

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET  
DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Science Agronomique

Spécialité/Option : Phytopathologie et Phytopharmacie

---

**EFFET ANTAGONISTE DE QUELQUE SOUCHE ISOLEES à PARTIR  
DES SOLS SUR *ERWINIA* SPP.**

---

Présenté par :

\*GHARSI Naziha.

\*SEKEFALI Houda.

Devant le jury :

Président (e) : M<sup>me</sup> ALLIOUI N (M.A.A)

Université de Guelma

Examineur : M<sup>me</sup> AZOUZ F(M.A.A)

Université de Guelma

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

Université de Guelma

Juin 2015

## Remerciements

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

*Nous tenons à remercier sincèrement et profondément notre encadreur chargé de cours à l'université de Guelma ,de bien vouloir diriger ce travail pour ses précieux conseils.et pour avoir approfondi notre connaissance par la mise à notre disposition de sa riche documentation ses bonnes orientations .*

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

*Enfin, nous tenons à exprimer tout notre reconnaissance et notre remerciement à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## **DÉDICACE**

**JE DÉDIE CE TRAVAIL DE MÉMOIRE DE MON PÈRE QUI SONT À  
LAISSER UNE GRANDE ENCOURAGEMENT POUR LA CONTINUITÉ DE MA  
CYCLE D'ÉTUDE.**

**JE LE DÉDIÉ À LA FEMME LA PLUS CHÈRE DU MONDE, LA PLUS  
PROCHE DE MON CŒUR « MA MÈRE »  
QUE DIEU LA GARDE POUR MOI,**

**JE LE DÉDIÉ À MA PROCHE HOMME(MON MARIE HOUCIN, QUI DONNE-  
MOI LA LE COURAGE ET LE SOUTIENT MORALE POUR CONTINUER MON  
ÉTUDE EN FUTURE.**

**À MES PROCHE FRÈRES ET SCEURS: NOURA, NOUR ADDINE, WARDA,  
HOURLA,SALIMA, MALIKA, WAHIDA, FAHIMA, AINSI LEURS ENFANTS.**

**JE LE DÉDIÉ À ABD AL HAMID, RAZIK, GHANI, AZIZ, MOHAMED.**

**JE LE DÉDIÉ À MON DEUX EME FAMILLE.**

**JE REMERCÉ BEAUCOUP PLUS MA CHÈRE NOURA ET LA PLUS  
PROCHE ZEYNEB, SOUHILA, CHAIMA, MAISSA, NOUSSA, SONDAS, AICHA,  
HOUDA, HOUDA (MON BINÔME), IMEN, AMEL, WAFI, NABILA, KALTHOUM.  
À TOUS QUE J'AIME ET QUI M'AIMENT.**

**MERCI**

**NAZIHA.**

## DÉDICACE

JE DÉDIE CE TRAVAIL DE MÉMOIRE A MON PÈRE QUI SONT A  
LAISSER UNE GRANDE ENCOURAGEMENT POUR LA CONTINUITÉ DE MA CYCLE  
D'ÉTUDE.

JE LE DÉDIÉ À LA FEMME LA PLUS CHÈRE DU MONDE, LA PLUS PROCHE DE  
MON CŒUR « MA MÈRE »

QUE DIEU LA GARDE POUR MOI,

JE LE DÉDIÉ A MA GRAND-MÈRE JAMAA

À MES PROCHE MON FRÈRES ET MA SŒURS: DJALEL, AMIRA

JE LE DÉDIÉ À MENDER, ARIDJE, YAHYA, SOUNDES, TAKWA .

JE LE DÉDIÉ À MA PROCHE HOMME MON FIANCÉ FATEH, QUI DONNE-MOI LÀ LE  
COURAGE ET LE SOUTIENT MORALE POUR CONTINUER MON ÉTUDE EN FUTURE

JE REMERCIÉ BEAUCOUP PLUS MA CHÈRE NZIHA (MON BINOME) ET  
LA PLUS PROCHE CHAHRA, HANA, ROMAISSA, IMAN ,KHADIJA ,BESMA, ,HASSINA  
A TOUS QUE J'AIME ET QUI M'AIMENT.

MERCI

HOUDA

## Sommaire

-Résumé.	
-liste des abréviations.	
-Liste des figures.	
-Liste des tableaux.	
-Introduction.....	P1

### Chapitre I : Etude bibliographique

-I- Le pathogène.....	P2
-I-A- Caractéristiques des bactéries Erwinia.....	P2
-I-B- Systématique.....	P2
-I-C- Différents espèces d'Erwinia.....	P3
-I-C-1- <i>Erwinia carotovora</i> .....	P3
-I-C- 1-a- Définition.....	P3
-I-C- 1-b- Systématique.....	P4
-I-C- 1-c- Sous espèces.....	P4
-I-C- 1-d- Symptômes.....	P4
-I-C-2- <i>Erwinia amylovora</i> .....	P10
-I-C-2-1- Définition.....	P10
-I-C-2-2- Caractéristique.....	P11
-I-C-2-3- Systématique.....	P11
-I-C-2-4- Cycle de la maladie.....	P11
-I-C-3- <i>Dickeya</i> spp.....	P15
-I-C-3-1- Définition.....	P15

-I-C--3-3-Plantes hôtes.....	P16
-I-C-3-4- Caractéristique.....	P16
-I-C-3-5- Action de Dickeya.....	P17
-I-C-3-6-La dissémination au champ.....	P17
-I-D- Rôle de dissémination.....	P19
-I-D-1- Rôle du tubercule dans la transmission et la dissémination.....	P19
-I-D-2- Rôle du sol et de la rhizosphère.....	P20
-I-D-3- Transmission par l'eau et les aérosols.....	P21
-I-E- Principaux facteurs environnementaux et bactériens de la virulence.....	P22
-I-F-Méthode de lutte contre <i>Erwinia</i> .....	P24
-I-F-1-Lutte chimique.....	P24
-I-F-2- Lutte génétique.....	P25
-I-F-3- Lutte biologique.....	P27
-I-F-3-a- Définition.....	P27
-I-F-3-b- Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique.....	P27
-II-LES MICROORGANISMES UTILISER DANE LA LUTTE BIOLOGIQUE.....	P31
-II-A- <i>Pseudomonas</i> spp.....	P31
-II-A-1- Caractéristiques générales.....	P31
-II-A-2- DISTRIBUTION ECOLOGIQUE ET ROLE DU GENRE <i>PSEUDOMONAS</i> .....	P32
-II-A-2-a- DISTRIBUTION ECOLOGIQUE.....	P32
-II-A-2-b-LES <i>PSEUDOMONAS</i> SPP.FLUORESCENTS AGENTS DE BIOCONTROLE ET DE CROISSANCE DES PLANTES.....	P33
-II-A-2-c- Mécanismes d'antagonisme.....	P34
-II-B- <i>ASPERGILLUS NIGER</i> .....	P35

-II-B-1- Définition.....	P35
-II-B-2-Systématique.....	P35
-II-B-3-Écologie.....	P36
-II-B-4- Caractères cultureux et Aspects macroscopiques.....	P36
- II-B-5- Morphologie microscopique.....	P36
-II-C- <i>Aspergillus Flavus</i> .....	P37
-II-C-1- Caractères cultureux.....	P37
-II-C-2-Morphologie microscopique.....	P37
-II-D- <i>Trichoderma</i> .....	P39
-II-D-1- Généralité.....	P39
-II-D-2-Systématique .....	P39
-II-D-3- Caractère Macroscopique.....	P40
- II-D-4- Caractère Microscopique.....	P40
-II-E- <i>Penicillium</i> .....	P41
-II-E-1- Généralité.....	P41
-II-E-2- Caractères Macroscopique.....	P41
-II-E-3- Caractères Microscopique.....	P43
-II-F- Actinomycètes.....	P43
-II-F-1- Généralité.....	P43
-II-F-2-Caractères morphologiques.....	P44

### Chapitre II : Matériels et méthodes

-I-Origin des souches.....	P45
-II-Test de confirmation .....	P46
-II-A- <i>ERWINIA</i> .....	P46
-II-A-1-Coloration de gram .....	P46
-II-A-2- Test d'oxydase.....	P48
-II-A-3-Test de la catalase.....	P49
-II-A-4- Test de hugh leifson.....	P50
-II-B- Champignon.....	P51
-II-B-1- Test confirmatif des souches des champignons.....	P51
-II-B-2- Méthode de préparation de lame pour observation microscopique.....	P51

-III- Confrontation.....	P51
-III-A- Erwinia- Champignon.....	P51
-III-B-Erwinia-Pseudomonas.....	P51
-III-C-Erwinia –Actinomycète.....	P51

### **Chapitre III : résultats et discussion**

-I-Test de confirmation.....	P52
-I-A-ERWINIA.....	P52
-I-A-1- Coloration de gram.....	P52
-I-A-2- test d’oxydase.....	P52
-I-A-3-Test de la catalase.....	P52
- I-A-4- Test de hugh leifson.....	P52
-I-B- champignon.....	P54
-I-B-1- <i>Aspergillus Niger</i> et <i>A. Flavus</i> .....	P54
-I-B-2- <i>Trichoderma</i> .....	P54
-I-B- <i>Penicillium</i> .....	P54
-II-Résultat de confrontation.....	P56
-II-A-Erwinia-Aspergillus.....	P56
-II-B-Erwinia-Trichoderma.....	P56
-II-C-Erwinia-Penicillium.....	P56
-II-D-Erwinia- Pseudomonas.....	P56
-II-E-Erwinia- Actinomycète.....	P56
<b>Conclusion</b> .....	<b>P58</b>
<b>Références Bibliographiques</b> .....	<b>P59</b>

### **Annexe**

## Liste des Abréviations :

<b>A :</b>	<i>Aspergilles.</i>
<b>ARNr :</b>	Acide ribonucléique messenger.
<b>Aw :</b>	Activité de l'eau.
<b>D. dianthicola :</b>	<i>Dickeya dianthicola.</i>
<b>D. Zeae :</b>	<i>Dickeya zae.</i>
<b>E.A :</b>	<i>Erwinia amylovora.</i>
<b>E.C :</b>	<i>Erwinia carotovora.</i>
<b>FDA :</b>	Food and Drug Administration.
<b>H L :</b>	Huge Lifson.
<b>H<sub>2</sub>O :</b>	Eau.
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :</b>	Eau oxygénée.
<b>ISR:</b>	induced systemic resistance.
<b>KB:</b>	milieu B de King.
<b>LNPV :</b>	Laboratoire national de la protection des végétaux.
<b>M H :</b>	Muller Hinton.
<b>NO<sub>3</sub>:</b>	Nitrates.
<b>O<sub>2</sub> :</b>	Oxygène.
<b>P :</b>	<i>Pseudomonas.</i>
<b>P.a :</b>	<i>Pectobacterium atrosepticum.</i>
<b>P.C :</b>	<i>Pectobacterium Carotovora.</i>
<b>PDA:</b>	potato dextrose agar.
<b>PGPR :</b>	Plant Growth Promoting Rhizobacteria.
<b>PH :</b>	potentiel d'hydrogène.

## Liste des Figures :

<b>Figure 1</b> : Tubercules infectés par <i>Erwinia carotovora</i> subsp.....	P5
<b>Figure 2</b> : Symptôme de jambe noire.....	P6
<b>Figure 3</b> : Symptôme des jaunissements et flétrissements.....	P6
<b>Figure 4</b> : Pourriture molle et humide causé par <i>Pectobacterium sp</i> .....	P7
<b>Figure 5</b> : Pourritures dures lenticellaires.....	P7
<b>Figure 6</b> : Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne.....	P8
<b>Figure7</b> : Cycle du feu bactérien des Maloïdées.....	P11
<b>Figure8</b> : cycle biologique d' <i>Erwinia amylovora</i> .....	P12
<b>Figure9</b> : Symptômes du feu bactérien sur poirier.....	P13
<b>Figure10</b> : Dégâts dus à <i>Dickeya</i> .....	P17
<b>Figure11</b> : <i>Pseudomonas</i> aspect macroscopique.....	P38
<b>Figure 12</b> : <i>Aspergillus Niger</i> aspect macroscopique.....	P38
<b>Figure 13</b> : <i>Aspergillus Niger</i> aspect microscopique.....	P38
<b>Figure14</b> : <i>Aspergillus Flavus</i> aspect macroscopique.....	P38
<b>Figure15</b> : <i>Aspergillus Flavus</i> aspect microscopique.....	P38
<b>Figure16</b> : <i>Trichoderma</i> aspect macroscopique.....	P42
<b>Figure17</b> : <i>Trichoderma</i> aspect microscopique.....	P42
<b>Figure 18</b> : Caractères du thalle de genre <i>Penicillium</i> .....	P42
<b>Figure 19</b> : <i>Penicillium</i> Aspect microscopique.....	P42
<b>Figure20</b> : Coloration de gram.....	P53
<b>Figure21</b> : Test d'oxydase.....	P53

<b>Figure 22</b> : Test de catalase.....	P53
<b>Figure 23</b> : Test de hugh leifson.....	P53
<b>Figure24</b> : <i>AspergillusNiger</i> Aspect microscopique.....	P55
<b>Figure25</b> : <i>Aspergillus Flavus</i> Aspect microscopique.....	P55
<b>Figure26</b> : <i>Trichoderma</i> aspect microscopique.....	P55
<b>Figure27</b> : <i>Penicillium</i> aspect microscopique.....	P55
<b>Figure 28</b> : Erwinia-Aspergillus Niger.....	P57
<b>Figure 29</b> : Erwinia-Aspergillus Flavus.....	P57
<b>Figure30</b> : Erwinia-Trichoderma.....	P57
<b>Figure31</b> : Erwinia-Penicillium.....	P57
<b>Figure32</b> : Erwinia- Pseudomonas.....	P57
<b>Figure33</b> : Erwinia- Actinomycète.....	P57

### **Liste des Tableaux :**

<b>Tableau 1 :</b> espèces, hôtes et symptômes du groupe Erwinia.....	P1
<b>Tableau 2:</b> Principaux pays producteurs de pommes en 2007.....	P9
<b>Tableau3:</b> agents de la lutte biologique utilisés pour la lutte contre des agents Phytopathogènes.....	P29
<b>Tableau4 :</b> Origine des souches .....	P45
<b>Tableau 5 :</b> Résultat des souches d'Erwinia avec les tests de confirmation.....	P54

# Introduction

---

## Introduction :

La pourriture molle est la plus importante maladie bactérienne de la pomme de terre à l'échelle mondiale, et les pertes économiques qui lui sont reliées peuvent être particulièrement importantes (**De Boer, 1994; Sharga et Lyon, 1998**). La maladie peut se propager en entrepôt à partir de quelques tubercules infectés au champ (**Ranganna et al., 1997; Stevenson et al., 2001**). Les semences et les sols infectés sont une importante source d'inoculum, et la propagation de l'infection au champ est facilitée par les eaux d'irrigation et de pluie. Les blessures mal cicatrisées, les lenticelles et le stolon des tubercules sont les principales portes d'entrée des bactéries responsables de cette maladie.

À ce jour, il n'existe pas de méthode de lutte efficace contre *Pectobacterium atrosepticum* et *Pectobacterium carotovorum*. Seules des mesures prophylactiques, basées sur une hygiène générale des exploitations et des semences ainsi que l'utilisation de pratiques culturales raisonnées et peu mécanisées, permettent de limiter les dégâts enregistrés (**Priou et Jouan, 1996**). Plusieurs microorganismes ont été utilisés dans le contrôle des maladies phytopathogènes (**Errakhi, 2008**) (**Tableau3**). Parmi les champignons les plus utilisés, nous pouvons citer *Trichoderma* spp. Ce dernier a été utilisé comme agents de lutte biologique contre un large spectre de pathogènes aussi bien telluriques que foliaire.

L'objectif de ce travail est de faire des essais de la lutte biologique en utilisant des champignons, *Pseudomonas* et actinomycètes.

Notre étude est subdivisée en deux parties :

-La première partie c'est de faire des tests de conformité pour *Erwinia*, et cela par des tests biochimiques classiques.

-La deuxième partie est consacré à la lutte biologique, et cela pour but de rechercher des souches qui peu inhibé *Erwinia*, pour être utilisé en ce mode de lutte, ce test est effectué in vitro sur milieu solide.

## I- Le pathogène :

### I-A- Caractéristiques des bactéries *Erwinia* :

Le genre *Erwinia* regroupe les bactéries phytopathogènes gram négatif aérobies facultatif. Ce genre fait partie de la famille Enterobactériacées, qui certaines également plusieurs genre pathogènes pour les mammifères et pour l'homme. Certaines espèces du genre *Erwinia* sont responsables d'importantes maladies des plantes ; tandis que d'autres jouent un rôle en tant qu'épiphytes non pathogènes (Semal, 1989).

Plusieurs espèces sont phytopathogènes (tableau. 01).

**Tableau 01 : espèces, hôtes et symptômes du groupe *Erwinia*.**

Espèces	Hôtes	Symptômes
<i>E. carotovora</i> pv. Carotovora	Carotte, navet, chou, oignon, céleri, tomate et pomme de terre.	Des pourritures.
<i>E. ananas</i> pv. Ananas.	Ananas.	Brunissement et nécrose des fruits.
<i>E. amylovora</i> .	Poirier, pommier et néflier.	Chancre de l'écorce et flétrissement.
<i>E. herbicola</i> pv .herbicola.	Plusieurs espèces de plantes.	Modification de la susceptibilité des plantes.
<i>E. stewartii</i> .	Mais.	Affection vasculaire ou le xylème est envahi par la bactérie.

### I-B- Systématique :

- **Règne :** Bacteria
- **Embranchement :** Proteobacteria
- **Classe :** Gammaproteobacteria
- **Ordre :** Enterobacterales
- **Famille :** Enterobacteriaceae
- **Genre :** *Erwinia*

### I-C- Différents espèces d'*Erwinia* :

#### I-C-1- *Erwinia carotovora* :

##### I-C- 1-a- Définition :

*Pectobacterium atrosepticum* est la nouvelle appellation d'*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* Répertoire dorénavant en espèce, *P. atrosepticum* est généralement associée au symptôme de la jambe noire de la pomme de terre dans les régions tempérées (**Pérombelon et Kelman, 1980**). Elle se développe préférentiellement entre 15 et 25 °C, entraînant des pourritures des tubercules et des tiges (**Pérombelon et Kelman, 1987**). En climat tempéré, la bactérie a pour hôte principal la pomme de terre (**Pérombelon et Kelman, 1980**) bien que des souches aient été occasionnellement isolées de tomates (**Barzic et al., 1976**), de choux chinois (**De Boer et al., 1987**) et de poivrons (**Stommel et al., 1996**). Des isolements de cette bactérie ont également été réalisés à partir de choux et navets malades cultivés à proximité de cultures de pomme de terre affectées par la jambe noire en Ecosse (**Pérombelon, 1992**). L'association préférentielle de *P. atrosepticum* à la pomme de terre peut être expliquée en termes de concordance entre les exigences écologiques de la bactérie et celles de cette culture (**Pérombelon, 1992**). *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum*

L'espèce *P. carotovorum* définie par Gardan et al., (**2003**) comprend deux sous-espèces, dont *P. carotovorum* subsp. *Carotovorum* (*P. c.* subsp. *carotovorum*), pathogène de la pomme de terre. *P. carotovorum*. subsp. *Carotovorum*, anciennement *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora* est distribué dans une aire géographique étendue, aussi bien dans les zones tempérées que tropicales et sur une gamme d'hôtes très large (**Pérombelon et Kelman, 1987**). Sur la pomme de terre, la bactérie s'exprime préférentiellement à des températures plus élevées que *P. atrosepticum*, allant de 20 à 30 °C (**Smith et Bartz, 1990**). Le symptôme de jambe noire, connu comme étant caractéristique de *P. atrosepticum* en conditions fraîches, peut également être provoqué par *P. c.* subsp. *carotovorum* lorsque les températures sont élevées (30-35 °C). Identifié aux États-Unis dans les années 1970, (**Stanghellini et Meneley, 1975 ; Molina et Harrison, 1977**), *P. c.* subsp. *Carotovorum* a été identifié plus récemment à partir de tels symptômes en Europe (**Hélias et al., 2006**). *P. c.* subsp. *carotovorum* est par ailleurs souvent l'agent associé aux pourritures aériennes des tiges probablement du fait de sa prédominance dans le sol, l'eau de pluie, les insectes et les aérosols (**Pérombelon et Kelman, 1987 ; De Boer, 1994**). De

même *P. c.* subsp. *Carotovorum* est majoritairement associé aux pourritures sur tubercules. Des travaux de caractérisation de souches bactériennes atypiques associées à des symptômes de jambe noire au Brésil (**Duarte et al., 2004**) ont conduit les auteurs à proposer une nouvelle sous espèce au sein de *P. carotovorum* : *Pectobacterium carotovorum* subsp. Des travaux d'hybridation d'ADN sont nécessaires pour valider cette dernière, dont la distribution semble restreinte à l'Amérique du Sud.

