montrent que Tea tree possède une activité inhibitrice plus élevé (23.1mm) sur la souche BOU1 par rapport aux autres souches. Cette action montre clairement que les zones d'inhibition diminuent après 48h d'incubation. Diminution est de l'ordre 0.86, 14.2, 11.4 et 10% respectivement pour les souches BOU1, MA1, SOL et SA.

En général, les bactéries Gram positives sont plus sensibles que les bactéries Gram négatives. Par contre la souche SA (G-) est la bactérie la plus résistante *vis-à-vis* d'huile essentielle de Tea tree.

Le résultat de la figure 12, montre qu'au bout de 48h, l'action des Tea tree testée a permis d'avoir une diminution d'inhibition de la croissance. Les diamètres d'inhibition variant entre 10.27 et 8,72 mm. Cette diminution est expliquée par l'activité biologique des microorganismes, qui utilisent des mécanismes d'adaptation dans le milieu et la présence d'huile essentielle peut être à l'origine de cette adaptation.

3.2-Activité antibactérienne de clou de girofle sur les 4 souches testées

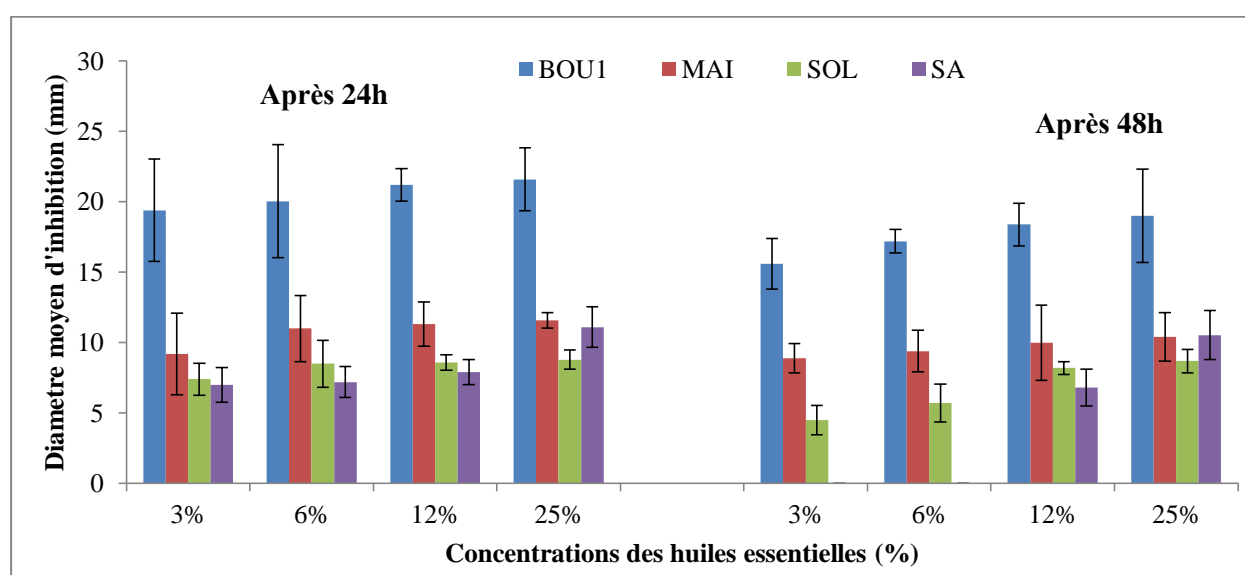


Figure 13: L'activité antibactérienne d'huile de clou de girofle sur les 4 souches testées.

L'analyse des résultats (Figure 13) relatifs à la croissance chez quatre souches étudiés soumis à l'action d'huile essentielle nous permet de constater que clou de girofle a une concentration de 25% exerce une action inhibitrice plus forte sur BOU1 avec un diamètre d'inhibition de 21.6mm par rapport aux autres souches.

Les résultats obtenus après 24h montrent une inhibition de la croissance allant de 19.4, 9.2, 7.4 et 7mm avec l'huile essentielle de clou de girofle aux faibles concentrations (3%), ont respectivement *vis-à-vis* du BOU1, MA1, SOL et SA. On remarque qu'il ya une diminution considérable de l'inhibition de la croissance après 48h avec toutes les souches microbiennes. Les pourcentages diminutions de l'inhibition les plus importants ont été enregistrés pour la souche SA avec (100%) ; pour la souche SOL avec (39.18 %), BOU1 (19.58 %) et MAI avec (3.26%).

Résultat cela est dû à l'adaptation des souches, ainsi que la stabilité des paramètres physicochimique de ces huiles.

Aux fortes concentrations, les résultats montrent aussi après 24h d'incubation des inhibitions avec l'huile essentielle de clou de girofle *vis-à-vis* de BOU1 (21.6 mm), MA1 (11.6mm), SOL (8.8mm) et SA (11.1 mm) (Figure 13).

D'autre part, il s'agit d'une diminution très remarquable de l'inhibition sur l'ensemble des souches testées après 48h. On enregistre des réductions de 12.03, 10.34, 1.13 et 5.04% pour BOU1, MA1, SOL et SA respectivement. D'une façon générale, cette réduction est la plus manifeste dans les situations qui mettent en jeu les propriétés fonctionnelles d'huile et induit ainsi un développement de la capacité antimicrobienne de l'organisme à s'adapter à nouvelles situations.

Une réduction dans la concentration de l'huile essentielle entraîne une diminution dans le pouvoir inhibiteur de celle-ci avec toutes les espèces microbiennes.

La souche SA s'est révélé moins sensible au clou de girofle testées sur le quel nous avons observés la plus faible d'inhibition : il semble être résistant *vis-à-vis* de l'huile essentielle de clou de girofle.

Aussi selon la classification de **Duraffourd et al., (1990)**, l'huile essentielle est considérée comme inactive si elle produit des diamètres d'inhibition inférieurs ou égaux à 8mm, intermédiaire pour des diamètres compris entre 8 et 14mm. Elle est moyennement efficace pour un diamètre entre 14 et 20mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20mm l'huile est très efficace.

