

Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## **MASTER**

### *Thème*

**Activité antagoniste de la souche *Trichoderma asperellum* (T34) sur demi-tubercules de pomme de terre infectés par *Dickeya solani*.**

Présenté par :

**Aiteche Hamid & Benzid Kaouther**

Soutenu le : **23 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M<sup>r</sup>. BELHADI D  
M<sup>r</sup>. LADJOUZI R  
M<sup>r</sup>. BETTACHE A

MAA           Président  
MAA           Encadreur  
MCA           Examineur

**Année universitaire : 2017 / 2018**

## *Remerciements*

*Avant tout, nous exprimons nos remerciements à Dieu tout puissant, de nous avoir accordés la force, le courage, la santé, la volonté et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.*

*Même si parfois les mots semblent fades à côté de la profondeur des sentiments, il faut pourtant les concrétiser en remerciements, pour honorer tous ceux qui nous ont aidés à franchir ce pas, en allant de l'avant.*

*Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promoteur **M<sup>r</sup> LADJOUZI R**, pour son aide précieuse, ainsi que ses orientations et le temps qu'il nous a accordés pour notre encadrement.*

*Nos remerciements s'adressent également à :*

*Le président de jury **M<sup>r</sup> BELHADI D.** de nous avoir consacré son temps en nous faisant l'honneur d'accepter de présider comme jury et son aide précieuse et ses conseils.*

*Comme nous tenons à remercier notre examinateur **M<sup>r</sup> BETTACHE A***

*Mes remerciements vont droit à **M<sup>r</sup> DJOUDI F**, **M<sup>r</sup> BACHIR-BEY M**, et tous les ingénieurs de laboratoire LMA (Laboratoire de Microbiologie Appliquée) pour leurs aides et conseils.*

*Finalement, on est profondément reconnaissants à toute personne qui nous a aidés de près ou de loin, durant ce passage.*

*A vous tous, un grand merci.*

# Dédicace

*Nous avons l'honneur et le grand plaisir de dédier ce modeste travail à la communauté scientifique, entre chercheurs, enseignants et étudiants, ainsi que les différents lecteurs, et nous espérons qu'il répondra à leurs attentes.*

*Je le dédie à notre département, et bien sûr à mes très chers parents, qui m'ont éclairé le chemin de la vie, par leur grand soutien et leurs encouragements, par leurs divers sacrifices qu'ils m'ont consentis durant mes études dans l'espoir de réussir dans ma vie en construisant un meilleur avenir.*

*Je tiens à le dédier également à :*

- + Ma très chère sœur **Nabila** et son époux **Abdallah** et leur petit nouveau né « **Adam** » ;*
- + Ma très chère sœur **Soraya** et son époux **Djebar** et leurs filles **Melissa** et **Hanane** ;*
- + Mon cher frère **Saadi** et son épouse **Djamila** et leur petit enfant « **Yasser** » ;*
- + Mes chers frères « **Loucif** » et « **Layachi** » ;*
- + Ma chère sœur **Akila**.*

*Mes dédicaces vont également droit à toutes les personnes de mon club sportif ASHC Amizour, sans oublier leur président : **M<sup>R</sup> BOUHENI ACHOUR**, ainsi que les membres du bureau (**Hamza, Billal, Lyes, Belkacem, Nassim et Farid.**), sans oublier bien évidemment tous les atelets.*

*A mes ami(e)s : **Yacine, Mounir, Toufik, Wouail, Massi, Nassim, Younes, Walid, A/Rahim, Adel, Katia, Cilya BEN MAOUCHE, Sylia HAMMOUMA, Salwa, Kenza, Mouna, Hefsa Nariman**, et bien d'autres qui m'y sont très chers.*

*A ma binôme **Kaouther BENZID** et tous les membres de sa famille.*

*A tous les étudiants de la promotion d'Ecologie Microbienne 2017/2018.*

## ***JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL A :***

*Ceux qui j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et je suis très fière de les avoir et tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur porte :*