### I-C- 1-b- Systématique :

- **Règne :** Bacteria
- **Embranchement :** Proteobacteria
- **Classe :** Gamma Proteobacteria
- **Ordre :** Enterobacteriales
- **Famille :** Enterobacteriaceae
- **Genre :** *Pectobacterium* ou *Erwinia*
- **Espèce :** *Erwinia carotovora*

### I-C- 1-c- Sous espèces :

les sous espèces d'*Erwinia carotovora* se retrouvent fréquemment dans nos contrées :

- *Erwinia carotovora* spp. *atroseptica*, dont la t° idéale de développement se situe entre 18 et 24°C (mais elle se développe déjà à 3°C). Il s'agit de la jambe noire « classique ». Elle a été récemment rebaptisée « *Pectobacterium atrosepticum* »;

- *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* (24 à 34°C, et jusque 42°C): espèce plus opportuniste, saprophytique (qui se développe souvent comme infection secondaire dans les tissus affaiblis ou déjà attaqués). Elle porte maintenant le nom de « *Pectobacterium carotovorum* »;

### I-C- 1-d- Symptômes :

#### \*En végétation :

Les symptômes causés par les *Pectobacterium* spp. Pectinolytiques s'expriment en végétation et/ou en conservation « *E. carotovora* s'appelle *Pectobacterium* ». L'apparition et la nature des symptômes dépendent essentiellement des conditions environnementales (température, humidité). Les manques à la levée, résultant de la pourriture précoce du tubercule de semence ou de l'attaque des germes avant ou lors de l'émergence

(**Pérombelon et al. 1988**), peuvent s'observer rapidement après la plantation (**figure 1**). Le symptôme le plus typique est celui de la jambe noire, variant d'une pourriture humide brun foncé à noire de la base des tiges (**figure 2A**) à des nécroses plus ou moins sèches (**figure 2C**). Il est provoqué par les bactéries, qui, après avoir attaqué le tubercule mère, envahissent et dégradent une ou plusieurs tiges grâce à leur activité pectinolytique (**Pérombelon et Kelman, 1987**). Dans certains cas, seules des nécroses internes éventuellement doublées d'un phénomène de « tige creuse » se développent (**figure 2C**). L'extériorisation des symptômes peut débuter au niveau du point d'attache des feuilles sur la tige (**figure 2B**). Des jaunissements et/ou flétrissements du feuillage peuvent être associés à la jambe noire (**Figure 3**). Alors que des symptômes de macération et de pourritures des organes infectés ont tendance à se produire en conditions humides, des conditions chaudes et sèches favorisent le développement de nécroses sur les tiges et de flétrissements des feuilles (**Pérombelon et Kelman, 1987**). La jambe noire peut atteindre toutes les tiges d'une plante ou n'être localisée que sur quelques tiges, voire une seule. La pourriture aérienne correspond à toute lésion de la tige (**Pérombelon et Kelman, 1987**) débutant au-dessus du niveau du sol à la faveur d'une blessure ou suite à son contact avec le sol.

Les symptômes, similaires à ceux de la jambe noire, sont liés à des contaminations des tiges par les eaux de pluie et d'irrigation, le sol, les insectes ou les opérations culturales.

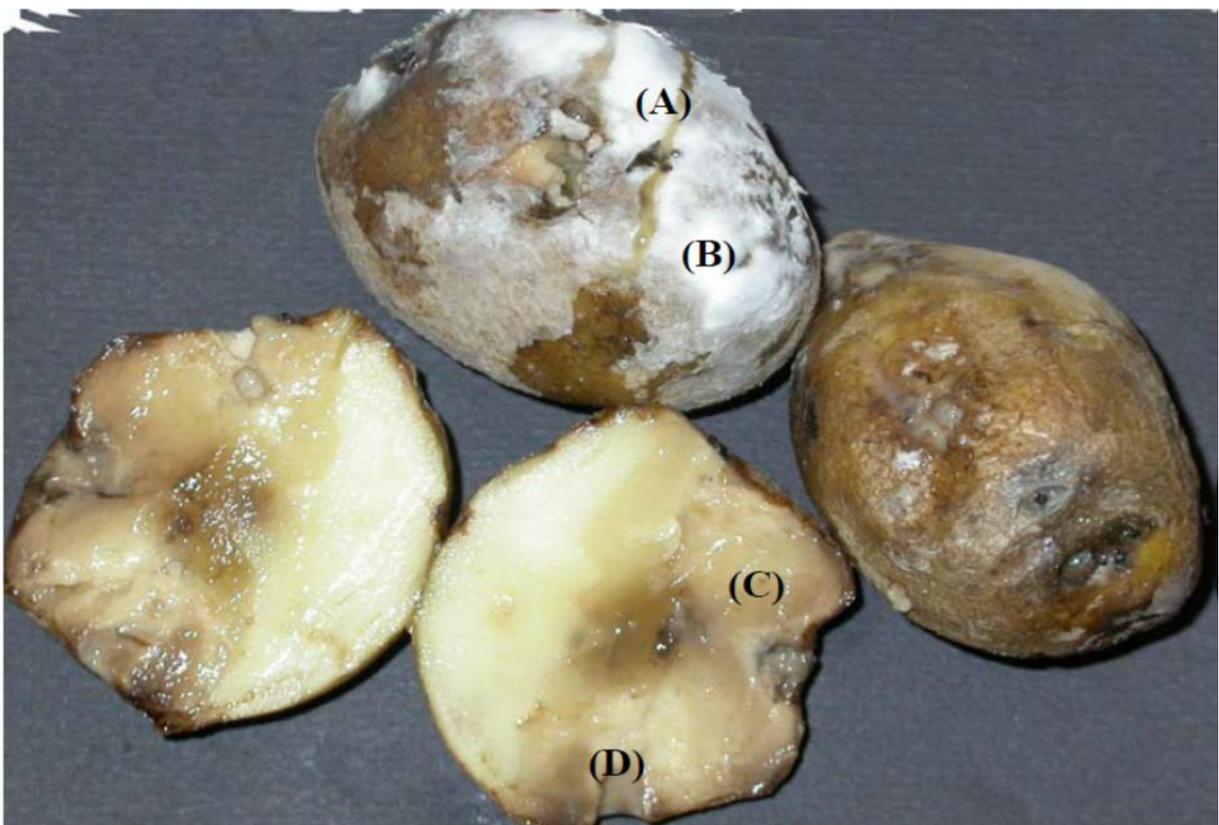
Hormis les conditions climatiques, le cultivar et la présence simultanée de plusieurs agents pathogènes influent sur le type de symptôme exprimé (**Pérombelon et Kelman, 1987**). Il faut par ailleurs prendre garde à ne pas confondre les flétrissements et enroulement-jaunissements liés à la jambe noire 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*.

### **\*Sur tubercules :**

Les tubercules peuvent également être atteints de symptômes qui se développent en cours de culture ou de conservation sous la forme de pourritures molles et humides souvent nauséabondes (**figure 4**). En conservation, les pourritures molles peuvent entraîner la contamination rapide des tubercules avoisinants.

Des bactéries pectinolytiques variées (*Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*) peuvent être impliquées dans la pourriture des tubercules en conservation, particulièrement lorsque les températures sont élevées (Campos et al., 1982 ; Pérombelon et Kelman, 1987), mais les *Pectobacterium spp* restent les agents les plus fréquents et les plus dommageables.

Dans le cas d'attaques localisées aux lenticelles, les pourritures sont qualifiées de lenticellaires (figure 5). Un séchage adéquat des tubercules peut toutefois bloquer leur développement. Les symptômes sont alors qualifiés de pourritures lenticellaires (De Boer, 1994).



**Figure 1** : Tubercules infectés par *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica* (Eca 709)

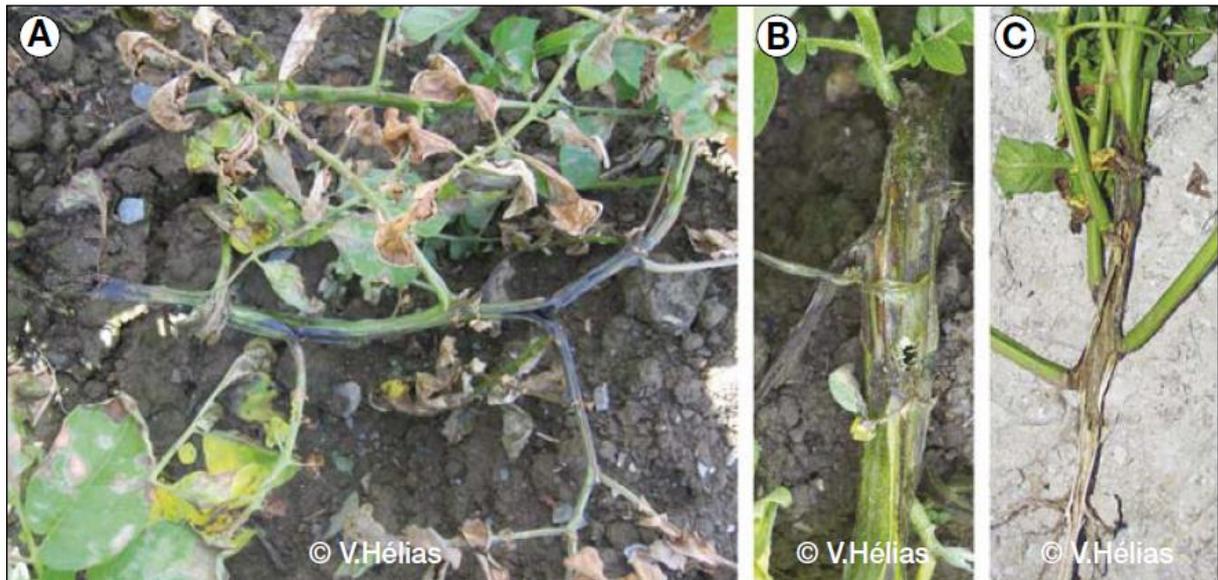
Après trois jours d'incubation à 24 °C (100% d'humidité relative)

(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.



**Figure 2** : Symptôme de jambe noire, variant de pourritures humides brun foncé à noire de la base des tiges à des nécroses plus ou moins sèches et/ou tiges creuses (**Pérombelon et Kelman, 1987**).



**Figure 3** : Symptôme des jaunissements et flétrissements dus à *Erwinia carotovora* subsp (**Pérombelon et Kelman, 1987**).



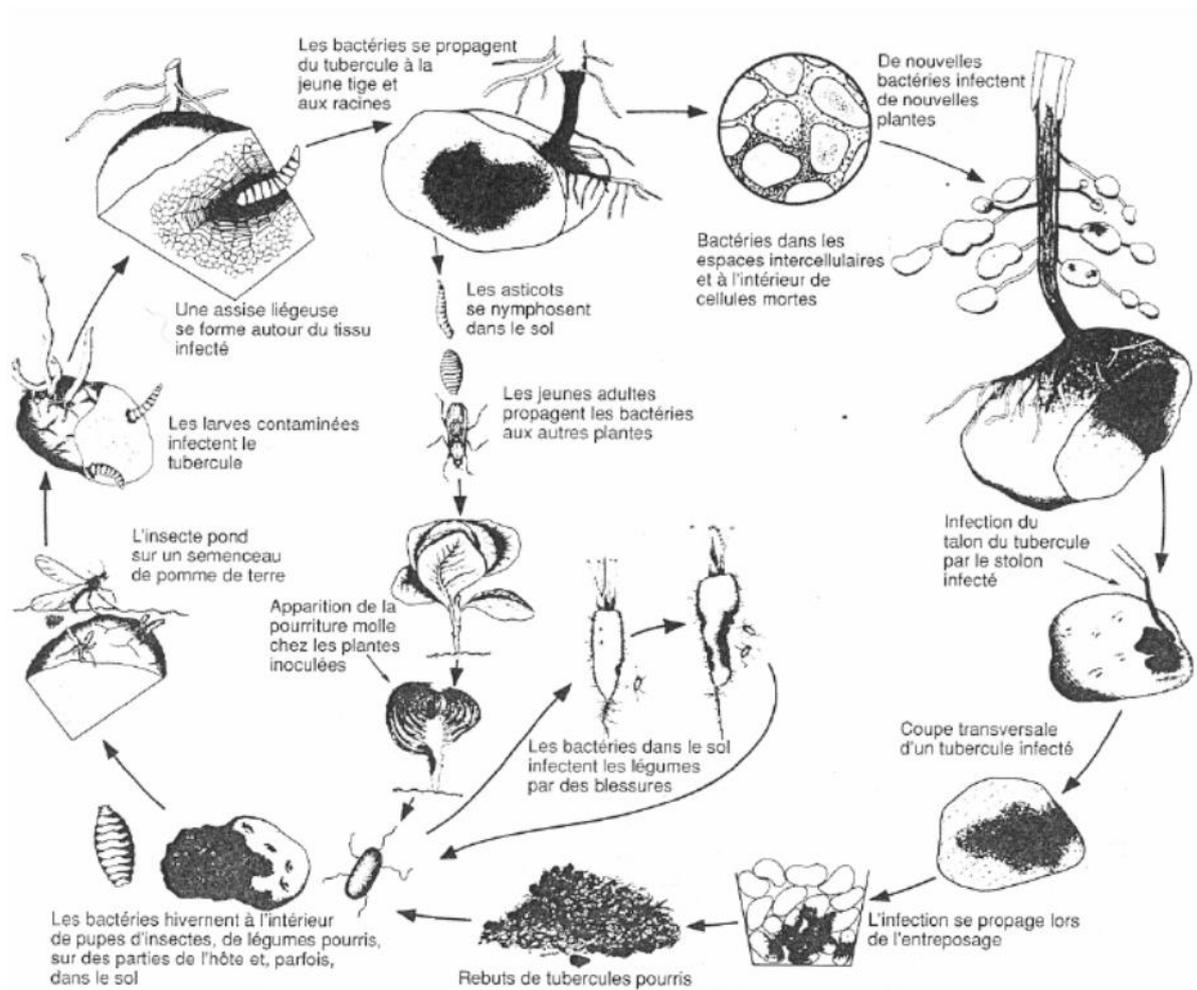
**Figure 4:** Pourriture molle et humide causé par *Pectobacterium sp* (Campos et al., 1982 ; Pérombelon et Kelman, 1987)



**Figure 5 :** Pourritures dures lenticellaires. (De Boer, 1994).

**I-C-1-e- Cycle de vie :**

La figure suivantes (figure : 06) représente le cycle de développement d'Erwinia carotovora et qui montre le manière de contamination et les types des plantes hôtes.



**Figure 6 :** Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne (Howard et al. 1994)

### **I-C-2- *Erwinia amylovora*:**

#### **I-C-2-1- Définition :**

Le feu bactérien a été décrit pour la première fois aux USA en 1780 et s'est étendu depuis sur tout le continent nord-américain, en Nouvelle-Zélande depuis 1920, en Europe en 1966 et sur le pourtour est méditerranéen. Cette maladie est maintenant présente dans 45 pays.

Elle atteint spécifiquement une tribu de la famille des Rosacées : les Maloïdées (arbres et arbustes ayant des fruits à pépins). Cette tribu regroupe des arbres fruitiers importants économiquement comme le pommier et le poirier, et des espèces ornementales comme l'aubépine et le Pyracantha. La pomme est l'un des fruits les plus consommés au monde après les agrumes, la banane et le raisin : en 2007, la production mondiale de pommes a atteint environ 64 millions de tonnes (contre 20 millions de tonnes pour les poires). Le premier producteur est la Chine, la France se situant au 7<sup>e</sup> rang (**tableau 2**).

**Tableau 2:** Principaux pays producteurs de pommes en 2007 [1].

<b>Pays</b>	<b>Production annuelle en milliers de tonnes</b>
Chine	27500
Etats-Unis	4237
Iran	2660
Turquie	2266
Italie	2072
Inde	2001
France	1800
Chili	1390
Argentine	1300
Brésil	1093
Pologne	1039
Allemagne	911
<b>Monde</b>	<b>64248</b>

### I-C-2-2- Caractéristique :

*Erwinia amylovora* est une entérobactérie mobile par ciliation péri triche (5 à 7 flagelles) ; elle se présente sous forme de cellules isolées ou associées par deux ; elle est oxydase négative et catalase positive. Elle se distingue des autres entérobactéries par son incapacité à se multiplier en anaérobiose et à réduire les nitrates en nitrites. Pour assurer sa croissance, la bactérie exige l'addition au milieu d'acide nicotinique (**Lelliott et Dickey, 1984**) ; son optimum de température se situe entre 25 et 27°C. Elle utilise le sorbitol et le mélibiose comme sources de carbone, l'isoleucine, la méthionine et la thréonine comme sources d'azote. Généralement les souches de *E. amylovora* sont sensibles au chloramphénicol, à l'oxytétracycline et à l'acide nalidixique (**Hauben et al., 1998**).

### I-C-2-3- Systématique :

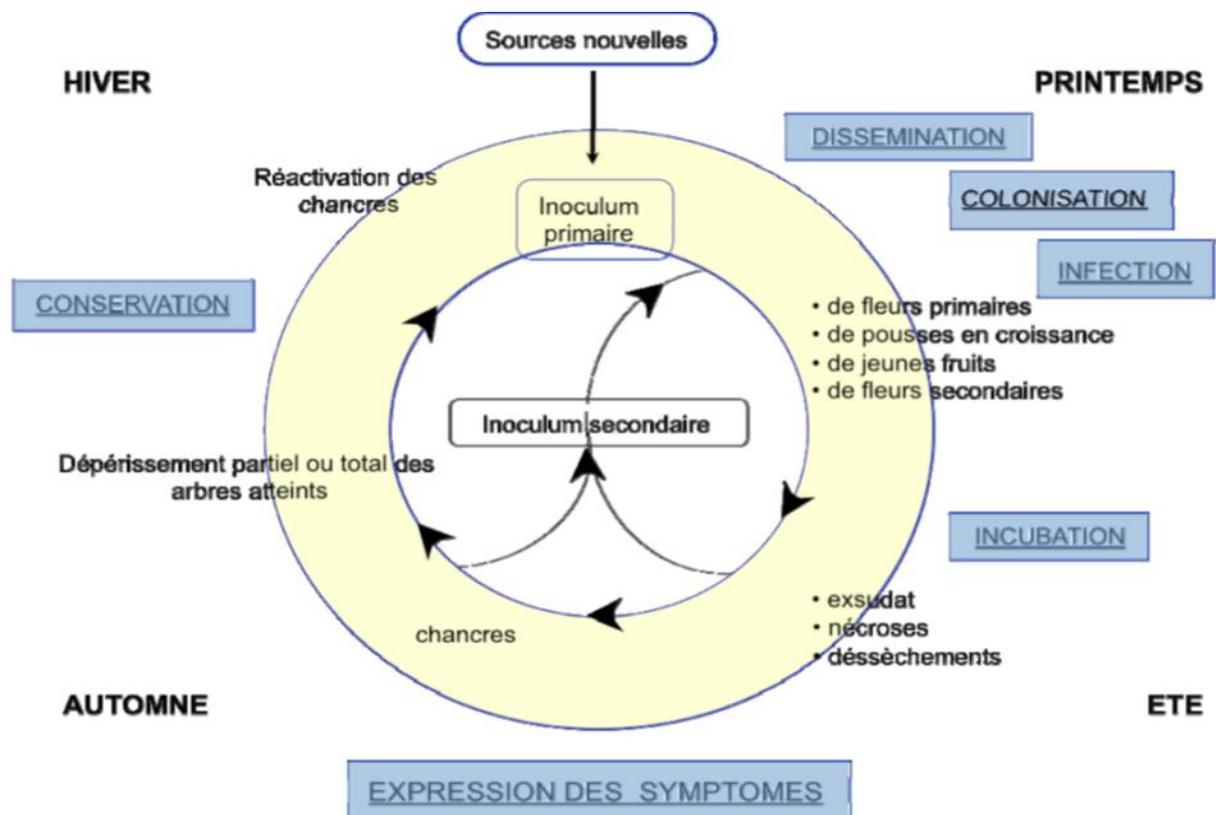
- **Règne :** Bacteria
- **Embranchement :** Proteobacteria
- **Classe :** Gammaproteobacteria
- **Ordre :** Enterobacteriales
- **Famille :** Enterobacteriaceae
- **Genre :** *Erwinia*
- **Espèce :** *Erwinia Amylovora*

### I-C-2-4- Cycle de la maladie :

Le cycle de la maladie est présenté en (**figure 7 et 8**) (**Paulin, 1996**). La bactérie se dissémine à partir de lésions actives via des insectes pollinisateurs pendant la période de floraison, ou grâce à des phénomènes physiques (vent, pluie...). Elle pénètre dans l'hôte par des ouvertures naturelles (nectaires, stomates) ou accidentelles (blessures) en période de floraison ou de croissance des pousses. Une fois dans l'apoplaste, elle se multiplie préférentiellement dans les tissus jeunes en croissance, ce qui peut se traduire par l'apparition à leur surface de gouttelettes d'exsudat, mélange de polysaccharides bactériens et de cellules bactériennes. Cet exsudat permet une rapide dissémination de la maladie. Les tissus atteints se nécrosent, les rameaux et les feuilles flétrissent et se dessèchent (**figure 9**). La bactérie peut envahir l'ensemble de la plante en se multipliant dans les espaces intercellulaires du parenchyme cortical mais elle peut aussi atteindre les vaisseaux du

xylème où elle se déplace contre le flux ascendant de sève (**Bogs et al., 1998**). La maladie peut se transmettre très facilement d'une plante à l'autre par l'intermédiaire de l'exsudat. En fin de croissance végétative, il se forme des chancres sur les branches ou le tronc, dans lesquels la bactérie peut se conserver pendant la période de repos végétatif. Elle reprend sa multiplication au printemps suivant. La gravité de la maladie reste difficile à prédire. De fortes épidémies peuvent être suivies de plusieurs années sans attaque ou avec de faibles attaques si les conditions climatiques sont défavorables à la maladie.