Le résultat de la figure 13, montre qu'au bout de 48h, l'action de clou de girofle testé à des fortes concentrations (25%) a permis d'avoir une diminution d'inhibition plus faible par rapport aux faibles concentrations (3%).

3.3-Activité antibactérienne d'Eucalyptus commun sur les 4 souches testées

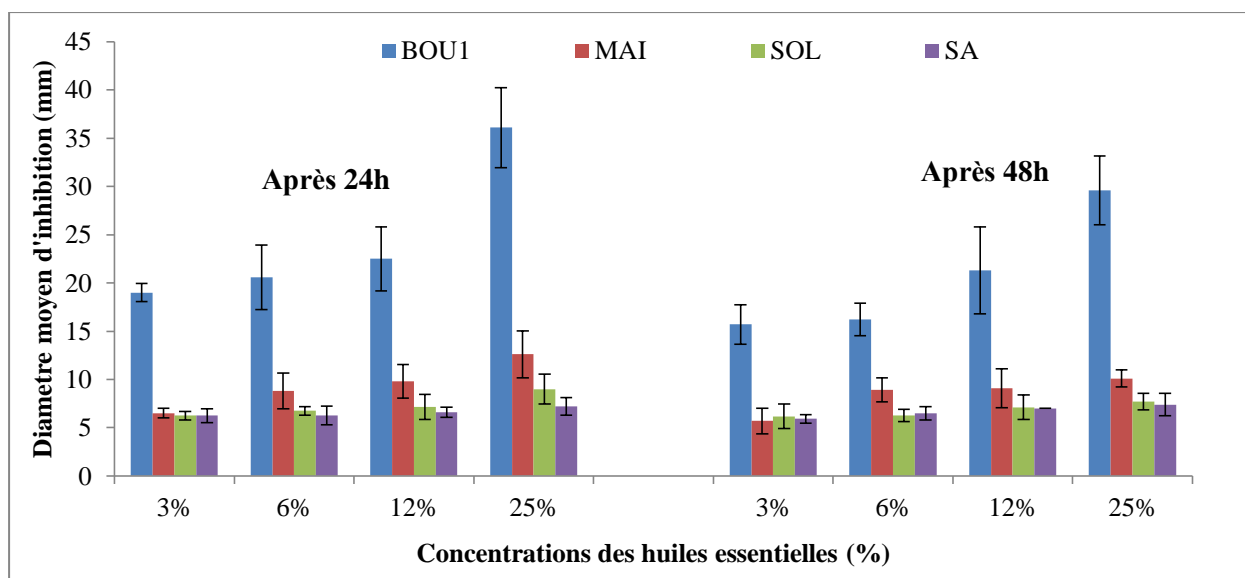


Figure 14: L'activité antibactérienne d'huile d'E. Commun sur les 4 souches testées

Les quatre souches marquent un comportement similaire avec l'huile d'Eucalyptus commun que celui observé avec le clou de girofle ou Tea tree.

On remarque que l'HE d'*E.globulus* est pourvu d'un effet inhibiteur très important sur toutes les souches testées, notant que la croissance bactérienne de l'ensemble des souches est inhibé proportionnellement à l'augmentation de la concentration d'huile.

Dans le cas de la souche BOU1, les mêmes constatations que les huiles précédente sont valables. De ce point de vue, il est intéressant de noter que cette souche est sensible à l'huile d'Eucalyptus commun. En effet, l'inhibition dépasse le seuil de 36mm à 25% en huile d'*E.globulus* 24h après l'incubation. A contrario, la souche SA semble plus résistante *vis-à-vis* de l'HE d'*E.globulus* après 48h qu'une 24h comparativement aux autres souches, puisque l'inhibition varie entre 6.25 et 7.2mm dans la gamme des concentrations allant de 3 à 25%.

En outre, mis à part la concentration de 3%, des inhibitions de la croissance 19, 6.5, 6.26 et 5.92% respectivement pour les souches de BOU1, MA1, SOL et SA. L'addition d'huile essentielle au milieu après 48h d'incubation permet diminuer l'inhibition de la croissance. Ainsi, les diminutions sont près de 17.36, 12.30, 2.55 et 3.55% sont observées respectivement pour les BOU1, MA1, SOL et SA.

De manière similaire, l'application d'huile essentielle avec sa forte concentration (25%) sur les quatre souches produit une diminution de l'inhibition de la croissance 48h après

l'incubation. En effet, le pourcentage diminution de l'inhibition de la croissance est de 18, 19.8, 14.4 et 2.7% pour respectivement les quatre souches testés BOU1, MA1, SOL et SA.

3.4- Classement des souches selon leurs sensibilités/résistances *vis-à-vis* d'HE

Les classements des résultats présidente après 24h et 48h sont résumés dans les tableaux suivants :

Tableau 7: Classement des souches *vis-à-vis* d'HE de Tea tree.

3%	6%	12%	25%
BOU1 (14.3)	BOU1 (14.4)	BOU1 (21.6)	BOU1 (23.1)
SA (7.6)	SA (8.4)	SOL (12.2)	MA1 (16.9)
MA1 (7.4)	MA1 (7.8)	MA1 (9.6)	SA (14)
SOL (7.2)	SOL (7.4)	SA (9)	SOL (14)

Tableau 8 : Classement des souches *vis-à-vis* d'HE de clou de girofle.

3%	6%	12%	25%
BOU1 (19.4)	BOU1 (20.05)	BOU1 (21.2)	BOU1 (21.6)
MA1 (9.2)	MA1 (11)	MA1 (11.32)	MA1 (11.6)
SOL (7.4)	SOL (8.5)	SOL (8.6)	SOL (11.1)
SA (7)	SA (7.2)	SA (7.9)	SA (8.7)

Tableau 9 : Classement des souches *vis-à-vis* d'H.E d'*E.globulus*.