*Mes très chers parents*

*Mes sœurs : Dallal et Hadjer*

*Mes frères : Younes, Khalil et Ilyas*

*Sans oublier mon mari Houcine Latreche et toute sa famille*

*Mes chères amies sans exception et mon promoteur*

*Et à celui avec qui j'ai partagé ce travail Hamid et sa famille*

***KAOUTHER***





# *Sommaire*

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**Introduction.....1**

## **Synthèse bibliographique**

<b>I)- Description des espèces des genres <i>Pectobacterium</i> et <i>Dickeya</i> .....</b>	<b>3</b>
<b>I-1) Définition.....</b>	<b>3</b>
<b>I-2) Evolution de la taxonomie... ..</b>	<b>3</b>
<b>I-2-1) ancienne taxonomie.....</b>	<b>3</b>
<b>I-2-2) nouvelle taxonomie... ..</b>	<b>3</b>
<b>I-3) Caractéristiques morphologiques et biochimiques... ..</b>	<b>4</b>
<b>I-2-1) Caractères généraux... ..</b>	<b>4</b>
<b>I-2-2) Caractéristiques biochimiques... ..</b>	<b>4</b>
<b>I-1) Habitat et écologie .....</b>	<b>5</b>
<b>II)- La culture de la pomme de terre .....</b>	<b>5</b>
<b>II-1) Historique .....</b>	<b>5</b>
<b>II-2) Exigences culturales .....</b>	<b>6</b>
<b>II-3) Intérêt nutritionnel.....</b>	<b>6</b>
<b>II-4) Maladies causées par les espèces des genres <i>Pectobacterium</i> et <i>Dickeya</i>.....</b>	<b>7</b>
<b>II-4-1) Pourriture molle... ..</b>	<b>7</b>
<b>II-4-2) Jambe noire... ..</b>	<b>8</b>
<b>III)- Méthodes de lutte contre la jambe noire et la pourriture molle.....</b>	<b>9</b>
<b>III-1) Pratiques culturales .....</b>	<b>9</b>
<b>III-2) Lutte chimique.....</b>	<b>9</b>
<b>III-3) Lutte biologique .....</b>	<b>10</b>
<b>III-4) Lutte génétique .....</b>	<b>11</b>

<b>IV)- Le contrôle biologique.....</b>	<b>12</b>
IV-1) Définition.....	12
IV-2) Les agents de bio-contrôle .....	12
a) Macroorganismes.....	12
b) Microorganismes... ..	12
c) Médiateurs biochimiques... ..	12
d) Substances naturelles .....	13
IV-3) Le genre <i>Trichoderma</i> : agent de biocontrôle et de croissance des plantes.....	13
IV-3-1) Historique ... ..	13
IV-3-2) Taxonomie... ..	13
IV-3-3) Morphologie... ..	14
IV-3-4) Habitat et écologie... ..	15
IV-3-5) Pouvoir antagoniste et mode d'action... ..	15

## **Partie expérimentale**

### **Matériel et méthodes**

<b>I) Matériel.....</b>	<b>17</b>
I-1) Matériel bactérien.....	17
I-2) Matériel végétal .....	17
<b>II) Méthodes .....</b>	<b>17</b>
II-1) Préparation des cultures bactériennes .....	17
II-2) Test de pathogénicité.....	18
II-2-1) Principe.....	18
II-2-2) Mode opératoire .....	18
a) Préparation de l'inoculum standard .....	18
b) Inoculation sur demi-tubercules .....	18
c) Lecture des résultats .....	20
II-3) Traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> T34.....	20
II-3-1 Principe et mode opératoire .....	20
II-4) Extraction/dosage des composés phénoliques .....	21
II-4-1) Extraction .....	21
a) Principe .....	21

b) Protocole .....	21
II-4-2) Dosage.....	21
a) Principe .....	21
b) Protocole .....	22
II-5) Test d'antibiogramme .....	22
a) Principe .....	22
b) Matériel utilisé .....	22
c) Mode opératoire.....	23

## Résultats et discussion

III) Résultats .....	24
III-1) Test d'infection sur demi-tubercule .....	24
a) Estimation des poids des tissus macérés.....	25
b) Mesure des volumes d'eau.....	26
c) Calcul des longueurs et profondeurs des zones macérées.....	27
III-2) Traitement des demi-tubercules par <i>Trichoderma asperellum</i> T34 .....	31
III-3) Dosage des composés phénoliques.....	36
III-4) Test d'antibiogramme .....	40
Conclusion .....	43