Sur plante non hôte, comme le tabac, *E. amylovora* provoque une réaction d'hypersensibilité typique (HR), c'est-à-dire une mort cellulaire rapide et locale qui confine la pathogène au site d'infection (**Klement, 1969**).



**Figure7:** Cycle du feu bactérien des Maloïdées, causé par la bactérie *Erwinia amylovora* (D'après Paulin, 1996).

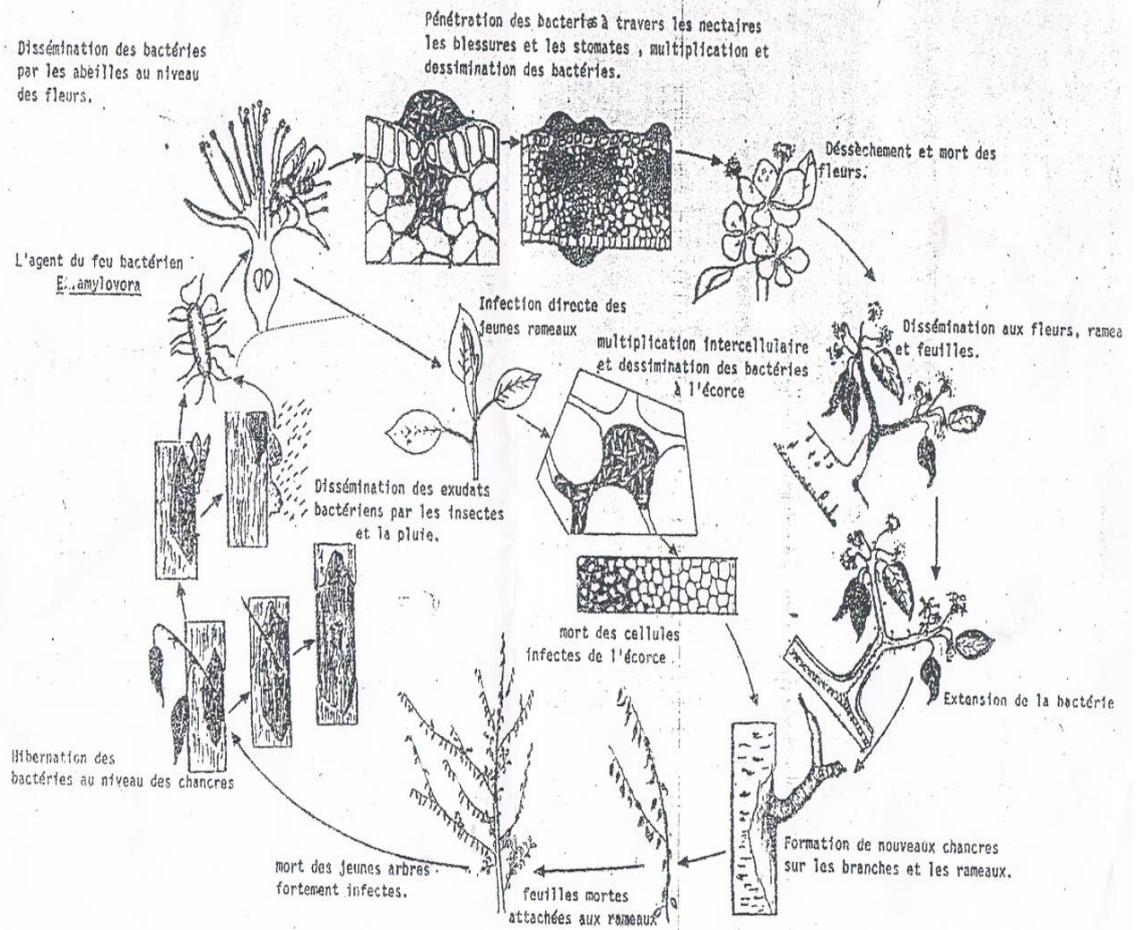
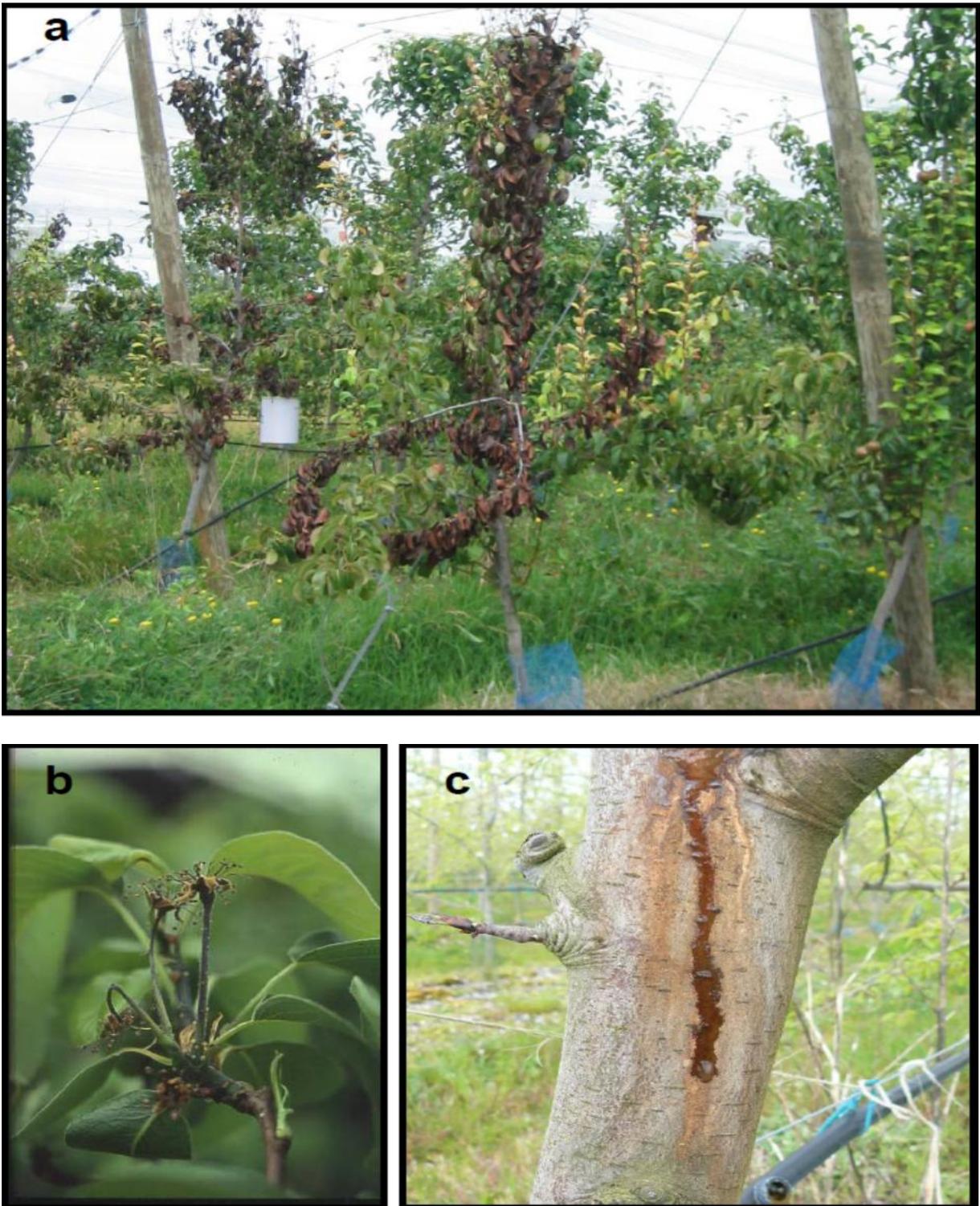


FIGURE 7. Cycle du feu bactérien des Pomoïdes (pommes et poires) causé par *Erwinia amylovora* (d'après AGRIOS, 1978).

Figure8 : cycle biologique d'*Erwinia amylovora* (d'après AGROIS, 1978)



**Figure9:** Symptômes du feu bactérien sur poirier (Paulin, 1996).

-(a) nécroses sur pousses.

-(b) nécroses et exsudat sur fleurs.

-(c) exsudat sur tronc.

### I-C-3- Dickeya spp :

#### I-C-3-1- Définition :

Les *E. chrysanthemi* sont désormais intégrées dans le nouveau genre *Dickeya*.

Avec une température de croissance optimale élevée (35-37 °C) (**Janse et Ruissen, 1988**), *Dickeya* a été jusqu'à présent surtout identifiée sous les climats chauds et en serre. Parmi les six nouvelles espèces décrites dans ce nouveau genre, *Dickeya zae* et *Dickeya dianthicola* sont pathogènes sur la pomme de terre (**Samson et al., 2005**). Alors que *D. zae* est plus particulièrement décrite dans des régions chaudes, *D. dianthicola* est plus fréquente dans des zones tempérées comme en Europe. Les symptômes dus aux *Dickeya* spp. Varient selon les conditions climatiques (température, humidité) et sont difficilement discernables de ceux provoqués par les *Pectobacterium* spp. Outre, la pomme de terre, *D. zae* peut être isolée également à partir de maïs, tabac, ananas et chrysanthème. *D. dianthicola* provoque des dégâts sur tomate, artichaut, endive, et sur certaines plantes ornementales comme le dahlia, freesia, iris, kalanchoe ou œillet (**Samson et al, 1987**). L'augmentation de l'incidence des *Dickeya* dans les cultures de pomme de terre (**Hélias et al. 2006 ; Van der Wolf et al., 2007 ; Crowhurst, 2006**) est probablement liée aux températures estivales élevées ces dernières années. La diversité observée chez des souches de *Dickeya* isolées récemment en zones tempérées (**Palacio- Bielsa et al. 2006 ; Laurila et al., 2007**) pourrait amener à identifier en zones tempérées de nouvelles espèces de *Dickeya* sur cet hôte.

#### I-C-3-2- Systématique :

- **Règne** : Bacteria
- **Embranchement** : Proteobacteria
- **Classe** : Gammaproteobacteria
- **Ordre** : Enterobacteriales
- **Famille** : Enterobacteriaceae
- **Genre** : *Dickeya*

### **I-C-3-3-Plantes hôtes :**

*Dickeya chrysanthemi* possède d'autres plantes hôtes parmi les plantes cultivées, telles que le maïs ou la betterave. Aux Pays-Bas et en France, cette espèce est devenue dominante depuis 2005. La souche provoquant un flétrissement et une nécrose interne des tiges appartient à l'espèce *Dickeya dianthicola*. Depuis 2003 une nouvelle souche est apparue qui provoque des macérations prononcées. Cette souche est génétiquement très différente de *Dickeya dianthicola*.

Le nom proposé par les chercheurs au Pays-Bas est '*Dickeya solani*', qui reflète l'association particulière avec la pomme de terre. ( **figure 10**)

### **I-C-3-4- Caractéristique :**

La bactérie *Dickeya chrysanthemi* combine en fait 3 caractéristiques redoutables:

- Elle est munie d'un flagelle qui la rend très mobile dans l'eau;
- Elle à cette capacité de pénétration par les racines;
- Elle reste active même en conditions d'anaérobie (en absence d'oxygène). Bref, elle est redoutable en conditions humides, à tel point qu'elle supplante les autres espèces. La prévention passe donc évidemment par tout ce qui permet d'éviter le maintien excessif d'eau dans le sol: bon drainage, bonne structure, irrigation non excessive,... Les attaques sont généralement plus intenses en sol argileux qu'en sol limoneux ou sableux.

Lorsqu'elle est attaquée, une plante se défend en émettant des radicaux oxygénés, et en provoquant l'autodestruction de quelques cellules autour de la porte d'entrée de la bactérie pour empêcher sa prolifération. Dans le processus de l'infection, ce sont des exsudats racinaires de la pomme de terre qui sont réceptionnés par la bactérie. L'attaque bactérienne est déclenchée une fois que ces signaux ont été reconnus. La bactérie émet des signaux vers ses congénères afin de « renforcer les troupes ». Un des moyens de lutte serait de perturber cette communication entre bactéries en activant des facteurs de virulence.

### **I-C-3-5- Action de *Dickeya* :**

La souche de *Dickeya* passe à l'action après l'adhésion aux racines et la pénétration des tissus racinaires:

-elle produit et libère la protéine indigo dîne qui neutralise les radicaux oxygénés émis par la plante;

-la bactérie déploie un système de camouflage qui évite de provoquer l'autodestruction des cellules végétales voisines de la « porte d'entrée»;

-elle actionne la pectinolyse (dégradation de la pectine – constituant des membranes cellulaires végétales) sous l'action de plusieurs enzymes bactériens différentes qui permettent à la bactérie de « travailler » en conditions aussi bien acides qu'alcalines;

La combinaison de ces différents facteurs mène à des attaques très variables, allant du seul flétrissement des plantes à la macération complète des tubercules.

Il faut noter que les souches appartenant à *Dickeya dianthicola*, ne produisent pas d'indigo dîne, et n'ont pas de système de camouflage. Elles ont complètement disparu en raison de la domination de la nouvelle souche, La concurrence est aussi rude pour les autres espèces: dès 25 °C, *Dickeya* fait disparaître *Pectobacterium atrosepticum*.

*Dickeya* a aussi la capacité de se conserver sur différents supports (plus de 72 heures à 10°C sur une bande transporteuse par exemple). Par contre, elle ne survivrait pas dans le sol (ou en tous cas moins longtemps que *Pectobacterium carotovorum*) parce que son état saprophytique n'est pas bien organisé.

### **I-C-3-6-La dissémination au champ:**

*Dickeya chrysanthemi* a donc la capacité de se déplacer dans l'eau libre, et dès lors elle peut, au départ d'une plante infectée, se propager aux plantes voisines. Les recherches menées aux Pays Bas ont montré que la contamination peut aller jusqu'à la 3ème plante voisine dans la ligne, mais aussi la plante voisine dans la butte voisine. Il s'agit donc, lors de l'épuration, d'arracher complètement les plantes suspectes ou atteintes, et de retirer aussi du champ les tubercules déjà formés par cette plante.



**Figure10** : Dégâts dus à *Dickeya* sur le pomme de terre (Palacio- Bielsa et al. 2006 ; Laurila et al., 2007).

### **I-D- Mode de dissémination :**

#### **I-D-1- Rôle du tubercule dans la transmission et la dissémination :**

Le tubercule, qui peut assurer la survie des bactéries au cours de la conservation et leur transmission aux tubercules fils, lors de la culture suivante, constitue la source d'inoculum la plus connue (**Pérombelon et Kelman, 1980**). Les bactéries peuvent être localisées dans le système vasculaire, les lenticelles ou à la surface des tubercules (**Nielsen, 1978 ; Pérombelon, 2000**). Si elles tendent à disparaître rapidement de la surface des tubercules en conditions sèches, les populations bactériennes sont capables de se maintenir pendant les six à sept mois de stockage à un niveau de contamination sensiblement constant au sein des lenticelles (**Pérombelon, 1973**). Par ailleurs, les blessures occasionnées lors de la manipulation des tubercules (plantation, récolte, tri) constituent autant de portes d'entrée qui permettent la pénétration de *Pectobacterium* (**Pérombelon et Kelman, 1980 ; Van Vuurde et al., 1994**). Ce type de contamination se produit principalement lors du contact de tubercules sains avec des tubercules malades (**Elphinstone et Pérombelon, 1986a**). Par ailleurs, les bactéries persistent mieux au niveau des blessures profondes où elles sont bien protégées de la dessiccation après leur cicatrisation (**Pérombelon, 1992a**).

En cours de culture, la contamination de la descendance peut se produire après la pourriture du tubercule mère, lorsque les bactéries sont libérées dans le sol. Transportées par l'eau libre, elles envahissent alors la rhizosphère des plantes et infectent les tubercules fils.

Lorsque le sol est sec, peu de tubercules mères pourrissent et la transmission des bactéries aux tubercules fils est faible (**Elphinstone et Pérombelon, 1986b**). Le taux d'humidité du sol influence également les niveaux de contamination par l'intermédiaire des lenticelles, qui s'ouvrent dans des sols mouillés permettant ainsi l'entrée des bactéries. La contamination des tubercules fils peut également se produire via les stolons susceptibles de transmettre les bactéries au travers le système vasculaire (**Hélias et al., 2000b**).

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

**2000a**). Le seuil de contamination minimum permettant au symptôme de jambe noire de se développer a été établi à environ 103 bactéries par tubercule (**Bain et al., 1990**).

Les repousses et résidus de culture permettant la survie et la multiplication des bactéries constituent par ailleurs des sources de contamination importantes (**Pérombelon et Kelman, 1980**). Les écarts de tris et tas de déchets qui attirent des insectes constituent également des réservoirs des bactéries. Contaminés par *Pectobacterium spp.*, les drosophiles sont capables de les transmettre à des cultures de pomme de terre (**Molina et al., 1974 ; Harrison et al., 1977**).

Des suivis de lots de tubercules de semence lors de leur multiplication au champ mettent en évidence l'existence de contaminations environnementales précoces des tubercules. Au Canada, De Boer (**2002**) montre ainsi que 9 % des lots de semences représentant la seconde génération de multiplication sont contaminés par *P. atrosepticum*.

### **I-D-2- Rôle du sol et de la rhizosphère :**

Les données bibliographiques relatives à la survie des *Pectobacterium spp.* dans le sol et la rhizosphère présentent des points de vue contradictoires, alors que peu de données existent pour les *Dickeya spp.*, (**Stanghellini 1982 et McCarter-Zorner et al. 1985**) considèrent en effet que les *Pectobacterium* sont des organismes du « sol » dont le niveau de population augmente fortement en présence d'exsudats racinaires de plantes (adventices ou cultures). Inversement, en cas d'absence ou de quantités moindres de nutriments liées à la récolte ou la maturité des plantes, la population bactérienne diminue jusqu'à un niveau non détectable. La présence d'antagonistes peut également expliquer ce déclin.

Pérombelon et Hyman (1989) estiment, quant à eux, que la longévité des bactéries *Pectobacterium* est limitée dans le sol qui possède peu de réserves nutritives comparé aux tissus de plantes au sein desquels les bactéries se développent habituellement. Incapables d'adapter leur métabolisme et d'accumuler des réserves, elles ne peuvent concurrencer favorablement les autres micro-organismes du sol (**Pérombelon, 1992a**). Les études menées par Van der Wolf et al. (**2007**) montrent, quant à elles, que les *Dickeya* ne survivent pas plus de trois semaines dans un sol nu.