3%	6%	12%	25%
BOU1 (19)	BOU1 (20.6)	BOU1 (22.5)	BOU1 (36.1)
MA1 (6.5)	MA1 (8.9)	MA1 (9.8)	MA1 (12.6)
SOL (6.26)	SOL (6.74)	SOL (7.15)	SOL (9)
SA (6.25)	SA (6.5)	SA (7)	SA (7.4)

D'après les résultats illustrés dans les tableaux 7, 8 et 9 ; l'application d'huile essentielle avec sa forte concentration (25%) sur les quatre souche révèlent selon la classification de **Duraffourd et al., (1990)**, que :

BOU1 : Très sensible à toutes les huiles essentielles.

MA1 : Sensible de l'huile de Tea tree et intermédiaire au clou de girofle et *E.globulus*.

Sol : intermédiaire au Tea tree, *E.globulus* et clou de girofle.

SA : intermédiaire au Tea tree et clous Girofle et résistante au *E.globulus*.

L'HE d'*E.globulus* avec sa forte concentration (25%) s'est révélé la plus active sur BOU1 par rapport aux autres HE testés.

L'HE de Tea tree avec sa forte concentration (25%) s'est révélée la plus active sur MAI, SA et SOL par rapport aux autres HE testés.

Discussion

Les cultures sont confrontées à de nombreuses contraintes qui affectent aussi bien le rendement que la qualité des fruits. La pourriture molle due au genre d'*Erwinia* est l'une des plus importantes maladies qui limite la croissance et le développement des cultures (Alippi *al.*, 1997 ; Anajjar *et al.*, 2007). La maladie dépend à la fois, du stade de développement de l'espèce, du génotype et aux conditions environnementales.

La culture de pomme de terre représente le groupe de légume le plus important du marché national. Elle est cultivée aussi bien dans les zones littorales que les régions du sud de l'Algérie. En effet, cette culture est confrontée à des contraintes biotiques et abiotiques croissantes. La pourriture molle se présente comme étant la contrainte la plus importante qui affecte aussi bien la plante hôte que le tubercule de pomme de terre.

Malgré la sélection de variétés de pomme de terre tolérantes au genre d'*Erwinia*, ce dernier continu à provoquer des dégâts considérables particulièrement en conditions de stockage. En effet, l'infection de la plante par le pathogène est soumise à plusieurs facteurs liés soit à la plante hôte, soit au parasite lui-même.

La lutte contre *E.carotovora* repose principalement sur l'utilisation des bactéricides. Leur efficacité est variable selon le produit lui-même, son mode d'application, sa rémanence, sa fréquence d'apport et les stades de la plante durant lesquels il est apporté (Rousselle *et al.*, 1996). Le contrôle chimique de la pourriture molle ou sèche est une pratique relativement ancienne dans le monde. A l'état actuel, les bactéricides utilisés dans le monde ne garantissent pas une efficacité totale contre le genre d'*Erwinia*. Souvent, l'utilisation de produits inadaptés aux conditions des zones humides, caractérisés par la présence de l'humidité élevée, affecte profondément leur efficacité. Ce phénomène constitue en lui-même, une contrainte importante pour les programmes de lutte contre les pathogènes. A ce titre, intervient l'intérêt et la pertinence d'une ouverture sur d'autres méthodes alternatives à la lutte chimique contre ces bactéries.

L'utilisation de variété résistante associée à la lutte biologique, s'avèrent une alternative incontournable.

Beaucoup de travaux rapportent une efficacité avérée de certaines huiles essentielles pour inhiber le développement d'*Erwinia*. Cependant, l'essentiel de ces travaux sont effectués en conditions contrôlées au laboratoire (Marzieh *et al.*, 2012). C'est pourquoi, l'efficacité de ces huiles n'est pas durable sur le terrain où les conditions de l'environnement sont beaucoup plus fluctuantes.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de Tea tree, Clou de girofle et Eucalyptus commun a été évaluée *in vitro vis-à-vis* de quatre souches bactériennes.

Les résultats obtenus dans cette étude révèlent une inhibition significative par les huiles essentielles sur la croissance. L'étude menée sur l'activité antimicrobienne de Tea tree, Clou de girofle et Eucalyptus commun sur les quatre souches bactériennes a montré une efficacité remarquable aux différentes concentrations étudiée. En effet, la dose 25% présente une forte inhibition avec des valeurs semblables contre BOU1, MA1, SOL et SA.

D'après les diamètres d'inhibition générée par les huiles essentielles étudiées, l'huile essentielle d'Eucalyptus commun exerce une action inhibitrice plus forte sur la souche BOU1 avec un diamètre d'inhibition de 36.1mm tandis que la même souche présente une inhibition supérieurs à 23mm pour d'HE de Tea tree.

L'activité biologique des huiles essentielles est probablement liée a une relation avec les groupes fonctionnels des composants, leurs proportions et l'interaction entre eux (**Dorman et Deans, 2000 ; Marino et al. 2001 ; Delaquis et al, 2002**).

En effet, le Tea tree que nous avons utilisé est riche en Terpinèn (Terpinèn-4-ol : 30 à 48%), le Clou de girofle est constituée principalement en Eugénol (72 à 84%) et le Eucalyptus commun à 69 à 80 % de 1,8-cinéole.

L'huile de Tea tree a présente des propriétés insecticides, acaricides, répulsives (**Iori et al., 2005 ; Callander et James, 2012**), antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et analgésiques (**Hammer et al., 2004 ; Carson et al., 2006**). Plusieurs études ont mentionné que l'activité antifongique est le résultat du synergisme ou l'antagonisme des divers composés d'huile essentielle de Tea tree (**Langenheim, 2003**). Le potentiel antimicrobien de Tea tree a été attribué à son principal composé (terpinène-4-ol), qui représente environ 40% de l'huile de *M. alternifolia* (**Carson et al., 2006**). Notre résultat est conforme à un travail précédent qui a montré que le terpinen-4-ol est le principal composant actif responsable de l'efficacité antimicrobienne de Tea tree (**Cox et al., 2001**).

D'après les zones d'inhibition générées par les huiles essentielles étudiées, la souche BOU1 à Gram positif présente une sensibilité *vis-à-vis* de l'ensemble des huiles. A contraire, la souche SA qui une bactérie Gram négatif semble plus résistante *vis-à-vis* de l'HE d'*E.globulus*. En effet, cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe.