## Références bibliographiques

## Annexes

### Liste des Figures

Figure N°	Titre	Page N°
1	Valeur nutritionnelle de la pomme de terre (pour 100 g de pommes de terre cuites avec leur peau et épluchées avant consommation)	7
2	Symptômes de pourriture molle et humide sur tubercule	8
3	Symptômes de jambe noire à la base des tiges	8
4	Aspect morphologique d'un conidiophore de <i>Trichoderma</i> sp	14
5	Aspect des colonies et cellules de <i>Trichoderma</i> sp	14
6	Tubercules des deux variétés sélectionnées	17
7	Protocole d'inoculation sur tubercules de pomme de terre	19
8	Aspect morphologique des colonies de T34 sur milieu de culture PDA	20
9	Symptômes de pourriture molle sur demi-tubercules à couleur Blanche (à droite) rouge (à gauche)	24
10	Mesure des poids des tissus macérés sur tubercules de pommes de terre des variétés blanches et rouges	26
11	Mesure des volumes d'eau des zones macérées sur tubercules de pommes de terre des variétés blanches et rouges	26
12	Mesure des longueurs et profondeurs des zones macérées sur tubercules de pommes de terre des variétés blanches et rouges	27
13	corrélation entre les facteurs poids et volume d'eau des zones macérées	28
14	corrélation entre les facteurs longueurs et profondeur des zones macérées	28
15	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété blanche infectés par <i>Dickeya solani</i> (mesure des poids des tissus macérés)	31
16	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété blanche infectés par <i>Dickeya solani</i> (mesure des volumes d'eau)	32
17	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété blanche infectés par <i>Pectobacterium atrosepticum</i> (mesure des poids des tissus macérés)	32
18	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété blanche infectés par <i>Pectobacterium atrosepticum</i> (mesure des volumes d'eau)	33
19	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété blanche infectés par <i>Pectobacterium carotovorum</i> (mesure des poids des tissus macérés)	33
20	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété blanche infectés par <i>Pectobacterium carotovorum</i> (mesure des volumes d'eau)	33
21	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété rouge infectés par <i>Dickeya solani</i> (mesure des poids des tissus macérés)	34
22	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété rouge infectés par <i>Dickeya solani</i> (mesure des volumes d'eau)	34
23	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété rouge infectés par <i>Pectobacterium atrosepticum</i> (mesure des poids des tissus macérés)	35

24	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété rouge infectés par <i>Pectobacterium atrosepticum</i> (mesure des volumes d'eau)	35
25	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété rouge infectés par <i>Pectobacterium carotovorum</i> (mesure des poids des tissus macérés)	35
26	résultat du traitement par <i>Trichoderma asperellum</i> des demi-tubercules de la variété rouge infectés par <i>Pectobacterium carotovorum</i> (mesure des volumes d'eau)	36
27	dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété blanche infectés par <i>Dickeya solani</i> et traités par T34 à 105 (droite) et 107 cellules/ml (gauche)	37
28	dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété rouge infectés par <i>Dickeya solani</i> et traités par T34 à 105 (droite) et 107 cellules/ml (gauche)	38
29	dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété blanche infectés par <i>P. atrosepticum</i> et traités T34 à 105 (droite) et 107 cellules/ml (gauche)	38
30	dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété rouge infectés par <i>P. atrosepticum</i> et traités par T34 à 105 (droite) et 107 cellules/ml (gauche)	38
31	dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété blanche infectés par <i>P. carotovorum</i> et traités par T34 à 105 (droite) et 107 cellules/ml (gauche)	39
32	dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété rouge infectés par <i>P. carotovorum</i> et traités par T34 à 105 (droite) et 107 cellules/ml (gauche)	39
33	Résultats du test d'antibiogramme	42

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page N°</b>
I	Tests physiologiques et biochimiques utilisés pour l'identification des principales espèces pectinolytiques ( <i>Pca</i> , <i>Pcc</i> , <i>Pcw</i> , <i>Pcb</i> et <i>Dickeya</i> spp)	4
II	Rang taxonomique de la pomme de terre	6
III	Exigences culturales de la pomme de terre	6
IV	Taxonomie de genre <i>Trichoderma</i>	13
V	Les différents disques d'antibiotiques utilisés	22
VI	Aspects typiques des macérations engendrés sur demi-tubercules	25
VII	Réponses des souches pectinolytiques vis-à-vis des antibiotiques testés	41

## Liste des abréviations

---

### Liste des abréviations :

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique.