Toutefois, des études (**Burr et Schroth, 1977 ; McCarter-Zorner et al., 1985**) mettent en évidence la présence de *Pectobacterium* au sein de la rhizosphère de différentes cultures (laitues, carottes, betteraves à sucre). Les cultures de brassicacae (brocoli, colza, rutabaga,

navet, chou) sont reconnues comme hébergeant *Pectobacterium* fréquemment et à des niveaux relativement élevés (**McCarter- Zorner et al., 1985 ; Pérombelon et Hyman, 1989**). Les bactéries sont également isolées à partir de rhizosphères d'adventices (laiteron, mouron, pâturin, amarante, chénopode blanc, renouée) (**Burr et Schroth, 1977 ; McCarter-Zorner et al., 1985**). Peu d'informations existent concernant le potentiel de survie des *Dickeya spp.*, hormis leur description sur des morelles douces amères (**Olsson, 1985**).

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

### **I-D-3- Transmission par l'eau et les aérosols :**

La mise en évidence de l'eau de surface comme source potentielle de bactéries *Pectobacterium spp.* et *Dickeya spp.* est soulignée par plusieurs auteurs. *Pectobacterium spp.* a été isolée dans plusieurs rivières aux États-Unis et en Europe (**Powelson, 1985 ; Pérombelon et Hyman, 1987**), *P. c. subsp. carotovorum* étant plus fréquent que *P. atrosepticum*. La contamination de rivières par *Dickeya spp.* est mise en évidence en Suède par Olsson (1985), aux Pays-Bas par Van Vuurde et al. (1994), en Australie par Cother et al. (1992) et en Finlande par Laurila et al. (2007). Les homologues observées entre des souches isolées de pomme de terre et d'eau de rivières confortent l'hypothèse selon laquelle ces dernières constituent des sources potentielles de contamination via l'irrigation (**Cother et al., 1992 ; Laurila et al., 2007**).

Parmi les populations bactériennes qui peuvent varier d'une rivière à l'autre, certaines sont similaires à *D. dianthicola*, alors que d'autres restent à identifier clairement. Outre les

rivières, les bactéries *Pectobacterium spp* sont retrouvées dans l'eau des drains souterrains de champs plusieurs années après une culture de pomme de terre (**Pérombelon et Hyman, 1987**). Elles peuvent également être isolées à partir d'échantillons d'eau de mer (**McCarter-Zorner et al., 1982**), de pluies et d'aérosols, voire de neige (**Franc et al., 1985**). Les aérosols générés par la pluie ou l'arrosage par aspersion sur des tiges malades, ou lors du défanage avant la récolte peuvent également disperser les *Pectobacterium spp* sur plusieurs centaines de mètres (**Graham et Harrison, 1975**). La survie de ces organismes dans les aérosols semble de courte durée puisque seulement 50 % des bactéries survivent après cinq à dix minutes (**Pérombelon, 1992a**).

**Transmission par le matériel et les pratiques agricoles** Le passage de machines agricoles contaminées lors de la culture constitue un autre moyen de dissémination des bactéries. La plantation, la récolte et le tri mécanique des tubercules peuvent également être la cause de la propagation des pathogènes entre les lots de pomme de terre et au sein des stocks. Cette contamination a principalement lieu lors du contact de tubercules sains avec des tubercules ou du matériel infectés (**Van Vuurde et al., 1994**). Il a ainsi été montré qu'un tubercule malade pouvait contaminer 100 kg de tubercules dont la moitié avec 104 à 105 bactéries lors des opérations de calibrage (**Elphinstone et Pérombelon, 1986a**), et que les niveaux de contamination étaient trois fois plus élevés pour les tubercules récoltés, calibrés et conditionnés en utilisant les pratiques courantes par rapport aux tubercules récoltés manuellement (**De Boer, 2002**).

Un défaut de désinfection du matériel ainsi que les blessures occasionnées sur les grilles des trieuses lors de la manipulation des tubercules lors de la plantation ou après la récolte favorisent également les contaminations (**Elphinstone et Pérombelon, 1986a**). Le lavage des tubercules avant leur commercialisation peut également disséminer la bactérie dans les lots de pomme de terre lorsque l'eau servant au lavage n'est pas renouvelée ou décontaminée (**Pérombelon et Kelman, 1980**).

### **I-E- Principaux facteurs environnementaux et bactériens de la virulence :**

L'apparition et la gravité des dégâts liés à *Pectobacterium* sont multifactorielles.

Elles dépendent de la réceptivité de la culture à la maladie, du potentiel infectieux environnemental et des conditions pédoclimatiques lors de la culture. Ces dernières

expliquent, en grande partie, la prédominance de l'une ou l'autre des deux espèces impliquées dans la maladie.

En effet, si les symptômes sont toujours favorisés par une atmosphère confinée et humide, par un excès de pluies et par les blessures qui favorisent la pénétration des bactéries, la présence des bactéries *P. atrosepticum* se limite habituellement aux tubercules cultivés dans les sols tempérés, tandis que les bactéries de l'espèce *P. carotovorum* sont très représentées dans les zones plus chaudes, notamment subtropicales et tropicales. Dans le nord et l'ouest de l'Europe, la température la plus favorable à la maladie est ainsi comprise entre 15 et 20 °C pour *P. atrosepticum* et aux environs de 25 °C pour *P. carotovorum*.

Cela s'explique par une différence d'activité métabolique des espèces impliquées : pour chacune d'elles, c'est dans cette gamme de températures particulières que la capacité de multiplication et de production d'enzymes lytiques est suffisamment élevée, voire optimale, pour causer des dégâts aux cultures (**Smadja et al., 2004b**). Lorsque les conditions climatiques sont favorables, les *Pectobacteria* présents dans le sol et à la surface des végétaux sensibles passent d'un état de latence à un état d'activité favorisé par la blessure des plantes et le relargage de sucs végétaux. La pénétration dans l'hôte est facilitée par ces blessures, mais elle peut aussi se faire du sol vers le tubercule par des ouvertures naturelles comme les lenticelles (**Pérombelon, 2002**). Dans un premier temps, les populations bactériennes vont d'abord se multiplier. Puis, les bactéries sécrètent, de façon synchrone et en réponse à un mécanisme de régulation détaillé ultérieurement dans cet article, l'ensemble des enzymes lytiques dont l'activité est responsable des symptômes de macération observables sur plants et tubercules.

Chez les *Pectobacteria*, cet arsenal enzymatique est particulièrement bien adapté à la dégradation de tous les composants des parois cellulaires végétales, ce qui explique l'ampleur des dégâts observés et leur vitesse d'apparition. Il s'agit de protéases, de cellulases et de nombreuses enzymes pectinolytiques (pectine et pectate lyases, pectate hydrolases et pectine méthylestérases) (**Smadja et al., 2004a**).

### **I-F-Méthode de lutte contre *Erwinia* :**

#### **I-F-1-Lutte chimique :**

À ce jour, il n'existe pas de méthode de lutte efficace contre *P. atrosepticum* et *P. carotovorum*. Seules des mesures prophylactiques, basées sur une hygiène générale des exploitations et des semences ainsi que l'utilisation de pratiques culturales raisonnées et peu mécanisées, permettent de limiter les dégâts enregistrés (**Priou et Jouan, 1996**). En tenant compte des pratiques agronomiques actuelles, notamment des cultures utilisées lors de la rotation et d'études épidémiologiques réalisées récemment au champ, il est possible de limiter les pertes sur pieds dues à ces pathogènes (**Hélias, 2008**).

Des mesures visant à limiter la présence des pathogènes sur le tubercule après récolte et leur dissémination dans l'environnement sont à l'étude. Par exemple, l'utilisation de réacteurs de décontamination dont la technologie est basée sur l'émission de plasmas froids est envisagée pour traiter les eaux de lavage des tubercules après récolte (**Moreau et al., 2005**).

Au champ, les traitements chimiques des cultures à base de cuivre ou d'organomercure demeurent peu efficaces et sont déconseillés pour des raisons de protection de l'environnement (**Priou et Jouan, 1996**). De nouveaux composés capables d'altérer l'intégrité cellulaire bactérienne ou d'inhiber la croissance des *Pectobacteria* ont montré, au contraire, une réelle efficacité lors d'essais au laboratoire : il s'agit de solutions salées de chlorure d'aluminium et de métabisulfite de sodium (**Yaganza et al., 2004**) ou de peptides de synthèses (**Kamysz et al., 2005**). Si ces composés peuvent sembler très intéressants grâce à leur large spectre d'hôte (fongique et bactérien), le risque écologique d'altération des équilibres microbiens apparaît très important. La destruction des communautés bactériennes épiphytes (présentes sur les parties aériennes) ou rhizosphériques (associées aux racines) pourrait ainsi entraîner des baisses de rendement par destruction des bactéries bénéfiques et/ou laisser le champ libre au développement de pathogènes encore plus redoutés. À notre connaissance, l'intérêt des molécules décrites dans ces articles n'a pas encore été analysé au champ.

Il est important de souligner que les politiques agricoles de nombreux pays mettent aujourd'hui l'accent sur l'évaluation de l'efficacité des traitements versus leur coût environnemental (**Epstein et Bassein, 2003**). Pour répondre à cette demande, de nouvelles molécules à faible impact environnemental sont actuellement recherchées, notamment des molécules ciblant la virulence du pathogène (antivirulents) plutôt que sa viabilité (bactéricides). Certains aspects de ces travaux sont présentés dans les paragraphes suivants.

### **I-F-2- Lutte génétique :**

L'organisation génétique de la résistance de la pomme de terre aux maladies a été étudiée en détail par Gebhardt et Valkonen (2001) : les 19 gènes de résistance dominants, identifiés grâce à des marqueurs ADN, ont trait à la résistance aux virus, nématodes et champignons. Les quelques régions susceptibles de jouer un rôle dans la résistance à *P. atrosepticum* semblent éparpillées sur les 12 chromosomes de cette plante. Ces résultats peuvent, en partie, expliquer pourquoi il n'existe que peu d'espèces du genre *Solanum* présentant des caractères de résistances aux *Pectobacterium spp.* et que les niveaux de résistance enregistrés restent peu élevés. L'amplitude de cette résistance tenue varie avec la variété étudiée. Pasco (**2005a, 2005b**) montre ainsi que sur un panel de 16 variétés, la variété Kerpondy est peu sensible, tandis que la variété Ackergesegen est très sensible aux pourritures molles engendrées par *P. atrosepticum*. Chez la pomme de terre, les mécanismes naturels de résistance contre ces bactéries affectent la croissance et l'invasion bactérienne à l'intérieur du végétal ou limitent la synthèse des enzymes impliquées dans leur pouvoir pathogène (**Lyon, 1989**). Ces mécanismes sont cependant peu efficaces, en particulier, parce qu'ils requièrent des conditions aérobies pour s'exprimer. Or, les précipitations ou une irrigation forte, caractéristiques de certaines zones de production, peuvent limiter la diffusion de l'oxygène et créer des conditions anaérobies à la fois défavorables à ces mécanismes de défense des plantes et favorables aux métabolismes des pathogènes bactériens (**Pérombelon, 2002**).

Les connaissances actuelles sur la génétique de résistance de la pomme de terre aux bactéries macergènes sont encore balbutiantes. De nouvelles données sont attendues grâce au séquençage de son génome. Par ailleurs, les contraintes liées à la sélection d'autres caractéristiques variétales sont fortes. En effet, la recherche de traits de résistance ne peut se faire au détriment de celle de caractères améliorant le rendement, la conservation, les critères organoleptiques ou la teneur en féculé ou sucres réducteurs. Ainsi, l'obtention par

croisement variétal de plants présentant l'ensemble de ces critères est actuellement difficile, car longue et aléatoire. Ce constat a amené certains généticiens à proposer d'autres voies de sélection.

L'une d'elles passe par la création de variétés transgéniques, c'est-à-dire de pomme de terre ayant intégré un ou plusieurs gènes issus d'une autre espèce microbienne, végétale ou animale. L'une des premières constructions réalisées a consisté à intégrer dans le génome de la pomme de terre un gène originaire d'un bactériophage codant pour la production de lysozyme qui dégrade la membrane de certaines bactéries. La plante modifiée fabrique du lysozyme qui est transporté vers les espaces intercellulaires des tissus végétaux. Cette opération diminue significativement la sensibilité de la variété étudiée aux attaques de *P. atrosepticum*, que ce soit lors d'essais sur tubercules ou sur plantules cultivées en serres. Ces effets bénéfiques sont attribués à la production du lysozyme qui inhiberait la multiplication des bactéries et maintiendrait leur densité en dessous du niveau de virulence (**Düring et al., 1993**). L'action du lysozyme n'étant pas spécifique de la paroi bactérienne de l'espèce *P. atrosepticum*, il existe un risque environnemental similaire à celui évoqué précédemment pour d'autres molécules antibactériennes à large spectre d'hôtes. Ce risque a été évalué en comparant les communautés microbiennes associées aux variétés Désirée et Grata à celles de leurs lignées transgéniques (**Heuer et Smalla, 1999 ; Lottmann et al., 2000 et 1999**). Les résultats de ces études suggèrent que les plantes transgéniques ont un faible impact sur la structure des communautés microbiennes, qu'elles soient épiphytes ou rhizosphériques (racines ou tubercules). Pour les auteurs, les variations liées à la présence du transgène sont mineures au regard des variations observées chez des plantes non transgéniques et dues à l'âge de la plante, la température, l'humidité ou l'action de pesticides. Ces travaux stipulent également que les populations de la phyllosphère sont plus diverses que celles de la rhizosphère et qu'elles constituent donc d'excellents marqueurs biologiques permettant d'évaluer l'impact de transgènes sur les communautés bactériennes.

Ainsi, les faibles variations enregistrées au niveau du feuillage constitueraient un argument supplémentaire en faveur du faible impact des lignées transgéniques sur la structure des communautés bactériennes (**Heuer et Smalla, 1999**). Il reste bien sûr à évaluer les risques de dissémination du transgène lui-même à d'autres plantes ou organismes en contact avec les plantes transgéniques. D'autres propositions d'amélioration des plantes par transgénèse sont discutées plus loin.

Ces arguments scientifiques ne doivent cependant pas faire oublier la faible acceptabilité des végétaux génétiquement modifiés en Europe liée à l'existence de controverses scientifiques, de considérations philosophiques prévalentes chez les populations européennes en particulier sur l'acceptabilité des « risques » et à une politique de communication forte des opposants à l'emploi de ces techniques (**Wisniewski et al., 2002 ; Forbes, 2006 ; Myskja, 2006 ; Varzakas et al., 2007**). Néanmoins, la culture de pommes de terre génétiquement modifiées à des fins de production de molécules d'intérêts pharmaceutiques ou médicales devrait pouvoir avoir une meilleure acceptabilité par la société en répondant à des problèmes de santé humaine (Y. Bègue, directeur du Comité Nord – organisme membre de la Fédération des producteurs de plants de pomme de terre, communication personnelle).

### **I-F-3- Lutte biologique :**

#### **I-F-3-a- Définition :**

Au début du XXème siècle l'appellation "lutte biologique" a été proposée pour désigner toute méthode phytosanitaire mettant en oeuvre un organisme vivant. En 1919, Smith a défini la lutte biologique comme l'utilisation des ennemis naturels pour le contrôle des maladies phytopathogènes (**Driesche et Bellous, 1996**). L'étude de Sanford En 1926, sur les facteurs influençant la pathogénicité de la bactérie *S. scabies* matérialise ce concept en observant que des microorganismes saprophytes pouvaient entraîner une diminution de l'intensité de ce pathogène du sol. Quelques années plus tard, Weindling a démontré que le champignon *Trichoderma lignorum* parasitait d'autres champignons du sol. En 1964, De Bach a donné une nouvelle définition à la lutte biologique : « c'est l'action des parasites, prédateurs ou pathogènes dans le maintien de la densité de la population des microorganismes à un niveau inférieur de celle observée en leur absence (**Toussaint, 1996**).

La lutte biologique consiste à combattre une maladie causée par un organisme au moyen d'un autre organisme. Dans ce travail, c'est cette définition que nous utiliserons. Une autre définition plus large de la lutte biologique est parfois utilisée :

"Toute action mettant en jeu des organismes modifiant l'hôte, y compris les méthodes culturales, qui permettent de diminuer, par voie directe ou indirecte, les dommages causés par un parasite" (**Corbaz, 1990**).

Dans le sens écologique strict, l'application de la lutte biologique peut être considérée comme une stratégie pour restaurer la biodiversité dans les agro-écosystèmes par l'addition des antagonistes naturels (parasite ou prédateur) (**Altieri, 1999; Nautiyal et al., 2000**).

### **I-F-3-b- Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique :**

La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'action tels que la compétition (pour éléments nutritifs, l'oxygène, l'espace), l'antibiose, le parasitisme, la diminution de l'agressivité du pathogène et l'induction de la résistance chez la plante. L'étude de ces mécanismes d'action est une étape importante dans le développement de la lutte biologique (**Jijakli, 2003**).

#### **\*Compétition :**

La compétition pour les éléments nutritifs entre en jeu lorsqu'il y a simultanément consommation du même composé par plusieurs microorganismes. Pour être un compétiteur efficace, un agent antagoniste doit être capable d'utiliser rapidement et efficacement les éléments nutritifs présents en faible concentration sur les organes de la plante (**Jijakli, 2003**).

En occupant la même niche écologique qu'un agent pathogène, un microorganisme peut entrer en compétition avec l'agent pathogène au niveau des nutriments, ce qui peut diminuer ou même empêcher la croissance de cet agent pathogène. Par exemple, certaines bactéries produisant des sidérophores ont un avantage écologique. Les sidérophores de ces microorganismes captent le fer, pouvant le rendre ainsi non disponible pour l'agent pathogène ce qui, conséquemment, limite sa croissance. Ce mécanisme est souvent attribué aux agents antagonistes de l'espèce *Pseudomonas fluorescens* (**Corbaz, 1990**). Des sidérophores produits par *P. fluorescens* formeraient un complexe avec les métaux du sol et les rendraient non disponibles pour les autres microorganismes de son environnement dont le *Pythium ultimum*, causant la fonte des semis (**Howell et Stipanovic, 1980**).

#### **\*Induction des systèmes de résistance de la plante hôte :**

Des microorganismes de lutte biologique sont capables de déclencher une résistance systémique induite (ISR) chez la plante hôte, ce qui peut rendre l'hôte plus résistant à l'agression future par des agents pathogènes (**Jijakli, 2003**). L'induction des systèmes de résistance chez la plante a été démontrée pour la première fois par Kempe et Sequira

(1983). Ces derniers ont remarqué que des pré-traitements par des bactéries ont protégé des tubercules de pomme de terre des infections de *Pseudomonas solanacearum*.

Le microorganisme antagoniste peut consister en une souche à virulence occupant la même niche écologique qu'un agent pathogène. L'induction des systèmes de résistance se manifeste par des modifications au niveau de la composition des parois cellulaires ou la libération des éliciteurs. Ces derniers sont des substances mettant en branle les mécanismes de défense de la plante. Celle-ci produira alors des phytoalexines et des protéines PR qui lui confèrent une résistance systémique (Agrios, 1988; Toussaint, 1996). Par exemple, *Trichoderma harzianum* T-203 induit des changements structuraux et chimiques des parois cellulaires des plantes ce qui augmente leur résistance aux infections par les phytopathogènes (Brimner et Boland, 2003).

### **\*Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés :**

Plusieurs microorganismes ont été utilisés dans le contrôle des maladies phytopathogènes (Errakhi, 2008) (Tableau3). Parmi les champignons les plus utilisés, nous pouvons citer *Trichoderma* spp. Ce dernier a été utilisé comme agents de lutte biologique contre un large spectre de pathogènes aussi bien telluriques que foliaire. Ils agissent par différents mécanismes comme la production des enzymes lytiques (chitinases, bêta-1-3 -glucanase et bêta-1-4-glucanase), la production d'antibiotiques, la compétition spatiale et nutritionnelle (Elad et al. 1999), l'induction des systèmes de résistance des plantes (Brimner et Boland, 2003) et l'inactivation des enzymes de l'agent pathogènes (Elad et al. 1999). Une souche de *Trichoderma* spp. s'est avéré active contre de nombreux phytopathogènes à savoir : *Pythium ultimum* (Mukherjee et al. 2008), *Botrytis cinerea* (Mukherjee et al., 2008) et *Rhizoctonia solani* (Mazzola, 2002). Certaines bactéries à Gram-positif sont employées comme agent de lutte biologique. Elles contrôlent plusieurs maladies phytopathogènes. Parmi ces bactéries, les souches de *Bacillus subtilis* et les actinomycètes sont les plus étudiés.