L'organisation structurale de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif est moins complexe que celle des bactéries à Gram négatif. Cette différence structurale la rend moins sensible à l'action des huiles essentielles et des extraits de plantes (**Kalemba & Kunicka, 2003**).

Des résultats similaires sur l'efficacité des huiles essentielles du genre *A. conyzoides* ont été rapportés par **Pertamawati & Nuralih (2008)**. Ces auteurs ont montré que l'huile essentielle d'*A. Conyzoides* est plus active sur les bactéries Gram positif que sur les bactéries Gram négatif.

D'une manière générale, il a été observé une multitude d'actions des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**).

Il est établi aussi dans de nombreux travaux que l'activité d'une huile essentielle est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les constituants (**Oussou et al., 2010 ; Saint, 2003 ; Kalemba & Kunicka, 2003**).

L'action des huiles essentielles est due à la composition du Terpinène, Eugénol et 1,8-cinéole, et malgré la petite concentration dans la composition on peut les considérer comme des composés clés qui font la différence entre l'activité de ces trois huiles. En effet, la plupart de ces composés sont déjà reconnus pour leur activité antibactérienne.

Tea tree peut induire des dommages à la membrane dans les cellules bactériennes et fongiques (**Carson et al., 2002**). **Freeman et al., (2006)** ont démontré que le Terpinène de Tea tree peut également être impliqué dans l'inhibition d'*E.coli* et *S.aureus* provoquant des fuites d'ions potassium (K^+) au niveau des membranes cellulaires. Cette fuite de K^+ est la toute première preuve de l'existence de lésions irréversibles au niveau de la membrane de la bactérie.

La présente étude montre également que l'huile essentielle de clou de girofle présente une activité antibactérienne aussi bien sur les souches à Gram négative que les souches de à Gram positive. Sachant que l'huile essentielle de clou de girofle est riche en eugénol qui est doté d'une grande activité antibactérienne. **Gill et al. [38]** ont déclaré que l'eugénol et le carvacrol conduisent à une dégradation dans la membrane cellulaire chez *E.coli* et *L.monocytogenes*, ils ont également provoqué une augmentation des concentrations d'ATP extracellulaires et réduisent la concentration d'ATP intracellulaire. En outre, **Gill et al. [39]** A déclaré que l'eugénol et de le carvacrol inhibaient l'activité ATPase de la membrane de *E. coli* et *L. monocytogenes*.

Liman et al., (2013) rapporte que l'eugénol aux faibles concentrations exerce une inhibition des systèmes de virulence QS, y compris la violaceine, l'élastase, la pyocyanine et la

formation de biofilm. QS est un processus de communication chimique impliquant la production et la détection ultérieure de molécules de signalisation. Cet auteur a constaté que l'eugénol inhibe l'expression du gène contrôlée par QS chez *Pseudomonas aeruginosa* QSI-1 et *Chromobacterium violaceum* CV026.

L'activité antimicrobienne de l'HE d'*Eucalyptus globulus* a été évaluée. Les résultats obtenus prouvent l'effet inhibiteur très important de l'HE d'*E.globulus* sur toutes les souches testées, notant que la croissance bactérienne l'ensemble des souches est inhibé proportionnellement à l'augmentation de la concentration d'huile.

Nos résultats sont conformes à ceux qui ont été obtenus par d'autres auteurs sur l'activité antimicrobienne de l'HE d'*Eucalyptus globulus*. **Tyagi et al. (2010)** ont obtenu une inhibition complète de la croissance de *C. albicans* à une concentration de 1750 mg/l. Précédemment, **Djenane et al. (2011)** ont montré que l'HE d'Eucalyptus possède une forte activité antibactérienne contre *E.coli*.

Auparavant, les études **Pattnaik et al. (1997)** ont montré que le cineole (23,2%) avait un effet antimicrobien contre 18 souches bactériennes à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tzakou et al. (2001) ont montré que le cineole, ne produit aucune activité inhibitrice sur *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, mais une très bonne activité a été remarquée pour les bactéries à Gram négatifs.

*Conclusion et
Perspective*

Conclusion et perspectives

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de Tea tree, Clou de girofle et Eucalyptus commun sur les souches bactériennes d'*Erwinia carotovora* de la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), a été évaluée *in vitro* par la méthode diffusion de disque.

Les trois huiles essentielles des plantes étudiées, présentent des activités inhibitrices significatives sur les quatre souches testées. Cette activité peut être attribuée à la composition chimique de l'huile essentielle.

Pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne des huiles essentielles, ils sont avéré qu'elles possèdent des activités variables *vis-à-vis* les souches testées, dans ce cas BOU1 (bactérie a G+) apparait comme la souche la plus sensible à toutes les huiles essentielles et que la souche SA est la bactérie (bactérie a G-) la plus résistante *vis-à-vis* de l'HE d'*E.globulus*. La différence de la sensibilité des genres à l'huile essentielle peut être due à certains facteurs, à savoir la dose appliquée et souches étudiées.

Nos résultats indiquent que la croissance bactérienne de l'ensemble des souches est inhibé proportionnellement à l'augmentation de la concentration d'huile.

À la lumière des résultats obtenus, le travail ouvre la voie à d'autres perspectives. Dans le but d'entrevoir la valorisation des HEs de point de vue production et commercialisation en vue d'utilisations diverses dont notamment comme alternative dans la lutte contre les maladies bactériennes, il serait intéressant de compléter le travail plus particulièrement par :

- L'étude de l'activité antibactérienne *in vivo* des huiles essentielles.
- L'étude de l'effet des composants mineurs et les associations entre les différents composants des huiles essentielles.
- Investigation des mécanismes d'action des HEs.
- Rechercher d'autres possibilités de formulation et l'utilisation des huiles essentielles.