**BP** : Bactéries Phytopathogènes.

**CFBP** : Collection Française de Bactéries Phytopathogènes.

**CNRS** : Centre National de la Recherche Scientifique.

**CVP** : Crystal Violet Pectate .

**DO** : Densité optique.

*Ds* : *Dickeya solani* .

**FAO** : Food and Agriculture Organization .

**IFB** : Institut de la Formation Bancaire.

**INRA** : Institut National de la Recherche Agronomique.

**LP** : Levure Peptone.

**NaCl** : Chlorure de sodium.

*Pca*: *Pectobacterium carotovora atrosepticum* .

*Pcb*: *Pectobacterium carotovora betavascularum* .

*Pcc* : *Pectobacterium carotovora carotovorum* .

*Pcw* : *Pectobacterium carotovora wasabiae* .

**PDA**: Potato Dextrose Agar.

**pH** : potentiel d'Hydrogène.

**UMS** : Unité Mixte de Service.

**UFC** : Unité Formant Colonie.

## Introduction :

La pomme de terre est l'une des denrées alimentaires de base les plus cultivées, et l'un des légumes les plus consommés dans le monde. Cette culture est classée, en termes de production, en quatrième position derrière les céréales (respectivement maïs, blé et riz), avec des valeurs supérieures à 376 millions de tonnes par an, sur une surface de 19 millions d'hectares avec un rendement moyen de 19,5 tonnes/ha. (FAOSTAT, 2016)

En Algérie, la pomme de terre occupe une place importante dans les habitudes alimentaires du pays, avec une production atteignant 4,78 millions de tonnes sur une superficie supérieure à 150 000 hectares, occupant ainsi la deuxième place en sur le continent Africain juste derrière l'Égypte. (FAOSTAT, 2016)

De par ses conditions culturales ainsi que sa large distribution, la pomme de terre est, à l'instar de diverses autres cultures, l'une des productions végétales les plus ciblées par de nombreuses maladies bactériennes, fongiques et virales.

Parmi les pathologies les plus répandues, les maladies de jambe noire et pourriture molle dues aux bactéries appartenant aux genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp (anciennement nommés *Erwiniae* pectinolytiques), engendrent des symptômes caractérisés par une forte macération tissulaire au champs ou en conditions de conservation (Dupuis *et al.*, 2005 ; Latour, 2008).

L'agressivité de ces bactéries est régie par de nombreux facteurs comme la production d'enzymes extracellulaires, notamment, les cellulases et pectinases. Ces dernières dégradent les polysaccharides des parois végétales, libérant le contenu cellulaire et entraînant la mort des cellules infectées ainsi qu'une macération des tubercules (Johnson *et al.*, 2011).

Ces maladies sont souvent associées à d'importantes pertes économiques, menaçant de plus en plus la sécurité alimentaire des pays en voie de développement. En Algérie, la propagation massive de ces bactérioses est à l'origine de préjudices économique importants. On estime en effet qu'environ 32% des refus d'importation de pommes de terre sont dus aux pourritures molles (Yahiaoui-Zaidi, 2004).



Ainsi, la situation agroalimentaire du pays nécessite une meilleure prise en charge de l'amélioration de la production des cultures stratégiques à large consommation, comme c'est le cas pour la pomme de terre. Au regard de son importance économique considérable, et vu la dépendance actuelle de l'étranger, les problèmes phytosanitaires de cette culture se doivent être bien étudiés et traités en conséquence.

La lutte contre les maladies bactériennes de la pomme de terre fait appel presque exclusivement à des mesures prophylactiques et culturales (De Boer, 2004). Cependant, aucun traitement ne permet de lutter efficacement contre l'action néfaste de ces bactéries, que ce soit les luttes chimique, culturale où génétique. Ces méthodes malgré leurs intérêt, restent insuffisantes (Rouselle *et al.*, 1996).

Dans ce contexte et vu les limites des moyens de lutte classique, on assiste de plus en plus à l'apparition d'alternatives naturelles basées sur l'utilisation d'organismes biologiques ayant des propriétés antagonistes.

Le contrôle biologique est considéré comme une méthode efficace dans le cadre de la protection alternative des cultures. De nombreux microorganismes appliqués ont montré un potentiel antimicrobien assez prometteur. Parmi les agents de bio-contrôle, les espèces du genre *Trichoderma* sp sont très largement utilisées vis-à-vis de différentes pathologies végétales.