**Tableau3:** agents de la lutte biologique utilisés pour la lutte contre des agents

Phytopathogènes (Errakhi, 2008).

Agent de bio contrôle	Agent phytopathogène cibles	Mécanisme (s) d'action
Trichoderma harzianum	Roselliniana spp	Parasitisme
Trichoderma koningii	Sclerotium rolfsii	Parasitisme
Pseudomonas spp DF-41 et PA-2	Sclerotinia sclerotiorum	Antibiose
Streptomyces sp.Di-944	Rhizoctonia solani	Antibiose
Streptomyces sp.93	Pythium, aphanomyces, phytophthora, Rhizonia et Fusarium spp.	Antibiose
Pseudomonas areuginosa	Aspergillus Fulavus, Aspergillus Niger, Rhizoctonia bataticola, Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii et puccinia arachidis.	Antibiose Compétition
Streptomyces diastatochromogenes PonSSII	Streptomyces Scabies	Antibiose Compétition
Pseudomonas spp.	Gaemannomyces graminis var tritici, Pseudomonas tolaasii, Fusarium oxysporum f. sp, lini et Erwinia amylovora	Antibiose Compétition
Trichoderma spp	Plusieurs champignons phytopathogènes	Parasitisme Antibiose Compétition
Bacillus Subtilis	Fusarium spp	Antibiose

### II-LES MICROORGANISMES UTILISER DANE LA LUTTE BIOLOGIQUE :

#### II-A- *Pseudomonas* spp :

##### II-A-1- Caractéristiques générales :

Le genre *Pseudomonas* est découvert en 1894 par Migula, il appartient au phylum des Proteobacteria, classe des Gammaproteobacteria, famille des Pseudomonaceae, ordre des Pseudomonales (**Moore et al., 2006**). Ce sont des bactéries ubiquistes particulièrement abondantes dans les sols, les eaux, et souvent pathogènes des animaux et des végétaux. Elles possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Ainsi leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable (**Haas et Keel, 2003**). Cette grande rhizocompétence vient de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres bactéries ; et de leur capacité à utiliser une gamme de substrats très large, souvent issus des exsudats racinaires, comme source d'azote ou de carbone. De plus, elles sont très faciles à isoler et à cultiver au laboratoire et se prêtent aisément aux manipulations génétiques (**Moore et al., 2006**).

Ces bactéries sont des bacilles à Gram négatif de 0,5 à 1 µm de diamètre sur 1,5 à 5µm de long, mobiles et asporulées (**Bell-Perkins et Lynch, 2002**). Ce sont aérobies obligatoires, à l'exception de certaines qui peuvent utiliser le NO<sub>3</sub><sup>-</sup> comme accepteur d'électrons. Elles ont un métabolisme mésophile et chimio-organotrophe oxydatif (**Moore et al., 2006**). Les différentes espèces de *Pseudomonas* sont divisées en cinq groupes selon leur ARNr. Le sous-groupe des *Pseudomonas* fluorescents, appartenant au premier groupe génomique, est certainement le plus étudié. Il se distingue par la production de pigments jaune-vert fluorescents (pyoverdine ou pseudobactine) dans des conditions de carence en fer. Les espèces appartiennent à ce groupe sont : *Pseudomonas aeruginosa*, espèce pathogène pour l'homme, *P. syringae*, espèce phytopathogène et *P. fluorescens*, *P. putida*, et *P. chlororaphis* (= *Pseudomonas aerufaciens*) rassemblent des espèces saprophytes (**Höfte et Altier, 2010**).

### II-A-2- DISTRIBUTION ECOLOGIQUE ET ROLE DU GENRE *PSEUDOMONAS* :

#### II-A-2-a- DISTRIBUTION ECOLOGIQUE :

Les espèces de *Pseudomonas* décrites durant la dernière décennie montrent que c'est l'un des genres bactériens les plus ubiquistes dans le monde, et différents espèces ont été isolées de niches écologiques diverse. En effet, *P. plecoglossicida* est un pathogène de poissons (Nishimori *et al.*, 2000) ; *P. salomonii* et *P. palleroniana* sont des espèces phytopathogènes (Gardan *et al.*, 2002); *P. simiae* a été isolé d'un échantillon clinique de singe (Vela *et al.*, 2006) et *P. constantinii* est un pathogène de champignons comestibles (Munsch *et al.*, 2002).

D'autres sont des bactéries associées aux racines, et ont été isolés de différentes plantes *P. brassicacearum* et *P. thivervalensis* isolés respectivement de plants d'ail et de riz (Achouak *et al.*, 2000). *P. rhizosphaerae*, *P. lutea* et *P. argentinensis* isolé de la rhizosphère de l'herbe (Peix *et al.*, 2003, 2004, 2005).

Certaines ont été isolés de la phyllosphère des plantes, c'est le cas de *P. lurida* de la phyllosphère de l'herbe (Behrendt *et al.*, 2007). Quelques espèces ont été isolées d'écosystèmes marins comme c'est le cas de *P. marincola* (Romanenko *et al.*, 2008), ou encore d'écosystèmes désertiques *P. duriflava* (Liu *et al.*, 2008), *P. guineae*, une bactérie psychro-tolérante du sol de l'antarctique (Bozal *et al.*, 2007), *P. thermotolerans*, qui peut croître à 55°C isolée d'échantillons animaux (Manaia et Moore, 2002).

Cette distribution mondiale semble être due à une adaptabilité physiologique et génétique élevée (Spiers *et al.*, 2000). La clé de cette adaptabilité de souches individuelles à de tels environnements, est la présence chez ce genre bactérien de nombreux ilots génomiques, c'est le cas de la souche *P. aeruginosa* PSE9 (Battle *et al.*, 2009).

### **II-A-2-b-LES *PSEUDOMONAS* SPP. FLUORESCENTS AGENTS DE BIOCONTROLE ET DE CROISSANCE DES PLANTES**

La plupart des substances chimiques utilisées pour combattre les maladies en plus d'être dangereux pour l'homme, les animaux et les organismes bénéfiques ; persistent dans les écosystèmes naturels. Durant les trois dernières décennies, les bactéries appartenant au genre *Pseudomonas* ont été identifiés comme agents potentiels de biocontrôle, à l'encontre des phytopathogènes.

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophyte sont les habitants type des sols agricoles et la rhizosphère des plantes, et sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes (Schroth *et al.*, 1992). Ces bactéries sont considérées comme des composés biologiques du sol agricole, et sont responsable de la suppression des maladies fongiques dans les cultures. Ces *Pseudomonas* diminuent la sévérité de la maladie et stimulent la croissance des plantes comme le riz (Sakhivel et Gnanamanickam, 1987), le blé (Weller et Cook 1983), la pomme de terre (Kloepper *et al.*, 1980b), la canne à sucre (Suslow et Schroth 1982), le radis (Kloepper et Schroth 1978), le coton (Howell et Stipanovic 1980) et le manioc (Hernandez *et al.*, 1986).

Différentes espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été rapportés à la fois comme PGPR (plant growth promoting rhizobactéria), et comme souches de biocontrôle des champignons phytopathogènes (de Salmone *et al.*, 2001). *P. putida* (Scher et Baker, 1980), *P. aeruginosa* (Bano et Musarrat, 2003), *P. chlororaphis* (Chin-A-Woeng *et al.*, 1998) et *P. cepacia* (Cattelan *et al.*, 1999). Toutefois, les *Pseudomonas* spp. fluorescents ne sont pas tous des antagonistes.

Les bactéries appartenant au groupe des *Pseudomonas* spp. fluorescents sont parmi les plus abondantes dans la rhizosphère. Dans certains cas, elles représentent plus de 60% de la microflore bactérienne totale du sol (Digat et Gardan, 1987). D'où leur application comme agents de contrôle biologique grâce à leurs abondance dans les sols naturels et les racines des plantes (Sands et Rovira, 1971). Ces bactéries sont d'excellents compétiteurs vis-à-vis de la microflore fongique et bactérienne du sol par leur temps de génération *in situ* relativement court (Garbaye, 1994), leur capacité à utiliser les exsudats de plantes comme nutriments (Lugtenberg *et al.*, 2002), et à chélater les ions ferriques (Garbaye, 1994).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont connus pour leurs aptitude d'adhésion aux particules du sol et au rhizoplan, mais sont aussi mobiles et prototrophes (**de Weger et al. 1994**), produisent des antibiotiques (**Garbaye, 1994 ; Natsch et al., 1994**), et des enzymes hydrolytiques (**Lim et al., 1991; Neilsen et al., 1998; Neilsen et Sorensen, 1999**).

Ces capacités antagonistes et PGPR, sont dues à des mécanismes directs et indirects. Les mécanismes indirects utilisés par ces *Pseudomonas* spp. fluorescents, comprennent la production d'antibiotiques contre des bactéries pathogènes (**Thomashow et al., 1990**), la réduction de fer disponible pour les phytopathogènes présents dans la rhizosphère (**Scher et Baker, 1982**), la synthèse d'enzymes dégradant les paroi cellulaires fongiques et la compétition avec les microorganismes délétères pour les niches sur la plante. (**Figure 11**)

Les mécanismes directs concernent, la séquestration du fer pour les plantes par les sidrophores, la production de phytohormones ou encore par solubilisation de formes de phosphore insolubles, rendant ainsi le phosphore biodisponible (**Salisbury, 1994**), et diminuer les taux d'éthylène produits par la plante (**Glick, 1995; Glick et al., 1999**). Ces bactéries sont capable d'induire une résistance systémique contre un pathogène donné, et porte le nom d'ISR (**van Loon et al., 1998; Pieterse et al., 2001**).

Il est également reconnu que des bactéries de la mycorrhizosphère, encore appelées bactéries auxiliaires de la mycorrhization, stimulent sélectivement l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne (**Garbaye, 1994**).

### **II-A-2-c- Mécanismes d'antagonisme :**

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents produisent une gamme importante de métabolites secondaires, en plus d'enzymes dégradant les parois cellulaires. Les plus caractérisées de ces métabolites secondaires sont les: phénazines, phloroglucinols, pyolutéorine, pyrrolnitrine, lipopeptides, et le cyanure d'hydrogène. Ces métabolites secondaires sont actifs vis à vis d'une large gamme de bactéries et de champignons.

### II-B-ASPERGILLUS NIGER :

#### II-B-1- Définition :

*A. niger* est devenu un organisme industriellement utilisé lorsque l'acide citrique a été tout d'abord produit par fermentation en 1919. L'acide citrique est employé couramment dans une variété d'industries et, en volume des ventes, dépassent largement les autres métabolites tels que l'acide gluconique L'acide citrique est produit presque exclusivement par la fermentation d'*A. Niger* et *A. fistulosum* parce que les rendements de ces organismes sont élevé et formation des produits indésirables tels que l'acide gluconique et l'acide oxalique est minime. La Food and Drug Administration (FDA) a classé *A. Niger* comme source d'acide citrique (21 Code of Federal Regulations §173.280) (SCHUSTER *et al.*, 2002).

On plus de l'acide citrique, *A. Niger* offre plusieurs applications par sa production d'enzymes comme Pectinase, protéase et amyloglucosidase qui étaient les premiers à être exploitées et ont été initialement produites en culture de surface (SCHUSTER *et al.*, 2002).

Et d'autres acides carboxyliques comme les acides malique, fumarique et oxalique et plu récemment la production de mycotoxines (HAMDI, 1993).

Position systématique d'*Aspergillus Niger*

#### II-B-2-Systématique :

- **Règne :** Mycètes (Fungi)
- **Embranchement :** Amastigomycota
- **Sous-Embranchement:** Deutéromycotina
- **Classe:** Deutéromycètes
- **Ordre:** Oniliales (hyphales)
- **Famille:** Moniliacées
- **Genre:** *Aspergillus*
- **Espèce:** *Aspergillus niger* (ALEXOPOULOS, 1979)

### **II-B-3-Écologie :**

De nombreux *Aspergillus* noirs ont été isolés du monde entier. *Aspergillus niger* est un champignon filamenteux qui se développe en aérobiose sur la matière organique.

Dans la nature, on le trouve dans le sol et de la litière, dans le compost et le matériel végétal en décomposition.

*Aspergillus Niger* est capable de croître dans la plage température large de 6–47 ° C avec une température relativement élevée avec un optimum de 35 à 37 ° C. La limite d'activité de l'eau pour la croissance est 0,88 (aw) qui est relativement élevée comparativement aux autres espèces d'*Aspergillus*. *Aspergillus Niger* peut pousser sur une très large gamme de pH : 1,4–9,8.

Ces capacités et l'abondante production de conidies, qui sont distribués par l'intermédiaire de l'air, garantissent l'occurrence omniprésente de l'espèce, avec une fréquence plus élevée aux lieux chauds et humides (SCHUSTER *et al.*, 2002).

### **II-B-4- Caractères cultureux et Aspects macroscopiques :**

Ce champignon croît facilement sur milieu de Czapek (QUATRESOUS, 2011) ; PDA, milieu gélosé (GACEM, 2011), une colonie peut atteindre 3 à 4 cm en 10 jours, le mycélium extensif hyalin en grande partie immergé dans la gélose. Les colonies apparaissent d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires(Figure12). En effet, ce champignon produit également du mycélium aérien blanc et de très nombreuses structures sporifères érigées, pulvérulentes, brun-noir, qui est généralement disposées en cercles concentriques. Le verso est incolore à jaune. Un exsudat jaune pâle peut être produit en toute petite gouttelette.

Cette espèce a une croissance rapide, avec un optimum thermique compris entre 25 et 30°C, mais il peut pousser jusqu'à 42°C. Son développement est aussi inhibé par l'actidione (QUATRESOUS, 2011).

### **II-B-5- Morphologie microscopique :**

La multiplication de cette espèce est végétative. Il n'y a pas de reproduction sexuée connue, ni présence de « Hülle cells ». On observe alors des têtes conidiennes larges, brun rouge très sombre à noir, tout d'abord sphériques et secondairement radiées(Figure13). Elles sont portées par de longs conidiophores (1,5 à 3 mm de long) qui présentent une paroi épaisse, lisse et incolore. La vésicule est globuleuse, brune, et de grande taille (40 à 70 µm de diamètre). Les phialides, très serrées, sont insérées sur la vésicule par l'intermédiaire de métules disposées sur tout le pourtour de la vésicule. Métules et

phialides sont légèrement teintées de brun. Les conidies sont produites en très longues chaînes qui, au fil du temps, ont tendance à se regrouper en plusieurs colonnes compactes. Elles sont typiquement globuleuses, brunes, échinulées à très verruqueuses, et mesurent 3,5 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre. La pigmentation n'est pas répartie de façon uniforme sur toute la surface de la conidie, mais correspond à des granulations ornementales regroupées en crêtes irrégulièrement distribuées. La tête aspergillaire est donc bisériée radiée, et noire à maturité (QUATRESOUS, 2011).

### **II-C- *Aspergillus flavus* :**

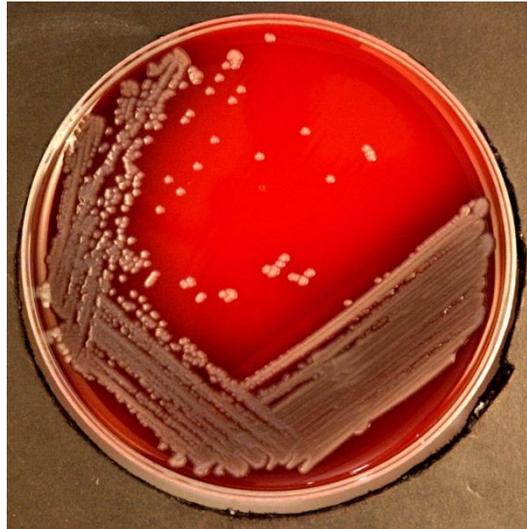
#### **II-C-1- Caractères culturels :**

Le champignon se développe rapidement sur les milieux classiques (géloses au malt et Sabouraud) à 22-25°C. La température optimale de croissance est 37°C.

Sur le milieu de culture *A. flavus* forme des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis jaune, puis vert-jaune. Le revers peut être incolore, rosâtre ou brun-rouge foncé pour les souches productrices de sclérotés (Morin, 1994). (Figure14).

#### **II-C-2-Morphologie microscopique :**

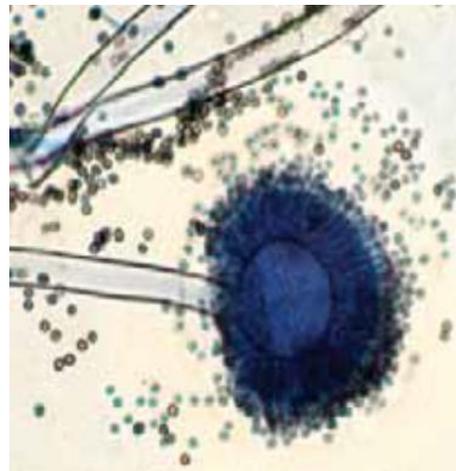
Les têtes conidiennes, unisériées ou bisériées, d'abord radiées, puis réparties en plusieurs colonnes de spores mal individualisées, jaunâtres au début, puis vert-jaune foncé. Les conidiophores hyalins, verruqueux, atteignent 1 à 2,5 mm de long. Les vésicules sont sub-globuleuses, et mesurent 25 (10-65) à 45  $\mu\text{m}$  de diamètre. Les phialides (6-10 x 4-5,5  $\mu\text{m}$ ) sont insérées directement sur la vésicule (unisériées) ou portées par des métules. Les conidies sont globuleuses à sub-globuleuses, de 3-6  $\mu\text{m}$  de diamètre, de couleur verte pâle, verruqueuses. Les sclérotés, fréquents dans les isolats récents, sont globuleux à sub-globuleux, d'abord blanc puis virant au brun-rouge foncé et au noir (Morin, 1994). (Figure15).



**Figure11** : *Pseudomonas* aspect macroscopique (Scher et Baker, 1982).



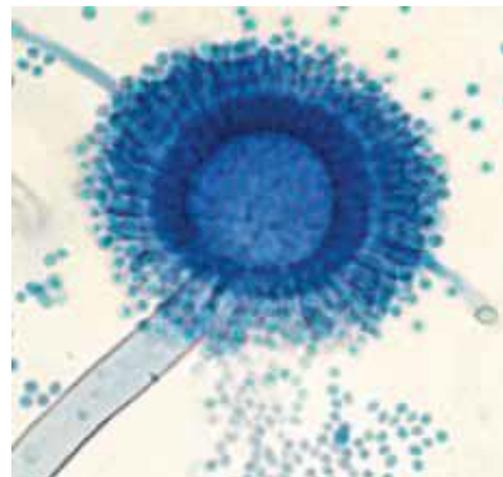
**Figure 12** : *Aspergillus niger* aspect macroscopique (QUATRESOUS, 2011).



**Figure 13** : *Aspergillus niger* aspect Microscopique (QUATRESOUS, 2011).



**Figure14** : *Aspergillus flavus* aspect Macroscopique (Morin, 1994).



**Figure15** : *Aspergillus flavus* aspect Microscopique (Morin, 1994).

### **II-D-Trichoderma :**

#### **II-D-1- Généralité :**

Le terme « *Trichoderma* » a été introduit dans la mycologie en 1794 par Persoon (**Roussos, 1985 ; Bissett, 1991a**). Il désigne des champignons microscopiques considérés durant 200 ans comme étant des «Gastéromycètes». Ces organismes cosmopolites appartiennent à un grand ensemble de champignons sans reproduction sexuée connue (**Vining, 1990 ; Genilloud et al., 1994 ; Fujita et al., 1994 ; Roquebert, 1996**).