*Références
bibliographiques*

Références et bibliographiques :

- Adriaenssens, E.M., Van Vaerenbergh, J., Vandenheuvel, D., Dunon, V., Ceysens, P.-J., De Proft, M., et al., 2012.** T4-Related Bacteriophage LIMEstone Isolates for the Control of Soft Rot on Potato Caused by “*Dickeya solani*.” PLoS ONE 7: e33227.
- Alippi A.M., Ringuélet J.A., Cerimele E.L., Re M.S., Henning C.P., 1996.** Antimicrobial activity of some essential oils against *Paenibacillus* larvae, the causal agent of American Foulbrood disease, J. Herbs, Spices and Med.Plants 4, 9–16.
- Anonyme, 2008.** Maladies, Ravageurs et désordres de la pomme de terre, Paris, 190P.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential oils. *Rev: Food. Chem.Toxicol.* 46: 446–475.
- Balandrin, M. F., Kjocke, A., J. & Wurtele., 1985.** Natural Plant chemicals sources of Industrial and mechanical materials. *Science*, 228, pp. 1154-1160.
- Bauer, K., Garbe, D., & Suburg, H., 2001.** *Common Fragrance and Flavor Materials : Preparation, Properties and Uses*, Weinheim : Wiley-VCH, 293P.
- Benjilali B, Tantaoui-Elaraki A, Ismaili-Alaoui M, Ayadi A., 1986.** Méthode d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plant Médicinal Phytotherapy.* 20 : 155-167.
- Bernhards U., 1998.** La pomme de terre *Solanum tuberosum L.* Monographie. Institut National Agronomique Paris – Grignon.
- Boumlik M., 1995.** Systématique des spermaphytes. Edition Office des Publications Universitaires. Ben AKnoun (Alger). 80P.
- Bradbury, J.F., 1986.** *Erwinia*. In : Guide to plant pathogenic bacteria, CAB International, Wallingford, Royaume-Uni. pp. 61-79.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Edition Technique et documentation, 3^{ème} Edition Lavoisier, Paris. 1120P.
- Brut, S., 2004.** *Int. J. Food Microbiol*, 94 : 223-253.
- Canler J-P., 2005.** Dysfonction biologiques des stations d'épuration : origine et solutions. Groupe *GisBiostep*. Doc & Tech. FNDAE n°33 pp. 100-104.
- Camille Delarras, 2008.** Microbiologie pratique pour le laboratoire, paris, pp. 107-476.
- Carson C.F., Mee B.J. & Riley T.V., 2002.** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46: 1914–1920.

Références et bibliographiques

- Carson, J. W., Carson, K. M., Gil, K. M., & Baucom, D. H., 2006.** Mindfulness-based relationship enhancement (MBRE) in couples. In R. A. Baer (Ed.), *Mindfulness-based treatment approaches: Clinician's guide to evidence base and applications*, pp. 309-331
- Charkowski, A.O., 2006.** The soft rot *Erwinia*. In, *Plant-associated bacteria*. Springer, pp. 423-505.
- Charkowski A.O., 2009.** Decaying signals: will understanding bacterial–plant communications lead to control of soft rot? *Current Opinion in Biotechnology* 20, 178-184.
- Chatterjee, A., Cui, Y., and Chatterjee, A.K., 2002.** Regulation of *Erwinia* hrpLEcc (sigma-LEcc), which encodes an extracytoplasmic function subfamily of sigma factor required for expression of the HRP regulon. *Mol. Plant-Microbe Interact.* P.15 : 971-80.
- Cirat et Gret., 2002.** Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement - Groupement de recherche et d'échange technologique. MEMENTO de l'agronome .Ed. GRET-CTA , pp. 854-858.
- and *Erwinia carotovora* strains to decay of potato tubers in storage. *Plant Dis* 66 : 543-6.
- Cox, A., Lonsdale, C., Ireland, P., Sanderson, J. and Watson, G., 2001.** *Supply Chains, Markets and Power: Mapping Buyer and Supplier Power Regimes*. Routledge, London.
- Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.F., Warmington J.R. et Wyllie S.G., 2000,** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil), *Journal of Applied Microbiology*, p:170-175.
- Czajkowski, R., Ozymko, Z., and Lojkowska, E., 2013.** Isolation and characterization of novel soilborne lytic bacteriophages infecting *Dickeya* spp. biovar 3 (*D. solani*). *Plant Pathol.* 63 : 758–772.
- Czajkowski, R., Perombelon, M.C.M., van Veen, J.A., and van der Wolf, J.M., 2011.** Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species : a review. *Plant Pathology* 60 : 999-1013.
- Czajkowski, R., Ozymko, Z., Zwirowski, S., and Lojkowska, E., 2014.** Complete genome sequence of a broad-host-range lytic *Dickeya* spp. bacteriophage D5. *Arch. Virol.* 159 : 3153-3155.
- Davidson P.M., 1997,** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial, *Food Technology*, p:148-155.
- Delaquis P. J., Stanich K., Girard B., Mazza G., 2002.** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and *eucalyptus essential* oils. *Int. J. Food Microbiol.* 74, 101–10910.
- Dickey, R.S., H.Z., C., and K.U., J., 1984.** *Erwinia chrysanthemi*: Serological relationships among strain from several hosts. *Phytopathology*, 11 : 1388-1394.