Dans cette étude, notre travail expérimental est axé sur les points suivants :

- Evaluer la sensibilité des tissus végétaux par réalisation des tests de pathogénicité sur les tubercules de deux variétés de pomme de terre *via* l'inoculation de trois souches pectinolytiques ;
- Etude de l'effet antagoniste *in vivo* de l'agent *Trichoderma asperellum* sur demi-tubercules infectés ;
- Détermination de la teneur des composés phénoliques produits à partir des tissus macérés après traitement des tubercules.

## I-Description des espèces des genres *Pectobacterium* et *Dickeya*

### I-1 Définition

Les bactéries pectinolytiques des genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp appartenant à la famille des enterobacteriaceae sont responsables des pathologies végétales de pourriture molle et jambe noire (Chattargie et starr, 1973) sur de nombreuses cultures d'importance économique comme les pommes de terre, tomates, oignons...etc. (Montesano, 2002).

### I-2 Evolution de la taxonomie

Ces bactéries représentent un taxon complexe, composé de plusieurs souches, espèces et sous-espèces avec des caractéristiques très variées et ayant grandement évolué au cours du temps.

#### I-2-1-Ancienne taxonomie

- En 1901 Jones décrit une bactérie pectinolytiques qui l'isola à partir d'une pourriture humide de carotte et la nomma *Bacillus carotovorus* (Skerman *et al.*, 1980).
- Winslow proposa, en 1917 de regrouper l'ensemble des entérobactéries pathogènes, saprophytes et épiphytes des végétaux sous le nom de genre *Erwinia* nommé ainsi en honneur à un autre phytopathologiste : Erwin Frink Smith (Winslow *et al.*, 1917).
- En 1942, le genre *Pectobacterium* fut proposé par Walde pour faire la distinction entre les *Erwinia* pectinolytiques et non pectinolytiques (Brenner *et al.*, 1973).
- Dey, en 1969, restaura le genre *Erwinia* et le subdivisa en 4 groupes : Amylovora, Carotovora, Herbicola et un dernier groupe composé d'espèces atypiques (Hélias, 1999).

#### I-2-2-Nouvelle taxonomie

- Sur la base du séquençage des ARN 16S, les espèces pectinolytiques du genre *Erwinia* ont été reclassées dans le genre *Pectobacterium* (Hauben *et al.*, 1998).
- Des travaux phylogéniques basés sur la sérologie, les caractéristiques phénotypiques et moléculaires ont confirmé la classification des genres *Erwinia* en

3 sous-espèces : *Pectobacterium atrosepticum* (*Pca*), *Pectobacterium betavasculorum* (*Pcb*) et *Pectobacterium wasabiae* (*Pcw*) (Gardan *et al.*, 2003).

- Actuellement, les bactéries pectinolytiques ont été subdivisées en 2 principaux groupes : un groupe contenant les genres *Erwinia* et *Pantoea* et un deuxième groupe composé des genres *Pectobacterium*, *Brenneria*, *Samsonia* et *Dickeya* (Young et Park, 2007).

### I-3-Caractéristiques morphologiques et biochimiques

#### I-3-1- Caractères morphologiques

Les espèces appartenant aux genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp sont des cellules bactériennes anaérobies facultatives, Gram négatif, non sporulés, sous forme des bacilles de 0,5 µm à 1 de diamètre sur 1 à 3 µm de longueur, mobiles grâce à leurs flagelles péritrichisolées par paires et parfois en chaînes courtes. (Charcowski, 2012)

#### I-3-2- Caractéristiques biochimiques

Les principaux caractères biochimiques et culturels des *Pectobacterium* et *Dickeya* sp sont résumés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau I :** Tests physiologiques et biochimiques utilisés pour l'identification des principales espèces pectinolytiques (*Pca*, *Pcc*, *Pcw*, *Pcb* et *Dickeya spp*) (Pérombelon et Van der Wolf, 2002).