En milieu terrestre, leur production d'enzymes, de substances bioactives et leur développement rapide font des *Trichoderma* sp. des agents potentiels en agroalimentaire et une matière de choix pour l'exploitation industrielle (**Prieto et al., 1997**). Quelques-unes des quelques 35 espèces établies à ce jour sont d'intérêt économique, pour leur production d'enzymes cellulolytiques et utilisés comme agents de lutte biologique en raison de leur antagonisme vis-à-vis d'autres espèces fongiques (antibiose, mycoparasitisme, compétition, lyse, promotion de la plante hôte) (**Fujita et al., 1994 ; Schirmböck et al., 1994 ; Roquebert, 1996 ; Cooney et al., 1997 ; Prieto et al., 1997 ; Grondona et al., 1997 ; Verbist, 2000 ; Kubicek et al., 2003**).

Les *Trichoderma* sp. peuvent être responsables d'infections chez les patients immunodéprimés, bien que l'Homme ne leur soit qu'un hôte accessoire (**Roquebert,1996**). Sous certaines conditions, ils peuvent provoquer chez lui des infections opportunistes fatales (**Munoz et al., 1997**). Il a été constaté que le développement des *Trichoderma* sp. chez l'Homme est souvent le fait de déficits immunitaires spontanés ou post-thérapeutiques, qui en favorise la survenue et en augmente la gravité (**Ragnaud et al., 1984**).

#### **II-D-2-Systématique :**

La position taxonomique actuelle des *Trichoderma* sp.se présente comme suit (Bissett, 2004) :

- Embranchement :** Amastigomycota et/ou Eumycètes
- Sous embranchement :** Ascomycotina
- Classe :** Sordariomycètes
- Ordre :** Hypocréales
- Famille :** Hypocraceae
- Genre :** *Hypocrea* mitosporique (*Trichoderma*)

### **II-D-3- Caractère Macroscopique:**

L'aspect macroscopique des *Trichoderma* sp. Est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritives appropriées, réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogenèse.

D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16ème et le 20ème jour un feutrage épais se superpose à la culture (**phialospores ou bien conidies**) (**Cournut, 1984 ; Landreau, 2001, Kubicek et al., 2003**).(figure16)

### **II-D-4- Caractère Microscopique:**

Au microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale, très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (**phialospores ou bien conidies**) (**Cournut, 1984 ; Landreau, 2001, Kubicek et al., 2003**).

La division du genre *Trichoderma* en espèces a fait l'objet de nombreuses études et de beaucoup de polémiques. Dans le règne vivant les limites de «l'espèce» reposent sur la possibilité de croisement entre individus. Or, les champignons anamorphes du genre *Trichoderma*, en tant que tels, n'ont pas de reproduction sexuée connue, et ce caractère ne peut donc être utilisé pour leur systématique. On se base alors sur les aspects culturels et la morphologie des appareils sporogènes (**Roquebert, 1996**) ainsi que sur le matériel génétique en s'appuyant sur des techniques de biologie moléculaires (**Gams et Bissett, 1998**).

La biologie moléculaire nous révèle aujourd'hui que des espèces de *Trichoderma* génétiquement différentes, présentent des similitudes morphologiques spectaculaires et leurs caractéristiques se chevauchent ce qui, d'une part explique la longue controverse connue par ce genre auparavant et d'une autre part, montre que les seuls critères morphologiques ne suffisent plus pour une classification incontestable et rigoureuse des formes anamorphes de *Trichoderma* sp. (**Cournut, 1984 ; Sugiyama, 1987**).

La taxonomie moderne des champignons a aboli l'embranchement des Deuteromycotinal, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. (**Figure 17**).

### **II-E- *Penicillium* :**

#### **II-E-1- Généralité :**

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des *Ascomycètes*. Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (**Pitt, 1988**). Les *Penicillium* sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les céréales.

Les espèces du genre *Penicillium* se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des *Aspergillus*, à des températures plus basses. Il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées.

#### **II-E-2- Caractères Macroscopique:**

Les *Penicillium* se développent rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine (géloses au malt, Sabouraud). Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20-27°C. Après 2 jours d'incubation, on observe des petites colonies plates, formées de courts filaments aériens, habituellement blancs. Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation va conférer aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu mais aussi, pour certaines espèces, jaune, orange, chamois, rose, ou rouge (**Figure 18**). Cette couleur permet une première orientation dans l'identification d'espèces : vert-gris pour *P. citrinum*, *P. cyclopium*, *P. italicum*, vert-jaune pour *P. chrysogenum*, vert sombre pour *P. roquefortii*, *P. fellutatum*, jaune pâle, chamois pour *P. nalgiovense*, jaune vif à rouge pour *P. purpurogenum*, mélange d'orange et verdâtre pour *P. islandicum*, et blanche pour *P. camembertii*. Le revers de colonies peut être incolore, jaune, rouge, brun ou noir et parfois le pigment diffuse dans le milieu de culture (**Chermette et Bussieras, 1993**).

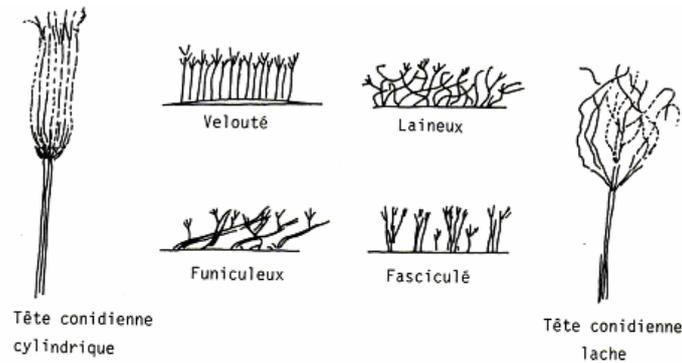
Les *Penicillium* peuvent former des colonies floconneuses (*P. camembertii*, *P. nalgiovense*), funiculeuses (*P. funiculosum*), granuleuses (*P. expansum*, *P. griseofulvum*), veloutées (*P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. roquefortii*...) (**Figure 19**).



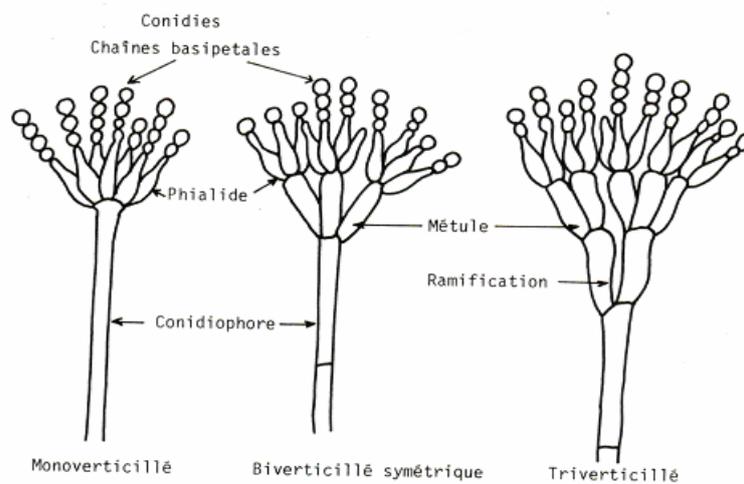
**Figure 16:** *Trichoderma* aspect Macroscopique (Landreau, 2001, Kubicek et al., 2003).



**Figure 17 :** *Trichoderma aspect* microscopique (Cournut, 1984 ; Sugiyama, 1987).



**Figure 18:** Caractères du thalle de genre *Penicillium* (Botton et al., 1990).



**Figure 19 :** *Penicillium* Aspect microscopique (Botton et al., 1990).

### II-E-3- Caractères Microscopique :

Au point de vue morphologique les *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés (**Figure19**).

Les phialides sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores. Les phialides peuvent être insérées directement (*Penicillium* monoverticillé) ou par l'intermédiaire d'une rangée de métules (*Penicillium* biverticillé) ; de deux rangées successives de métules (*Penicillium* triverticillé) ; parfois de trois rangées de métules (*Penicillium* quadriverticillé) sur les conidiophores. Les phialides, ampulliformes ou lancéolées, sont serrées les unes contre les autres donnant à l'ensemble un aspect de pinceau. Les phialides (cellules conidiogènes) donnent naissance à des conidies disposées en longues chaînes.

Les conidies sont des spores unicellulaires, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes, lisses ou rugueuses, hyalines, grisâtres ou verdâtres (**Botton et al., 1990**).

### II-F- Actinomycètes :

#### II-F-1- Généralité :

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forme seulement une masse de filaments ramifié. Le second comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (**Lechevalier et Lechevalier, 1985**). Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu
- des colonies pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides
- des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

Les différents genres d'actinomycètes peuvent sporuler soit en morcelant certaines hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores (Thermoactinomyces). D'autres genres d'actinomycètes sporulent en produisant des sporanges tel que le genre *Streptosporangium* (**Kalakoutskii et Agre, 1976**).

Les spores peuvent, selon les genres, être produites isolément (*Micromonospora*), deux à deux longitudinalement (*Microbispora*), en courtes chaînes (*Actinomadura*), en longues chaînettes (*Streptomyces*). Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, flexibles ou en spirales. De plus, elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores. La majorité des actinomycètes cultivés sur milieu solide forment un mycélium de substrat et un mycélium aérien. Néanmoins, il existe des groupes qui ne forment qu'un mycélium de substrat poussant à la surface et dans le milieu de culture ou un mycélium aérien dont les hyphes sont attachés au milieu par des crampons (Holdfasts). En culture liquide et sans agitation, les hyphes formés après la germination des spores montent en surface pour croître en contact de l'air (**Keulen *et al.*, 2003**). Cependant, en milieu liquide avec agitation, il n'y a pas de formation du mycélium aérien ni de spores. Les *Streptomyces* forment d'abord des filaments libres, qui se ramifient et s'agrègent pour former des pellets.

### **II-F-2-Caractères morphologiques**

Les principaux critères morphologiques correspondent à la présence, à l'abondance et à la disposition des hyphes du mycélium du substrat ou du mycélium aérien. Ainsi que la présence des spores, leur nombre, leur mobilité, leur forme, leur position sur les hyphes, et la présence de sclérotés, de sporanges ou de synnémata.

### I-Origine des souches :

On à utilisé 09 souches qui ont été isolé à partie de 03 champs.

Les souches d'*Erwinia* nous ont étés procurées par le laboratoire de microbiologie appliqué université d'Oran es-senia.

origine Les souches	lieu	wilaya
M3	frouha	Mascara
A	acheacha	Mostaganem
K	Sidi maarouf	Oran
PT	frouha	Mascara
SA	Sidi adjal	Mostaganem
M1	frouha	Mascara
D2	debedaba	Mostaganem
DSA	Sidi adjel	Mostaganem
JELLY	Bounif	Oran

Les souches de champignons nous ont été procurées par le même laboratoire.

Les souches de Pseudomonas et actinomycètes nous ont été procurées par Mme KHENAKA Karima maitre assistante classe A université Guelma

### **II-Test de confirmation :**

#### **II-A-ERWINIA :**

##### **II-A-1-Coloration de gram :**

###### **\*Introduction :**

Les bactéries peuvent être groupées en 2 catégories selon la méthode de coloration de Gram. Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian Gram, un bactériologiste danois. Après coloration, les bactéries Gram+ deviennent violettes alors que les bactéries Gram- apparaissent en rose. La répartition des bactéries en Gram+ ou Gram- est un critère systématique important pour la classification des bactéries. En outre, la coloration de Gram reste une étape essentielle dans l'analyse médicale pour la détermination des pathogènes. Elle permet de visualiser facilement les bactéries et de donner des indications sur leurs formes et leurs tailles [2].

###### **\*Protocole :**

###### **-Préparation d'un frottis:**

1. Identifier la lame en y inscrivant le nom de la bactérie.
2. Délimiter la zone du frottis à l'endos de la lame en traçant un cercle.
3. Déposer une gouttelette d'eau du robinet dans la zone délimitée.
4. Flamber l'anse de platine jusqu'à ce qu'elle devienne rouge.
5. Trouver une colonie isolée sur la gélose
6. Toucher à cette colonie avec l'anse de repiquage.
7. Émulsionner les bactéries prélevées dans la gouttelette d'eau.
8. Flamber l'anse de repiquage jusqu'à ce qu'elle devienne rouge. Laisser refroidir l'anse.
9. Fixer le frottis à la chaleur selon la technique utilisée par le professeur lors de la démonstration.
10. Débuter la coloration.

###### **-Procédure de la coloration de Gram :**

1. Déposer quelques gouttes de solution de **violet de gentiane** (cristal violet) sur le frottis fixé.
  - laisser agir 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.
  - Jeter l'excès de colorant dans un bécher.
  - Rincer très brièvement en faisant couler de l'H<sub>2</sub>O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).

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

- Laisser agir 1 minute.
- Jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'H<sub>2</sub>O comme précédemment décrit.

3. Couvrir la lame avec le mélange **d'alcool-acétone** pendant 10 secondes

- Rincer à l'eau du robinet. Enlever le surplus d'eau.

4. Couvrir la lame avec **le fushine**

- Laisser agir 60 secondes.
- Rincer à l'eau courante.

5. En suivant les règles d'utilisation du microscope, examiner les frottis colorés de **bactéries**

Par le microscope à l'objectif x 100 et à l'immersion

### II-A-2- Test d'oxydase :

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacé (**LNPV**).

#### \* Technique :

Le réactif peut se trouver sous deux formes :

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

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

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

#### Remarque :

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

### \*Lecture :

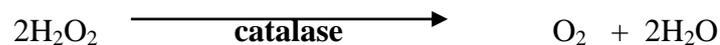
Pas de lecture avant 30 secondes environ.

**Tâche rose violette :** La bactérie possède l'activité oxydase, elle est dite **Oxydase +**

**Pas de tâche rose violette :** La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite **Oxydase –**

### II-A-3-Test de la catalase :

Ce test sert à démontrer si la bactérie produit l'enzyme catalase servant à la décomposition du peroxyde d'hydrogène [3] selon la réaction suivante :



### \*Technique :

- déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (= peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur.
- prélever une colonie à l'aide de l'anse.
- mettre la colonie dans la goutte.

### Remarque :

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

### \*Lecture :

**-Bulles d'oxygène :** La bactérie possède la catalase, elle est dite **Catalase +**



**-Pas de bulle :** La bactérie ne possède pas la catalase, elle est dite **Catalase –**

### II-A-4- Test de hugh leifson :

Ce milieu permet de déterminer la voie d'attaque du glucose utilisé comme source d'énergie par la plupart des bactéries. Pour synthétiser de l'énergie, les bactéries peuvent attaquer par :

**voie oxydative** : le glucose est utilisé uniquement en présence de dioxygène (faible libération d'acides).

**voie fermentative** : le glucose est utilisé en absence de dioxygène et en présence de dioxygène ou seulement en absence de dioxygène (forte libération d'acides) (**LNPV**).

#### \*Technique :

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

- Mélangées les deux tube bien
- Déposé qu'elle que gouttes de vaseline dans un seul tube
- Incuber 24h

#### \*Lecture :

-Changement de couleur de vert ou jaune dans la zone aérobie seulement : **Glucose dégradé par voie oxydative**

-Changement de couleur de vert ou jaune dans les zones aérobie et anaérobie : **Glucose dégradé par fermentation**

-Milieu resté vert ou devenu dans la zone aérobie et anaérobie : **Glucose non dégradé**

### **II-B- Champignon :**

**II-B-1- Test confirmatif des souches des champignons** (Trichoderma, Aspergillus Niger, Aspergillus Flavus, Penicillium) :

Se font par observation macroscopique et microscopique.

\***observation macroscopique** : à l'œil nu

\* **observation microscopique** : crase un petit morceau de champignon entre lame et lamelle dans une goutte d'eau et observée à l'objectif x 40.

**II-B-2- Méthode de préparation de lame pour observation microscopique :**

\***Méthode de fragment sur lame** :

Craser un petit morceau de champignon entre lame et lamelle dans une goutte d'eau.

\***Méthode de scotch test** :

Mettre un morceau de scotch sur la surface de champignon puis le remettre sur la lame.

### **III- Confrontation :**

Pour ce test on a utilisé trois souches d'Erwinia :

#### **III-A- Erwinia- Champignon :**

1-préparation de la solution Bactérienne :

-Mettre quelque colonie d'Erwinia dans un tube contenant d'eau distillée stérile, bien mélangé.

2-Ensemencement sur boîte contenant milieu PDA à l'aide des écouvillons selon la méthode d'antibiogramme.

3-mettre au milieu dans de la boîte un morceau de champignon se forme de disque, incubé à 25°C pendant 4 Jours.

#### **III-B-Erwinia-Pseudomonas :**

1- préparation de la solution Bactérienne :

-Mettre quelque colonie d'Erwinia dans un tube contenant d'eau distillée stérile, bien mélangé (même chose pour Pseudomonas).

2-faire un étalement (Ensemencement) de Pseudomonas sur la boîte contenant MH.

3-mettre deux très sur MH d'Erwinia, incubé à 28°C pendant 2 Jours.

#### **III-C-Erwinia –Actinomycète :**

\*le même travail préside pour Actinomycète.

### **I-Test de confirmation :**

#### **I-A-ERWINIA**

##### **I-A-1- Coloration de gram :**

Les bactéries gram positif se manifestent par coloration violet et gram negatif par couleur rose, L'observation microscopique des bactéries après coloration de Gram présentant les caractéristiques microscopiques suivent : forme coccobacilles à bacille de couleur rose donc Gram négatif (Gram-). **Figure 20**

##### **I-A-2- test d'oxydase :**

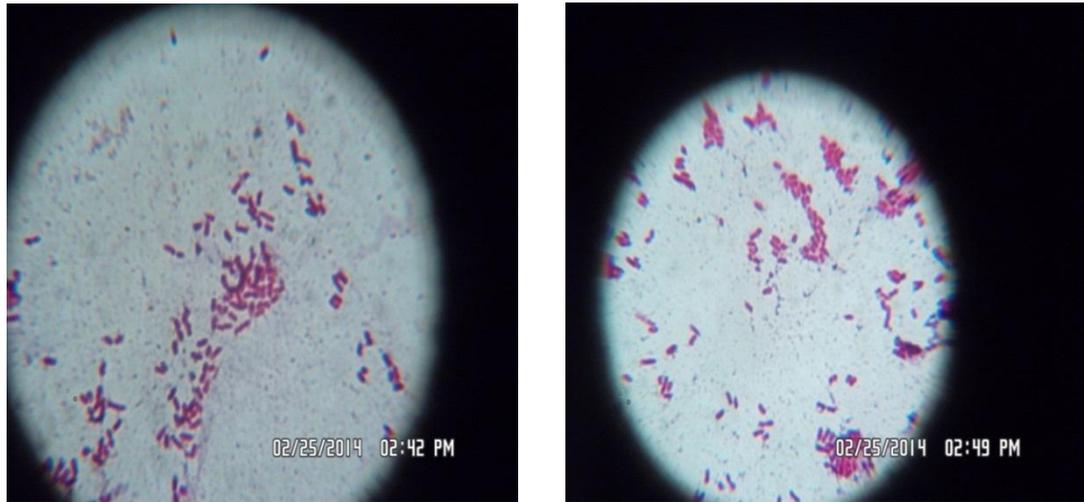
Absence de couleur rose, tous les souches d'Erwinia ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite **Oxydase –. Figure 21**

##### **I-A-3-Test de la catalase :**

Ce test nous a permis d'observer une effervescence (bulle d'oxygène) chez tous les souches d'Erwinia ce qui indique que tous les souches produisent l'enzyme catalase( **Catalase +**) **Figure 22.**

##### **I-A-4- Test de hugh leifson :**

Les deux tubes après 24h ont pris la couleur jaune donc le Glucose dégradé par le système de fermentation **Figure 23.**



**Figure20 : Coloration de gram aspect microscpiquex100.**



**Figure21 : Test d'oxydase.**



**Figure 22 : Test de catalase.**



**Figure 23 : Test de hugh leifson .**

**Tableau 5 : Résultat des souches d’Erwinia avec les tests de confirmation**

Les tests Les souches	Coloration De gram	Catalase	Oxydase	HL
M3	–	+	–	Fermentation
A	–	+	–	Fermentation
K	–	+	–	Fermentation
PT	–	+	–	Fermentation
SA	–	+	–	Fermentation
M1	–	+	–	Fermentation
D2	–	+	–	Fermentation
DSA	–	+	–	Fermentation
JELLY	–	+	–	Fermentation

### **I-B- champignon :**

#### **I-B-1-*Aspergillus Niger* et *A. Flavus* :**

Des têtes conidiennes larges, brun rouge très sombre à noir, tout d’abord sphériques et secondairement radiées. Elles sont portées par de longs conidiophores. (**Figure 24et 25**).