Références et bibliographiques

- Djenane D., J. Yanguela, L. Montanés, M. Djerbal and P. Roncales, 2011.** *Antimicrobial activity of Pistacia lentiscus and Satureja montana essential oils against Listeria monocytogenes CECT 935 using laboratory media ; efficacy and synergistic potential in minced beef.* Food Control, **22**, 1046-1053.
- Dore C., Varoquaux F., 2006.** Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. INRA. 840P.
- Dorman H. J. D. et Deans S. G., 2000.** Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils, pp : 308-316.
- Duraffourd C., D’Hervicourt L. et Lapraz J. C., 1990.** Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2^{ème} éd. Masson, Paris.
- During, K., Porsch, P., Fladung, M., and Lorz, H., 1993.** Transgenic potato plants resistant to the phytopathogenic bacterium *Erwinia carotovora*. Plant J. 3: 587–598.
- Dye, D., 1969.** A taxonomic study of genus *Erwinia carotovora* group. N. Z. J. Sci. 12 : 81P.
- Hammer, M. F., D. Garrigan, E. Wood, J. A. Wilder, Z. Mobasher, A. Bigham, J. G. Krenz, and M. W. Nachman., 2004.** Heterogeneous patterns of variation among multiple human X-linked loci: the possible role of diversity-reducing selection in non-Africans. Genetics 167 : 1841–1853.
- Gill A.O., Delaquis P., Russo P., and Holley R.A., 2002.** Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. Int. J. of Food Microbiology, 73, 83 – 92.
- Hawkes J G., 1990.** The potato. Evolution, biodiversity and genetic resources. Londres : Belhaven Press. 259P.
- Helias, V., Le Roux, A.C., Bertheau, Y., Andrivon, D., Gauthier, J.P., and Jouan, B., 1998.** Characterisation of *Erwinia carotovora* subspecies and detection of *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* in potato plants, soil and water extracts with PCR-based methods. European journal of plant pathology / European Foundation for Plant Pathology 104 : 685-699.
- Hélia, V., 2008.** *Pectobacterium spp.* et *Dickeya spp.* de la pomme de terre : nouvelle nomenclature pour *Erwinia spp.*, symptomatologie, épidémiologie et prophylaxie, C. Agricultures, 4 : 349-354.
- Hélias V., Andrivon D., Jouan B., 2000.** Development of symptoms caused by *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* under field conditions and effects of these symptoms on the yield of individual potato plants. *Plant Pathology* 49 : 23-32.
- Howarth F. G. 1991.** Environmental impacts of classical biological control. Annual Review of Entomology 36:485–509.
- Insart H., 1972.** Rapport d’homologation des variétés de pomme de terre I.T.C.M.I staoueli.
- Kalemba, D. & Kunicka, A., 2003.** Antibacterial and antigungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 10, 813-829.

Références et bibliographiques

- Kamysz, W., Krolicka, A., Bogucka, K., Ossowski, T., Lukasiak, J., and Lojkowska, E., 2005.** Antibacterial Activity of Synthetic Peptides Against Plant Pathogenic *Pectobacterium Species*. *J. Phytopathol.* 153 : 313–317.
- Kassi FM., Badou OJ., Tonzibo ZF., Salah Z., Lndge A. & Kone D., 2014.** Action du fongicide naturel NECO contre la cercosporiose noire (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) chez le bananier plantain (AAB) en Côte d’Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* ,75: 6183– 6191.
- Kastelein, P., Schepel, E.G., Mulder, A., Turkensteen, L.J., and Van Vuurde, J.W.L., 1999.** Preliminary selection of antagonists of *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* (Van Hall) Dye for application during green crop lifting of seed potato tubers. *Potato Res.* 42 : 161-171.
- Kenneth S., 1966.** Plants de pomme de terre, sources d’approvisionnement et traitement édit. I.C.N.P.D.T la Haye.
- Kleinkopf G.E., 1983.** Potato in crop-Water relation. TEARE ID : 287-305.
- Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, N., Weigand, N. and Weis, H.M., 1989.** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research* **1**, 119–128.
- Langenheim JH. 2003.** Plant resins. Chemistry, evolution, ecology and ethnobotany. Portland, Cambridge: Timber Press.
- Latour, X., Faure, D., Diallo, S., Cirou, A., Smadja, B., Dessaux, Y., and Orange, N., 2008.** Lutte contre les maladies bactériennes de la pomme de terre dues aux *Pectobacterium spp.* (*Erwinia carotovora*). *Cah. Agric.* 17 : 355–360.
- Leliott R.A. & Dichey R.S., 1984.** *Erwinia*. In : krieg and Holt, Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, USA. 1, 469-476.
- Leroux P., 2003.** Mode of action of agrochemicals towards plant pathogens. *Comptes Rendus de Biologies* 326 : 9-21.
- Lori, A., Di Giulio, A., De Felici, S., 2005.** Zecche d’Italia, Rolando, Napoli.
- Lyon, G.D., 1989.** The biochemical basis of resistance of potatoes to soft rot *Erwinia spp.* : a review. *Plant Pathol.* 38 : 313–339.
- Marino G, Di Marco P, Mandich A, Cataudella S., 2001.** Change in plasma cortisol, metabolites, osmotic pressure and electrolytes in response to different blood sampling procedures in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *J Appl Ichthyol* 17 : 115-120.
- Mills, A.A.S., (Bud) Platt, H.W., and Hurta, R.A.R., 2006.** Sensitivity of *Erwinia spp.* to salt compounds in vitro and their effect on the development of soft rot in potato tubers in storage. *Postharvest Biol. Technol.* 41 : 208–214.

Références et bibliographiques

- 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.
- Naika S, Juede J, Goffau M, Hilmi M, Dam V., 2005.** “ Cultivation of Tomato” Production, processing and marketing, Agromisa/ CTA. Revised edition, 2005 Agrodok- series No 17.
- Okoh, O. O., 2010.** Chemical transformations and phytochemical studies of bioactive components from extracts of *rosmarinus officinalis* L. A thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy, 198P. Faculty of Science and Agriculture at the University of Fort Hare.
- Ordax, M., Marco-Noales, E., López, M.M., and Biosca, E.G., 2006.** Survival strategy of *Erwinia amylovora* against copper: induction of the viable-but-nonculturable state. *Appl. Environ. Microbiol.* 72 : 3482–3488.
- Oussou K. R., Yolou S. F., Tue Bi B., Kanko C., Boti J. B., Ahibo C., J. Casanova., 2010.** Étude Chimique Bio-Guidée de l’huile Essentielle de *Ocimum Gratissimum* (*Lamiaceae*) *Eur. J. Sci. Res.* ; 40 ; 50-59.
- Pence, A.G., Fritz, R., Del valle, C., Roura, S.I.J., 2003.** *Lebensm.-Wiss-u.-Technol.* 36 : 679-684.
- Pérombelon M.C.M., 1972.** The extent and survival of contamination of potato stocks in Scotland by *Erwinia carotovora* var. *carotovora* and *Erwinia carotovora* var *atroseptica*. *Annals of Applied Biology* 71, 111-117.
- Pattnaik, VR., Subramanyam, M., Baapji, C.R., Kole, 1997.** Antibacterial and antigungal activity of aromatic of assential oils *Microbios*, 89, pp. 39-46.
- Pérombelon MCM., 1992b.** Diversity in *Erwinias* as plant pathogens. In: INRA, ed. *Plant Pathogenic Bacteria, Versailles*, pp. 113-28.
- Pérombelon, M.C.M., 2002.** Potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology* 51 : 1-12.
- Pérombelon M.C.M., Hyman L.J., 1995.** Serological methods to quantify potato seed contamination by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *EPPO Bulletin* 25, 195-202.
- Pérombelon M.C.M., Kelman A., 1980.** Ecology of the soft rot *Erwinias*. *Annual Review of Phytopathology* 18, 361-87.
- Pérombelon M.C.M., Kelman A., 1987.** Blackleg and other potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: a proposal for a revision of the terminology. *Plant Disease* 71, 283-5.
- Péron J Y., 2006.** Références productions légumières, 2ème édition. synthèse Agricole p 538-547.