#### **I-B-2- *Trichoderma* :**

On observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale, très ramifiés, ils portent des phialides. (**Figure 26**).

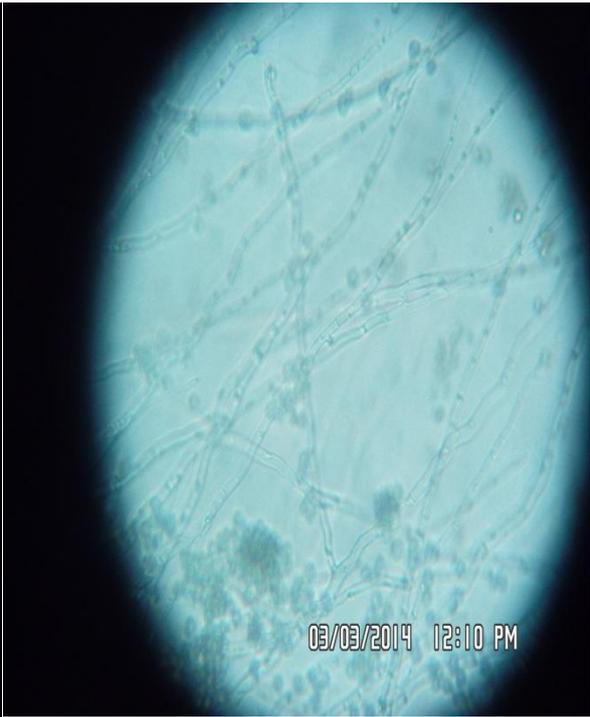
#### **I-B- *Penicillium* :**

On observe un mycélium septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, le champignon de *Penicillium* sont appelé palé de sorcière. (**Figure 27**).



**Figure24 :** *Aspergillus niger* Aspect

Microscopique x 40.



**Figure25 :** *Aspergillus flavus* Aspect

Microscopique x 40.



**Figure26:** *Trichoderma* aspect microscopique

x 40



**Figure27:** *Penicillium* aspect microscopique

x 40

### **II-Résultat de confrontation :**

#### **II-A-Erwinia-Aspergillus :**

\*on observe la croissance de la bactérie Erwinia ce qui indique que cette dernier n'a pas été inhibé par Aspergillus Niger **Figure 28.**

\* on observe la croissance de la bactérie Erwinia ce qui indique que cette dernier n'a pas été inhibé par Aspergillus Flavus **Figure 29.**

#### **II-B-Erwinia-Trichoderma :**

on observe la croissance de la bactérie Erwinia se qui indique que cette dernier n'a pas été inhibé par Trichoderma **Figure 30.**

#### **II-C-Erwinia-Penicillium :**

on observe la croissance de la bactérie Erwinia se qui un dique que cette derniere n'a pas etté inhibé par Penicillium **Figure 31.**

#### **II-D-Erwinia- Pseudomonas :**

Résultat positif se manifeste par la présence d'une zone d'inhibition, dans notre boite on observe l'absence de la zone et il y a croissance de la bactérie, donc la souche de Pseudomonas n'a pas inhibé la croissance de notre souche Erwinia. **Figure 32.**

#### **II-E-Erwinia- Actinomycète :**

Résultat positif se manifeste par la présence d'une zone d'inhibition, dans notre boite on observe l'absence de la zone et il y a croissance de la bactérie, donc la souche de Actinomycète n'a pas inhibé la croissance de notre souche Erwinia **Figure 33.**

#### **Remarque :**

Résultat de confrontation est la même pour tous les souches utiliser dans la confrontation (trois souches).



Figure 28 : Erwinia-Aspergillus Niger

(Souche A)



Figure 29 : Erwinia-Aspergillus Flavus.

(Souche D2)



Figure30 : Erwinia-Trichoderma

(Souche DAS)



Figure31 : Erwinia-Penicillium

(Souche DAS)



Figure32 : Erwinia- Pseudomonas

(Souche A)



Figure33 : Erwinia- Actinomycète

(Souche D2)

## Conclusion

---

### **Conclusion :**

*Erwinia* est une bactérie qui fait partie de la famille des entérobactéries, elle a plusieurs sous espèces, parmi ces sous espèces on trouve *Erwinia carotovora* et *Erwinia amylovora*, la première cause la pourriture molle et la deuxième cause le feu bactérien. La lutte contre cette bactérie est de façon préventive, à ce jour on ne trouve pas un produit chimique qui peut lutter contre cette bactérie, c'est-à-dire pas de lutte chimique jusqu'à l'heure actuelle. La lutte biologique fait partie parmi les moyens de lutte, mais elle reste à démontrer, des recherches sont toujours in vitro pour trouver une méthode de lutte efficace contre ce type de bactéries. L'étude de moyen de lutte biologique nous a permis tout d'abord de connaître les caractères biochimiques des *Erwinia* qui sont : bactérie gram négative, oxydase négative, catalase positive et la dégradation des glucides par voie fermentative. L'effet antagoniste des champignons (*Aspergillus*, *Penicillium* et *Trichoderma*) est négative, c'est-à-dire ces champignons n'ont pas inhibé la croissance des bactéries d'*Erwinia*. L'*actinomyète* et *Pseudomonas* ont donné le même résultat que les champignons, c'est-à-dire que les bactéries d'*Erwinia* ont poussé dans la présence de *Pseudomonas* et *Actinomycètes*. On note que ces résultats se résultent de premiers essais, ce qui implique de faire d'autres essais avec les mêmes souches et d'autres souches, et cela est comme perspective, pour approfondir notre travail.

### Références Bibliographique:

- **Achouak, W., Sutra, L., Heulin, T., Meyer, J.M., Fromin, N., Degraeve, S., Christen, R. and Gardan, L., 2000.** *Pseudomonas brassicacearum* sp. nov. and *Pseudomonas thivervalensis* sp. nov., two root-associated bacteria isolated from *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana*. *Int. J. Syst. Evolution. Microbiol.* **50** : 9–18.  
Actinomycetes in lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production.  
Peerreviewe, J. AWWA, 95 (2), 113-118.
- **Bain RA, Pérombelon MCM, Tsor L, et al.** Blackleg development and tuber yield in relation to numbers of *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica* on seed potatoes. *Plant Pathol* 1990 ; 39 : 125-33.
- **Bano N. and Musarrat J., 2003.** Characterization of a new *Pseudomonas aeruginosa* strain NJ-15 as a potential biocontrol agent. *Cur. Microbiol.* **46**: 324-328.
- **Barzic MR, Samson R, Trigalet A.** Pourriture bactérienne de la tomate cultivée en serre. *Ann Phytopathol* 1976 ; 8 : 237-40.
- **Battle, S.E., Rello, J. and Hauser, A.R., 2009.** Genomic islands of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol. Lett.* **290**: 70–78.
- **Behrendt, U., Ulrich, A., Schumann, P., Meyer, J-M and Spröer, C., 2007.** *Pseudomonas lurida* sp. nov., a fluorescent species associated with the phyllosphere of grasses. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **57** (5): 979-985.
- **Bell-Perkins, L. J., et J.M. Lynch. 2002.** Rhizosphère microbiology, p. 2713-2728. *In* G. Bitton (ed.), *Encyclopedia of environmental microbiology*, A Wiley-Interscience Publication, Canada. biologique, contrôle. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, Limoges.
- **BISSETT, J. 1991,** A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. (b) *Can. J. Bot.*, 69 : 2357-2372.
- **BISSETT, J. 2004,** Commentaires de l'adresse internet suivante : [http://www.Medicalglossary.org/fungi\\_mitospric\\_fungi\\_definitions.html](http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitospric_fungi_definitions.html).
- **Bogs J, Bruchmüller I, Erbar C, Geider K (1998)** Colonization of host plants by the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* marked with genes for bioluminescence and fluorescence. *Phytopathology* 88:416-421
- **Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P., (1990),** Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Ed. Masson, Paris .

- **Bozal, N., Montes, M.J. and Mercade, E., 2007.** *Pseudomonas guineae* sp. nov., a novel psychrotolerant bacterium from an Antarctic environment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **57**: 2609–2612.
- **Burr TJ, Schroth MN.** Occurrence of soft rots *Erwinia* spp. in soil and plant material. *Phytopathology* 1977 ; 67 : 1382-7.
- **Campos E, Maher EA, Kelman A.** Relationship of pectolytic clostridia and *Erwinia carotovora* strains to decay of potato tubers in storage. *Plant Dis* 1982 ; 66 : 543-6.
- **Cattelan, A.J., Hartel, P.G. and Fuhrmann, J.J., 1999.** Screening for Plant Growth–Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **63**:1670–1680. Characteristics of airborne actinomycete spores. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(10),
- **Chermette R., Bussieras J., (1993),** Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l’Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- **Chin-A-Woeng, T.F.C., Bloemberg, G.V., Van der Bij, A., Van der Drift, K., Schripsema, J., Kroon, B., Scheffer, R., Keel, C., Bakker, P., Tichy, H., De Bruijn, F., Thomas-Oates, J. and Lugtenberg, B.J., 1998.** Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **11**:1069–1077. colocynthis sur la croissance de quelque moisissure d’altération de blé tendre stocké. Compte-rendu des 4èmes Rencontres en Toxinologie, Paris, , 13-15. Compte-rendu des 4èmes Rencontres en Toxinologie, Paris, 13-15.
- **COONEY, J.M. ; LAUREN, D.R. & PERRY-MEYER, L.J.1997,** A novel tubular bioassay for measuring the production of antagonistic chemicals produced at the fungal/pathogen interface. *Letters in Applied Microbiology*, 24 (6) : 460-462 .
- **Cother EJ, Bradley JK, Gillings MR, et al.** Characterization of *Erwinia chrysanthemi* biovars in alpine water sources by biochemical properties, GLC fatty acid analysis and genomic DNA fingerprinting. *J Appl Bacteriol* 1992 ; 73 : 99-107.
- **COURNUT, B.1984,** Le genre *Trichoderma* hyphomycètes. Th. : Pharmacie : Marseille : 77 p.
- **Crowhurst R.** Warm summers could favour wilt disease. *Potato Review* 2006 : 8-11.
- **De Boer SH, Verdonck L, Vrugink H, et al.** Serological and biochemical variation among potato strains of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and their taxonomic relationship to other *Erwinia carotovora* strains. *J Appl Bacteriol* 1987 ; 63 : 487-95.
- **De Boer SH.** Prospects for control of potato diseases caused by pectolytic *erwinias*. In : Zehnder GW, Powelson ML, Jansson RK, Raman KV, eds. *Advances in potato pest biology and management*. Saint-Paul, Minnesota : APS Press, 1994 : 136-48.

- **De Boer SH.** Relative incidence of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in stolon end and peridermal tissue of potato tubers in Canada. *Plant Dis* 2002 ; 86 : 960-4.
- **De Boer, S. H.** 1994. Prospects for control of potato diseases caused by pectolytic
- **De Mendonça M, Stanghellini ME.** Endemic and soilborne nature of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*, a pathogen of mature sugar beets. *Phytopathology* 1979 ; 69 : 1096-9.
- **De Salamone, G.I.E., Hynes, R.K. and Nelson, L.N., 2001.** Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Can. J. Microbiol.*, 47: 103-113.
- **De Weger, L.A., Dekkers, L.C., van der Bij, A.J. and Lugtenberg, B.L.L., 1994.** *Use of phosphate-reporter bacteria to study phosphate limitation in the rhizosphere and in bulk soil. Mol. Plant-Microbe Interact.* 7: 32-38.
- differentiation in actinomycetes. *Bacteriol. Rev.* 40 (2), 469-524.
- **Digat, B. and Gardan, L., 1987.** Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. *Bull OEPP.* 17: 559-568.
- **Duarte V, De Boer SH, Ward LJ, et al.** Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *J Appl Microbiol* 2004 ; 96 : 535-45.
- **Elphinstone JG, Pérombelon MCM.** Contamination of potatoes by *Erwinia carotovora* during grading. *Plant Pathol* 1986 ; 35 : 25-33.
- **Elphinstone JG, Pérombelon MCM.** Contamination of progeny tubers of potato plants by seed- and leaf-borne *Erwinia carotovora*. *Potato Res* 1986 ; 29 : 77-93.
- *Erwinias*. Pp 136-148. Dans Zehnder G. W., M. L. Powelson, R. K. Janson et K.
- **Fox R. T. V., J. G. Manners, et A. Myers.** 1972. Ultrastructure of tissue disintegration and host reactions in potato tubers infected by *Erwinia carotovora* var.
- **Franc GD, Harrison MD, Powelson ML.** The presence of *Erwinia carotovora* in ocean water, rain water and aerosols. In : Graham DC, Harrison MD, eds. Report of the International conference on potato blackleg disease. Oxford : Potato Marketing Board, 1985 : 43-5.
- **GACEM M. A., 2011.** Contribution à l'étude de l'activité antifongique et
- **GAMS, W. & BISSETT, J.1998** , Morphology and identification of *Trichoderma* sp. *Trichoderma & Gliocladium, Volume 1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics.*
- **Garbaye, J., 1994.** Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* 128: 197-210.
- **Gardan L, Gouy C, Christen R, et al.** Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov.,

- Pectobacterium betavasculorum sp. nov. and Pectobacterium wasabiae sp. nov. *Int J Evol Microbiol* 2003 ; 53 : 381-91.
- **Gardan, L., Bella, P., Meyer, J.M., Christen, R., Rott, P., Achouak, W. and Samson, R., 2002.** *Pseudomonas salomonii* sp. nov., pathogenic on garlic, and *Pseudomonas palleroniana* sp. nov., isolated from rice. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **52**: 2065–2074.
  - **GENILLOUD, O. ; PELAEZ, F. ; GONZALEZ, I. & DIEZ, M.T.1994** , Diversity on actinomycetes and seaweeds from the Iberian coasts. *Microbiologia*, 10 : 413-422.
  - **Glick, B.R., 1995.** *The enhancement of plant growth by free-living bacteria.* *Can. J. Microbiol.* **41**: 109-117.
  - **Glick, B.R., Patten, C.L, Holguin, G. and Penrose, D.M., 1999.** *Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria.* Imperial College Press, London, UK, 267 p.
  - **Graham DC, Harrison MD.** Potential spread of *Erwinia* spp. in aerosol. *Phytopathology* 1975; 65 : 739-41.
  - **GRONDONA, I. ; HERMOSA, R. ; TEJADA, M. ; GOMIS, M.D. ; MATEOS, P. S. ;BRIDGE, P. D. ; MONTE, E. & GARCIA-ACHA, I.1997,** Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *App. Environ. Microb.*, 63 (8) : 3189-3198.
  - **Haas, D., et C. Keel. 2003.** Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Ann. Rev. Phytopathol.* **41**: 117-153.
  - **HAMDI M., 1993.** Nouvelle conception d'un procédé de dépollution biologique des
  - **Harrison MD, Quinn CE, Sells A, et al.** Waste potato dumps as sources of insects contaminated with soft rot coliform bacteria in relation to recontamination of pathogen-free potato stocks. *Potato Res* 1977 ; 20 : 37-52.
  - **Hauben L ., Moore E.K.B., Vauterin L., Steenackers M., Mergaert J., Verdonck L. & Swings J.** 1998. Phylogenetic position of phytopathogens in the *Enterobacteriaceae* . *System. Appl. Microbiol.* 21, 384-397.
  - **Hélias V, Andrivon D, Jouan B.** Development of symptoms caused by *Erwinia carotovorasubsp. atroseptica* under field conditions and effects of these symptoms on the yield of individual potato plants. *Plant Pathol* 2000 ; 49 : 23-32.
  - **Hélias V, Andrivon D, Jouan B.** Internal colonisation pathways of potato plants by *Erwiniacarotovora subsp. atroseptica*. *Plant Pathol* 2000 ; 49 : 33-42.
  - **Hélias V, Le Roux AC, Montfort F.** Potato blackleg in France: incidence of causal *Erwinias* species and field symptoms expression. 1st International *Erwinia* Workshop, Dundee, Scotland. 7–9th July 2006; 15. Hermann. Paris. 264.

- **Hernandez-Lucas, C., Royo, J., Paz-Ares, J., Ponz, F., Garcia-Olmedo, F. and Carbonero, P., 1986.** Polyadenylation site heterogeneity in mRNA encoding the precursor of the barley toxin a-hordothionin. *FEBS Lett.* **200**: 103-105.
- **Höfte, M., et N. Altier. 2010.** Fluorescent pseudomonads as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. *Res. Microbiol.* **161**: 464-471
- **Howard, R. J., J. A. Garland, and W. L. Seaman.** 1994. Diseases and pests of
- **Howell, C.R. and Stipanovic, R.D., 1980.** Suppression of *Pythium ultimum*-induced damping-off of cotton seedling by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, Pyoluteorin. *Phytopathol.* **70**: 712-715. Hypocrea species. *Carbohydrate Research*, 304 (3-4) : 281-291.
- **Janse JD, Ruissen MA.** Characterization and classification of *Erwinia chrysanthemi* strains from several hosts in The Netherlands. *Phytopathology* 1988 ; 78 : 800-8.
- **Kalakoutskii L.V. and Agre N.S. (1976).** Comparative aspects of development and
- **Keulen G.V., Jonkers H.M., Closson D. and Woston H.A.B. (2003).**  
Differentiation and anaerobiosis in standing liquid cultures of *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* 185(4), 1455-1458.
- **Klement Z (1963)** Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic pseudomonads. *Nature* 199:299-300
- **Kloepper, J.W. and Schroth, M.N., 1978.** Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: 4th Int. *Conf. Plant Pathogen. Bacteria.* Angers France, **2**: 879-882.
- **Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M. and Schroth., M.N., 1980b.** Pseudomonas siderophores: a mechanism explaining disease suppressive soils. *Curr. Microbiol.* **4**: 317–320.
- **KUBICEK, C.P. ; BISSETT, J. ; DRUZHININA, I., KULLNIG-GRADINGER, C. & SZAKACS,G.2003,** Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* sp.: a case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet. Biol.*, 38 (3) : 310-319.
- **Lacey J. (1997).** Actinomycetes in composts. *Ann. Agr. Env. Med.* 4, 113-121.
- **LANDREAU, A.2001,** Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii* Oudemans isolée du milieu marin :Etude chimique, biologique et risques pour les coquillages en culture. Th. : Pharmacie : Nantes : 201 p.
- **Larpent J-P. and Larpent-Gourgaud M. (1985).** *Eléments de Microbiologie.*
- **Laurila J, Lehtinen A, Ahola V, Pasanen M, Hannukkala A, Pirhonen M.** Characterisation of *Dickeya* (*Erwinia chrysanthemi*) strains causing potato blackleg and soft rot in Finland. In : Hannukkala A, Segerstedt M, eds. *New and old pathogens of potato in changing climate*, Proceedings of the EAPR Pathology Section seminar. Hattula : MTT Agrifood Research Finland, 2007.

- **Lechevalier M.P. and Lechevalier H. (1985).** Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces* In: Biology of industrial microorganisms. The Benjamen Cummings Publishing Company, Inc. 315-316.
- **Lelliott R.A. & Dickey R.S.** 1984. *Erwinia*. In : Krieg and Holt, Bergey's Manual of Sestematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, USA. 1, 469-476.
- **Lemanceau, P., Offre, P., Mougel, C., Gamalero, E., Dessaux, Y., Moenne-Loccoz, Y. and Berta, G., 2006.** Microbial ecology of the rhizosphere. In: *Microbiological methods for assessing soil quality*. Bloem, J., Hopkins, D.W. et Benedetti, A. (eds). CABI publishing, Massachusetts, Cambridge, MA, Etats-Unis, pp. 228-230.
- **Lim, H.S., Kim, Y.S. and Kim, S.D., 1991.** *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 Genetic Transformation and Antifungal Mechanism against *Fusarium solani*, an Agent of Plant Root Rot. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**(2): 510-516.
- **Liu, R., Liu, H., Feng, H., Wang, X., Zhang, C.X., Zhang, K.Y. and Lai, R., 2008.** *Pseudomonas duriflava* sp. nov., isolated from a desert soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **58**: 1404–1408. Londres : KUBICEK, C.P. ; HARMAN, G.E. & ONDIK, K.L., CRC Press, pp. 3- 34, 300 p.
- **Lugtenberg, B.J., Chin, A. W.T.F. and Bloemberg, G.V., 2002.** Microbe-plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **81**:373-383.
- **M., 2002.** On the safety of *Aspergillus niger* – a review. *Appl Microbiol Biotechnol*
- **Manaia, C.M. and Moore, E.R., 2002.** *Pseudomonas thermotolerans* sp. nov., a thermo-tolerant species of the genus *Pseudomonas* sensu stricto. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **52**: 2203–2209.
- margines, effluents liquides de .l'extraction de l'huile thèse de doctorat, Université de
- **Mariat F. and Sebald M. (1990).** Actinomycètes. In: Bactériologie Médicale. Le
- **McCarter-Zorner NJ, Graham DC, Harrison MD, et al.** The presence of *Erwinia carotovora* in surface water. *Am Potato J* 1982 ; 59 : 478.
- **McCarter-Zorner NJ, Harrison MD, Graham DC, et al.** Soft rot *Erwinia* bacteria in the rhizosphere of weeds and crop plants in Colorado, United States and Scotland. *J Appl Bacteriol* 1985 ; 59 : 357-68.
- Memoire de Magister en biologie, Universite Kasdi Merbah, Ouargla.
- **Mincer T.J., Jensen P.R., Kauffman C.A. and Fenical W. (2002).** Widespread and
- Minor L. et Véron M. (Eds), 2ème édition, Flammarion. Paris. 935-949.
- **Molina JJ, Harrison MD, Brewer JW.** Transmission of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* by *Drosophila melanogaster* Meig. I. Acquisition and transmission of the bacterium. *Am Potato J* 1974 ; 51 : 245-50.