Références et bibliographiques

- Pezet R., Viret O. et Gindro K., 2004.** Plant-microbe interaction: the Botrytis grey mould of grapes-biology, biochemistry, epidemiology and control management. In: Advances in Plant Physiology (Hemantaranjan A., ed), Scientific publishers, Jodhpur, India, 7, 71-116.
- Quézel P. Santa, S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .Ed .C.N.R.S, Paris, 117 P.
- Raoul des Essarts, Y., 2015.** Pathogénie de *Dickeya dianthicola* et *Dickeya solani* chez *Solanum tuberosum*, développement et évaluation de stratégie de lutte biologique. Thèse de doctorat, Université Paris sud, France, 153 P.
- Regnault- Roger C., 2012.** Trends for Commercialization of Biocontrol Agent (Biopesticide) Products. Plant Defense Biological control. 12 : 139- 60.
- Romdhani M.E., 1994.** Les espèces et sous-espèces pectinolytiques d'*Erwinia* inféodées à la pomme de terre en Tunisie. Thèse de doctorat en Sciences Biologiques Appliquées, Gent. 344p.
- Rousselle P., Robert Y., Crosnier J C., 1996.** La pomme de terre-Production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. 1 éd. Paris : INRA Editions, 278 P.
- Rousselle P., Rousselle B., Ellisseche D., 1992.** La pomme de terre in Amélioration des espèces végétales cultivées. Gallais A., Bammerot H.1992.
- Seigler, D. S., 1998.** *Plant Secondary Metabolism*. Dordrecht : Kluwer, 759 P.
- Senatore F., 1996.** Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (southern Italy). *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 1327-1332.
- Sharga, B.M. and Lyon, G.D., 1998.** *Bacillus subtilis* BS 107 as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria. *Can. J. Microbiol.* 44 : 777-783.
- Sikkema, J., J. A. M. Bont and B. Poolman., 1995.** Mechanisms of membranes toxicity of hydrocarbons. *Microbiol. Rev.*, 59: 201-222.
- Soltner D., 2005.** Les grandes productions végétales, phytotechnie spéciale-céréales-plantes sarclées-prairies .Collection Sciences et Techniques Agricoles 20eme édition 472P.
- Toth, I.K., Kenneth S. Bell, Maria C. Holeva and Paul R. J. Birch., 2003.** Soft rots *Erwiniae* : from genes to genomes. *Mol. Plant. Pathol.*, 4 (1) : 17-30.
- Xue, A.G., Chen Y., Voldeng H.D., Fedak G., Savard M .E., Langle T ., Zhang J. & Harman G .E., 2014.** Concentration and cultivar effects on efficacy of CLO-1 biofungicide in controlling Fusarium head blight of wheat. *Biological Control*, 73: 2-7.

Références et bibliographiques

- Yaganza, E.-S., Rioux, D., Simard, M., Arul, J., and Tweddell, R.J., 2004.** Ultrastructural alterations of *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* caused by treatment with aluminum chloride and sodium metabisulfite. *Appl. Environ. Microbiol.* 70 : 6800–6808.
- Yaganza, E.S., 2005.** Utilisation post-récolte de sels organiques et inorganiques pour lutter contre la pourriture molle de la pomme de terre : base physico-chimique, F. Université Laval, 3 : 56-63.
- Valnet J., 1984.** Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544
- Van der Wolf J.M., de Boer S.H., 2007.** Bacterial pathogens of potato. In : Vreugdenhil D (Ed.), *Potato biology and biotechnology. Advances and Perspectives.* pp. 595-619.
- Wan J., Wilcock A. and Coventry M.J., 1998.** The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* 84: pp. 152-158.
- Wendakoon C. N. et Sakaguchi M., 1995.** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices, *Journal of Food Protection* 58, p. 280-283.
- Zani F., Massimo G., Benvenuti S., Bianchi A., Albasini A., Melegari M., Vampa G., Bellotti A., Mazza P., 1991.** Studies on the genotoxic properties of essential oils with *Bacillus subtilis* rec-assay and *Salmonella*/microsome reversion assay. *Planta Med.* ; 57 : 237-241.

Site d'internet

- (1) : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/19559/VigiHorti-Erwinia-amylovora-feu-bacterien/> consulté le 24/05/2017.
- (2) : <http://dictionnaire.sensagent.leparisien.fr/Erwinia/fr-fr/> consulté le 24/05/2017.
- (3) : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/19559/VigiHorti-Erwinia-amylovora-feu-bacterien/> consulté le 26/05/2017.

Annexes

Annexe 1**Le milieu de culture**

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

❖ Milieu de gélose LPGA (Levure Peptone Glucose Agar) :

Extrait de levure	5g.
Peptone.....	5g.
Gélose ou Agar Agar.....	20g.
Glucose.....	10g.
Eau distillée.....	1L.
pH finale.....	6.8.