- **Molina JJ, Harrison MD.** The role of *Erwinia carotovora* in the epidemiology of potato blackleg. I. Relationship of *E. carotovora* var. *carotovora* and *E. carotovora* var. *atroseptica* to potato blackleg in Colorado. *Am Potato J* 1977 ; 54 : 587-91.
- **Moore, E.R.B., B.J. Tindall, V.A.P. Martins Dos Santos, D.H. Pieper, J.L. Ramos, et N.J. Palleroni. 2006.** Nonmedical: *Pseudomonas*, p.646-703. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, et E. Stackebrandt (ed.), *Prokaryotes*, Springer, USA
- **Morin O., (1994),** *Aspergillus* et aspergilloses: biologie, Ed. Techniques Encycl. Med. Chir. (Elsevier, Paris), *Maladies infectieuses* 8-600-A-10
- **MUNOZ, F.M. ; DEMMLER, G.J. ; TRAVIS, W.R. ; OGDEN, A.K. ; ROSSMANN, S.M. & RINALDI, M.G. 1997,** *Trichoderma longibrachiatum* infection in a pediatric patient with aplastic anemia. *J. Clin. Microbiol.*, 35 (2) : 499-503
- **Munsch, P., Alatossava, T., Marttinen, N., Meyer, J.M., Christen, R. and Gardan, L., 2002.** *Pseudomonas costantinii* sp. nov., another causal agent of brown blotch disease, isolated from cultivated mushroom sporophores in Finland. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **52**: 1973–1983.
- **Natsch, A., Keel, C., Pfirter, H.A., Haas, D. and Défago, G., 1994.** Contribution of the global regulator gene *gacA* to persistence and dissemination of *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain CHAO introduced into soil microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 2553-2560.
- **Nielsen LW.** *Erwinia* species in the lenticels of certified seed potatoes. *Am Potato J* 1978 ; 55: 671-6.
- **Nielsen, M.N. and Sørensen, J., 1999.** Citinolytic activity of *Pseudomonas fluorescens* isolates from barley and sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* **30**: 217-227.
- **Nielsen, M.N., Sørensen, J., Fels, J. and Pedersen, H.C., 1998.** Secondary metabolite- and endochitinase-dependent antagonism toward plant-pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 3563–3569.
- **Nishimori, E., Kita-Tsukamoto, K. and Wakabayashi, H., 2000.** *Pseudomonas plecoglossicida* sp. nov., the causative agent of bacterial haemorrhagic ascites of ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **50**: 83–89.

- **Olsson K.** The presence of *Erwinia carotovora* in ocean water, rain water and aerosols. In : Graham DC, Harrison MD, eds. Report of the International Conference on Potato Blackleg Disease. Oxford : Potato Marketing Board, 1985 : 48-9.
- **Palacio-Bielsa A, Cambra MA, Lopez MM.** Characterisation of potato isolates of *Dickeya chrysanthemi* in Spain by microtitre system for biovar determination. *Ann Appl Biol* 2006 ; 148 : 157-64.
- **Paulin J.P. 1987.** Réalisations récentes de la recherche sur le feu bactérien. *Bull OEPP* 17, 177-188.
- **Paulin JP (1996)** Control of fire blight in European pome fruits. *Outlook Agricu* 25:49-55
- **Peix, A., Berge, O., Rivas, R., Abril, A. and Velazquez, E., 2005.** *Pseudomonas argentinensis* sp. nov., a novel yellow pigment-producing bacterial species, isolated from rhizospheric soil in Cordoba (Argentina). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **55**:1107–1112.
- **Peix, A., Rivas, R., Mateos, P.F., Martinez-Molina, E., Rodriguez-Barrueco, C. and Velazquez, E., 2003.** *Pseudomonas rhizosphaerae* sp. nov., a novel species that actively solubilizes phosphate *in vitro*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53**: 2067–2072.
- **Peix, A., Rivas, R., Santa-Regina, I., Mateos, P.F., Martinez-Molina, E., Rodriguez-Barrueco, C. and Velazquez, E., 2004.** *Pseudomonas lutea* sp. nov., a novel phosphate solubilizing bacterium isolated from rhizosphere of grasses. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **54**: 847–850.
- **Pérombelon MCM, Hyman LJ.** Frequency of *Erwinia carotovora* in the Alyth Burn in eastern Scotland and the sources of the bacterium. *J Appl Bacteriol* 1987 ; 63 : 281-91.
- **Pérombelon MCM, Hyman LJ.** Survival of soft rot coliforms, *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora* and *E. carotovora* subsp. *atroseptica* in soil in Scotland. *J Appl Bacteriol* 1989 ; 66: 95-106.
- **Pérombelon MCM, Kelman A.** Blackleg and other potato diseases caused by soft rot erwinias; proposal for revision of terminology. *Plant Dis* 1987 ; 71 : 283-5.
- **Pérombelon MCM, Kelman A.** Ecology of the soft rot erwinias. *Annu Rev Phytopathol* 1980 ; 18 : 361-87.
- **Pérombelon MCM, Lopez MM, Carbonell J, et al.** Effects of contamination by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *E. carotovora* subsp. *atroseptica* of potato seed tubers and of cultivar resistance on blanking or nonemergence and blackleg development in Valencia, Spain. *Potato Res* 1988 ; 31 : 591-9.
- **Pérombelon MCM.** Blackleg risk potential of seed potatoes determined by quantification of tuber contamination by the causal agent and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*: a critical review. *OEPP/EPPO Bull* 2000 ; 30 : 413-20.
- **Pérombelon MCM.** Diversity in erwinias as plant pathogens. In : INRA, ed. *Plant Pathogenic Bacteria*, Versailles. 1992 : 113-28.

- **Pérombelon MCM.** Potato blackleg: epidemiology, host-pathogen interaction and control. *Neth J Plant Pathol* 1992 ; 98 : 135-46.
- **Pérombelon MCM.** Sites of contamination and numbers of *Erwinia carotovora* present in stored seed potato stocks in Scotland. *Ann Appl Biol* 1973 ; 74 : 59-65.  
persistent population of a major new marine actinomycetes taxon in ocean  
Phytopathological Society and Entomological Society of Canada, Ottawa.
- **Pieterse, C.M.J., Ton, J. and Van Loon, L.C., 2001.** Cross-talk between plant defence signalling pathways: boost or burden? *Ag. Biotech. Net.* **3**: ABN 068.
- **Pitt J.I., (1988),** Laboratory guide to common *Penicillium* species, Academia Press editor, London.
- **Powelson ML.** Potato early dying disease in the Pacific Northwest caused by *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* and *E. carotovora* pv. *atroseptica*. *Am Potato J* 1985 ; 62 : 173-6.
- **PRIETO, A. ; LEAL, J.A. ; POVEDA, A. ; JIMÉNEZ-BARBERO, J. ; GÓMEZ-MIRANDA, B; DOMENECH, J. ; AHRAZEM, O. & BERNABÉ, M.1997,**  
Provence, Marseille.
- **QUATRESOUS N., 2011.** Aspergillose humaine. Épidémiologie, diagnostic
- **RAGNAUD, J.M. ; MARCEAU, C. ; ROCHE-BEZIAN, M.C. & WONE, C.1984,** Infection péritonéale à *Trichoderma koningii* sur dialyse péritonéale continue
- **Ranganna B., A. C. Kushalappa, et G. S. V. Raghavan.** 1997. Ultraviolet irradiance to control dry rot and soft rot of potato in storage. *Can. J. Plant Pathol.* 19:30-35.
- **Reponen T.A., Gazenko S.V., Grinshpun S.A., Willeke K. and Cole E.C. (1998).**
- **Romanenko, L.A., Uchino, M., Tebo, B.M., Tanaka, N., Frolova, G.M. and Mikhailov, V.V., 2008.** *Pseudomonas marincola* sp. nov., isolated from marine environments. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **58**: 706–710.
- **ROQUEBERT, M.-F. 1996 ,** Interactions antagonistes des *Trichoderma* sp. dans les systèmes telluriques :Systématique, biologie et écologie des organismes.
- **ROQUEBERT, M.-F.1996,** Interactions antagonistes des *Trichoderma* sp. dans les systèmes telluriques : Systématique, biologie et écologie des organismes.
- **Sakthivel, N. and Gnanamanickal, S.S., 1987.** Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for Suppression of Sheath Rot Disease and for Enhancement of Grain Yields in Rice (*Oryza sativa* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* **53**(9):2056-2059.
- **Salisbury, F.B., 1994.** The Role of Plant Hormones. In: *Plant-Environment Interactions.* Wilkinson, R.E. (ed.). Marcel Dekker, New York, USA., pp. 39-81.
- **Samson R, Legendre JB, Christen R, et al.** Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to

the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. *Int J Evol Microbiol* 2005 ; 55 : 1415-27.

- **Samson R, Poutier F, Saily M, Jouan B.** Caractérisation des *Erwinia chrysanthemi* isolées de *Solanum tuberosum* et d'autres plantes hôtes selon les biovars et sérogroupes. *OEPP/EPPO Bull* 1987 ; 17 : 11-6.
- **Sands , D.C. and Rovira, A.D., 1971.** Fluorescent *Pseudomonads* a Residual Component in the Soil Microflora? *J. Appl. Microbiol.* **34**(1): 253–259.
- **Sardi P., Saracchi M., Petrolini B., Borgonovi G.E. and Merli S. (1992).** Isolation of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized roots. *Appl. Env. Microbiol.* **58**(8), 2691-2693.
- **Scher, F.M. and Baker, R., 1980.** Mechanism of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathol.* **70**: 412–417.
- **Scher, F.M. and Baker, R., 1982.** Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. *Phytopathol.* **72**:1567–1573.
- **SCHIRMBÖCK, M. ; LORITO, M. ; WANG, Y.L. ; HAYES, C.K. ; ARISAN-ATAC, I. ;SCALA, F. ; HARMAN, G.E. & KUBICEK, C.P.1994,** Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Appl. Environ. Microb.*, 4364-4370.
- **Schroth, M.N., Hildebrand, D.C. and Panopoulos, N., 1992.** Phytopathogenic pseudomonads and related plant-associated pseudomonads. In: *The Prokaryotes* (MP Balows, ed), Springer-Verlag, New York, pp. 3104-3131.
- **SCHUSTER E., DUNN-COLEMAN N., FRISVAD J C., VAN DIJCK P. W.** sediments. *Appl. Env. Microbiol.* **68**(10), 5005-5011.
- **Sharga B. M., et G. D. Lyon.** 1998. *Bacillus subtilis* BS 107 as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria. *Can. J. Microbiol.* **44**:777-783.
- **Smith C, Bartz JA.** Variation in the pathogenicity and agressiveness of strains of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* isolated from different hosts. *Plant Dis* 1990 ; 74 : 505-9.
- **Song J., Weon H.Y., Yoon S.H., Parrk D.S., Go S.G. and Suh J.W. (2001)** Phylogenetic diversity of thermophilic actinomycetes and Thermoactinomycetes isolated from mush room composts in Korea based on 16S RNA gene sequence analysis. *FEMS Microbiol. Lett.* **202**, 97-102.

- **Spiers, A.J., Buckling, A. and Rainey, P.B., 2000.** The causes of *Pseudomonas* diversity. *Microbiol.* **146**: 2345–2350.
- **Stanghellini ME, Meneley JC.** Identification of soft rot *Erwinia* associated with blackleg of potato in Arizona. *Phytopathology* 1975 ; 65 : 86-7.
- **Stanghellini ME.** Soft rotting bacteria the rhizosphere. In : Mount MS, Lacy GH, editors. *Phytopathogenic Prokaryotes*, 1. 1982 : 249-61.
- **Stevenson W. A., R. Loria, G. D. Franc, et D. P. Weingartner.** 2001. Compendium of potato diseases. American Phytopathological Society. 2e éd. St-Paul, Minnesota. 106p.
- **Stommel JR, Goth RW, Haynes KG, Kim SH.** Pepper (*Capsicum annum*) soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Plant Dis* 1996 ; 80 : 1109-12.  
Structure of complex cell wall polysaccharides isolated from *Trichoderma* and
- **SUGIYAMA, J.1987,** Pleomorphic fungi: the diversity and its taxonomic implications. Tokyo: Elsevier, pp. 29-56, 325 p.
- **Suslow, T.V. and Schroth, M.N., 1982.** Rhizobacteria of sugar beet: Effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathol.* **72**:199-206.
- **Thirupl L., Johsen K. and Winding A. (2001).** Succession of indigenous *Pseudomonas* spp. and Actinomycetes on barley roots affected by the antagonistic strain *Pseudomonas fluorescens* DR54 and the fungicide imazalil. *Appl. Env. Microbiol.* 67(3), 1147-1153.
- **Thomashow, L.S., Weller, D.M., Bonsall, R.F. and Pierson, L.S., 1990.** Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat. *Appl. Environ. Microb.* **56**: 908-912.
- V. Raman (éd). *Advances in potato pest management.*
- **Van derWolf J, Speksnijder A, Velvis H, van de Haar J, van Doorn J.** Why is *Erwinia chrysanthemi* (*Dickeya* sp.) taking over?- The ecology of a blackleg pathogen. In : Hannukkala A, Segerstedt M, eds. *New and old pathogens of potato in changing climate, Proceedings of the EAPR Pathology Section seminar.* Hattula : MTT Agrifood Research, 2007.
- **van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M. and Pieterse, C. M. J., 1998.** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* **36**: 453–483.
- **Van Vuurde JWL, De Vries PHM, Roozen NJM.** Application of immunofluorescence colonystaining (IFC) for monitoring populations of *Erwinia* spp. on potato tubers, in surface water and in cattle manure slurry. In : Lemattre M, Freigoun S, Rudolph K, Swings JG, eds. *Proceedings of the 8th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Paris.* 1994.  
  
vegetable crops in Canada. An illustrated compendium. The Canadian

## Références Bibliographique

---

- **Vela, A.I., Gutierrez, M.C., Falsen, E., Rollan, E., Simarro, I., Garcia, P., Dominguez, L., Ventosa, A. and Fernandez-Garayzabal, J.F., 2006.** *Pseudomonas simiae* sp. nov., isolated from clinical specimens from monkeys (*Callithrix geoffroyi*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **56**: 2671–2676.
- **VERBIST, J.-F.2000**, Marine fungal substances in: Studies in natural products chemistry.Londres : Elsevier Sciences B.V., 24 : 979-1092.
- **VINING, L.C.1990**, Fonctions of secondary metabolites. *Annu. Rev. Microbiol.*, 44 : 395-427.
- **Weller, D.M. and Cook, R. J., 1983.** Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathol.* **73**:463-469.
- **Zaitlin B., Watson S.B., Ridal J., Satchwill T. and Parkinson D. (2003).**

### Références internet :

[1] <http://faostat.fao.org>. pdf

[2] [http://bioutils.unige.ch/experiences/images\\_exp\\_gram/expe5.pdf](http://bioutils.unige.ch/experiences/images_exp_gram/expe5.pdf)

[3] [http://sd-2.archive-host.com/membres/up/4626196705901688/test\\_catalase.pdf](http://sd-2.archive-host.com/membres/up/4626196705901688/test_catalase.pdf)

**Annexe :**

**I. Les milieux de culture :**

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

➤ **Milieu de PDA (potato dextrose agar) :**

- Extrait de pomme de terre..... 200g
- Glucose..... 20g
- Agar-agar..... 15g
- Eau distillée..... 1000ml
- PH final : 6,8

➤ **Milieu de King B (Flucka) :**

- Peptone de caséine .....10g
- Peptone de viande.....10g
- MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O.....1,5 g
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.....1,5 g
- Agar agar.....12 g
- Eau distillé.....1000 ml

➤ **Milieu LPGA :**

- Extrait de levure .....05g
- Peptone .....05g
- Glucose .....10g
- Agar agar .....15g
- Eau distillée.....1000 ml
- PH final : 6,8

➤ **Milieu GN (Gélose Nutritif) :**

- Extrait de viande..... 1,0g/L
- Extrait de levure..... 2.5g/L
- Peptone..... 5,0g/L
- Chlorure de sodium..... 5,0g/L
- Agar..... 15,0g/L
- Eau distillé..... 1000 ml
- pH = 7,0

➤ **Milieu de Gélose de Sabouraud :**

- Peptone..... 10 g
- Glucose massé..... 20 g
- Agar-agar..... 15 g
- Eau distillée..... 1 000 ml
- vitamines et facteurs de croissance
- pH = 6,0

# Résumé

---

## Résumé :

Dans notre travail, qui se divise en trois parties nous avons élaboré :

-En première partie, une étude de confirmation des souches Erwinia, par des tests biochimiques.

-En deuxième partie, est essayé de la lutte biologique, et cela par des tests de confrontation entre les souches d'Erwinia et des champignons (aspergillus, trichoderma, penicillium), Pseudomonas et actinomycète.

L'étude des tests biochimiques ont révélé que les souches utilisées ont des mêmes caractères biochimiques d'Erwinia, qui sont bactérie gram négatives, catalase positive, oxydase négative et Hugh-Lefson qui a montré système fermentaire.

Dans le cas de la lutte biologique, nos souches d'Erwinia n'ont pas été inhibées par les champignons utilisés, Pseudomonas et actinomycètes.

**Mots clés :** Erwinia, pourriture molle, feu bactérien, lutte biologique.

### Summary:

In our case study, subdivided into three parts, we have developed the following items:

- In the first part, a study of confirmity Erwinia strains by biochemical tests.
- The second part is an illustration of biological control, and cella by confrentation tests between Erwinia strains and fungi (Aspergillus, Trichoderma, Penicillium), Pseudomonas and actinomycetes.

The study of biochemical tests reveal that the used strains of the same biochemical characteristics of Erwinia, which are gram-negative bacteria, catalase positive, oxidase negative and hugh Lifson which showed fermentative system. In the case of biological control, our Erwinia strains were not inhibited by the fungi used, Pseudomonas and actinomycetes.

**Keywords:** Erwinia soft rot, fire blight biological control.

### ملخص:

في دراسة حالتنا، والتي تنقسم إلى جزئين، وقد قمنا بما يلي:

- في الجزء الأول، دراسة تأكيدية لسلالة الإيروينية من التجارب الكيميائية الحيوية.

- الجزء الثاني تجربة المكافحة البيولوجية، وهذا عن طريق اختبارات بين سلالات الإيروينية والفطريات (الرشاشيات، الترايكوديرما، البنسليوم)، الزائفة والفطريات الشعاعية.

دراسة الاختبارات البيوكيميائية تكشف أن السلالات المستخدمة من نفس الخصائص الكيميائية الحيوية الإيروينية، وهي البكتيريا السالبة، الكاتلاز الايجابية، أوكسيديز سلبي وهولفزون الذي أظهر نظام التخمر. في حالة المكافحة البيولوجية، سلالات الإيروينية لم تثبط من قبل الفطريات المستخدمة، الزائفة والفطريات الشعاعية.

كلمات البحث: الإيروينية / تعفن لين/ المكافحة البيولوجية/ لفحة النار.