❖ Milieu HL (Hugh et Leifson)

Bacto peptone.....	1g.
NaCl.....	2.5g.
KH ₂ PO ₄	0.15g.
Glucose.....	5g.
Bleu de bromothymol(BBM).....	0.015g.
Eau distillée.....	500mL.
pH finale.....	7.

❖ Milieu de MH (Mueller-Hinton)

Hydrolysât acide de caséine.....	17.5g.
Infusion de viande.....	2g.
Amidon soluble.....	1.5g.
Agar Agar bactériologique.....	17g.
Eau distillée.....	100mL.
pH finale.....	7.4.

Annexe 2

Analyse De Variance

Tableau 10 : Activité antibactérienne d'huile d'Eucalyptus sur la souche BOU1.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	3576,875	39	91,715				
VAR.FACTEUR 1	1507,525	3	502,508	8,533	0,00029		
VAR.FACTEUR 2	148,225	1	148,225	2,517	0,11862		
VAR.INTER F1*2	36,625	3	12,208	0,207	0,0308		
VAR.RESIDUELLE 1	1884,5	32	58,891			7,674	33,92%

Tableau 11 : Activité antibactérienne d'huile d'Eucalyptus sur la souche MA1.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	285,334	39	7,316				
VAR.FACTEUR 1	141,419	3	47,14	12,025	0,00002		
VAR.FACTEUR 2	9,506	1	9,506	2,425	0,12541		
VAR.INTER F1*2	8,969	3	2,99	0,763	0,02628		
VAR.RESIDUELLE 1	125,44	32	3,92			1,98	22,15%

Tableau 12 : Activité antibactérienne d'huile d'Eucalyptus sur la souche SA.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	27,516	39	0,706				
VAR.FACTEUR 1	8,317	3	2,772	4,846	0,00692		
VAR.FACTEUR 2	0,827	1	0,827	1,445	0,23655		
VAR.INTER F1*2	0,067	3	0,022	0,039	0,04905		
VAR.RESIDUELLE 1	18,306	32	0,572			0,756	11,38%

Tableau 13 : Activité antibactérienne d'huile d'Eucalyptus sur la souche SOL.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	107,348	39	2,752				
VAR.FACTEUR 1	26,886	3	8,962	3,791	0,0195		
VAR.FACTEUR 2	2,233	1	2,233	0,944	0,34026		
VAR.INTER F1*2	2,587	3	0,862	0,365	0,0158		
VAR.RESIDUELLE 1	75,642	32	2,364			1,537	21,80%

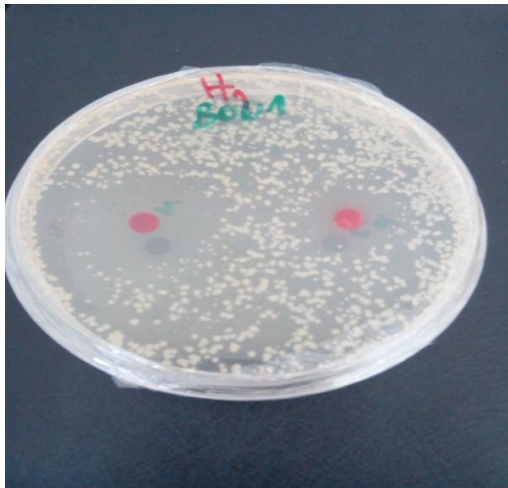


Figure 15 : Diamètre d'inhibition d'HE de Tea tree sur souche bactérienne à Gram+ (*Bccilus sp.*)



Figure 16 : Diamètre d'inhibition d'HE de Tea tree sur souche bactérienne à Gram- (*Bccilus sp.*)



Figure 17 : Diamètre d'inhibition d'HE de Clou de girofle sur souche bactérienne à Gram+ (*Bccilus sp.*)



Figure 18 : Diamètre d'inhibition d'HE de Clou de girofle sur souche bactérienne à Gram- (*Pectobacterium sp.*)

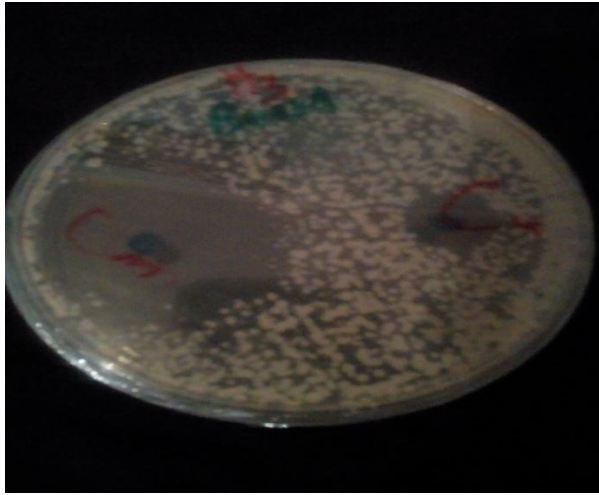


Figure 19 : Diamètre d'inhibition d'HE d'*Eucalyptus globulus* sur souche bactérienne à Gram+ (*Bacillus sp.*)

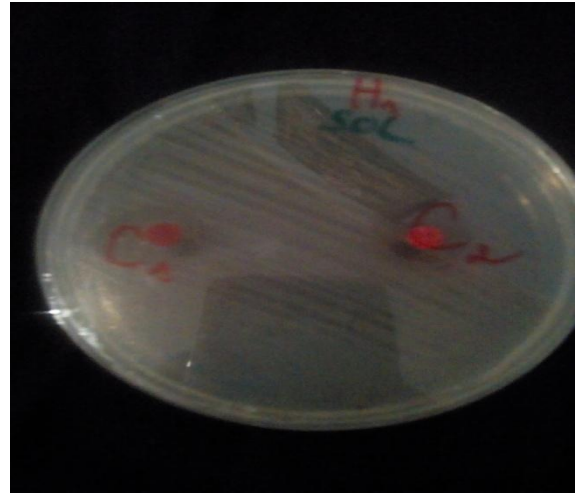


Figure 20 : Diamètre d'inhibition d'HE d'*Eucalyptus globulus* sur souche bactérienne à Gram- (*Pectobacterium sp.*)