<b>Test</b>	<b>Bactéries</b>	<i>Pcb</i>	<i>Pcc</i>	<i>Pcw</i>	<i>Pcb</i>	<i>Dickeya spp</i>
Formation des cavités sur milieu CVP		+	+	+	+	+
Croissance sur gélose nutritive à 37°C		-	+	-/+	+	+
Croissance dans du NaCl à 5%		+	+	-/+	+	+
Sensibilité à l'érythromycine		-	-	-	-	+
<b>Production de :</b>						
Substances réductrices à partir de sucrose		+	-	-	-	-
Indole		-	-	-	-	+
Phosphatase		-	-	-	-	+
<b>Production d'acide à partir :</b>						
Lactose		+	+	-	+	+
Maltose		+	-	-	+	-
$\alpha$ -méthyl-D- glucoside		+	-	-	+	-
Tréhalose		+	+	+	+	-
Sorbitol		-	-	-	-	-
Malonate		-	-	-	-	+

*Pca* : *Pectobacterium carotovorum* subsp *atrosepticum* ;  
*Pcb* : *Pectobacterium carotovorum* subsp *betavascularum* ;  
*Pcc* : *Pectobacterium carotovorum* subsp *carotovorum* ;  
*Pcw* : *Pectobacterium carotovorum* subsp *wasabiae* ;  
+ : indique une réaction positive.  
- : indique une réaction négative.  
-/+ : indique une réaction ambiguë

## I-4-Habitat et écologie

Les espèces de *Pectobacterium* et *Dickeya* sp colonisent principalement le sol, la rhizosphère des plantes hôtes et non hôtes et même dans les eaux de surface (lacs, rivières et océans) (Pérombelon et Kelman, 1980). Elles affectent une très large gamme d'hôtes (légumes, tournesols, tabac...etc.) dans des aires géographique étendues (régions tropicales et tempérés), ainsi qu'à différentes conditions climatiques. La répartition géographique des *Pectobacterium* et *Dickeya* sp est conditionnée par la présence de l'hôte et les exigences thermiques (20°C à 30°C) (Pérombelon, 2002). *P. atrosepticum* est répandu dans les régions tempérées froides et a pour hôte principal la pomme de terre (Pérombelon et Kelman, 1980).

L'association préférentielle *Pectobacterium*-pomme de terre est expliquée en terme de concordance des exigences écologiques de la bactérie et celles de la culture. *Dickeya* sp sévit dans les zones tropicales et subtropicales sur de nombreuses cultures telles que pomme de terre, banane...etc. (Priou et Jouan, 1989). Les travaux entrepris par Van der Wolf et al (2007) indiquent que les souches de *Dickeya* sp ne peuvent survivre plus de trois semaines dans un sol nu.

## II- La culture de pomme de terre

### II-1-Historique

La pomme de terre est originaire de l'Amérique du Sud. Sa culture débuta en Europe vers la fin du 16<sup>ème</sup> siècle, principalement en Espagne, en Angleterre puis en France (Spire et Rousselle, 1996). Elle fut introduite en Afrique, à la fin de 19<sup>ème</sup> siècle, principalement au nord et au sud du continent africain (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

En Algérie, la pomme de terre a probablement été introduite une première fois au 16<sup>ème</sup> siècle par les Maures andalous qui ont propagé d'autres cultures dans la région (tomate, poivron, maïs, tabac...). Elle fut réintroduite à la deuxième moitié du 19<sup>ème</sup> siècle (Kechid, 2005).

**Tableau II** : Rang taxonomique de la pomme de terre (Grison, 1983)

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermaphyte
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Solanales
<b>Famille</b>	Solanaceae
<b>Espèce</b>	<i>Tubersum</i>

## II-2- Exigences culturales

La culture de la pomme de terre nécessite un ensemble de facteurs, dans le but d'avoir un meilleur rendement. Ses conditions pédoclimatiques sont décrites comme suit :

**Tableau III** : Exigences culturales de la pomme de terre

Types d'exigences	Exigences	Caractéristiques	Références
Exigences climatiques	Température	La température optimale pour la croissance de la pomme de terre se situe entre 15 et 25°C.	(Patel et Rajput, 2007)
	Lumière	Ce facteur est très important pour la pomme de terre surtout pendant la phase de croissance.	(Van Dam et al, 1996 ; Chibane, 1999)
Exigences édaphiques	Sol	Les sols préférés sont ceux qui sont profonds, fertiles et à texture plus ou moins grossière.	(Bamouh, 1999)
	pH	Dans les sols légèrement acides (pH : 5,5 à 6).	(Chibane, 1999)
	Salinité	Un taux de salinité élevé peut bloquer l'absorption de l'eau et diminuer la croissance de la plante.	(Bamouh, 1999)

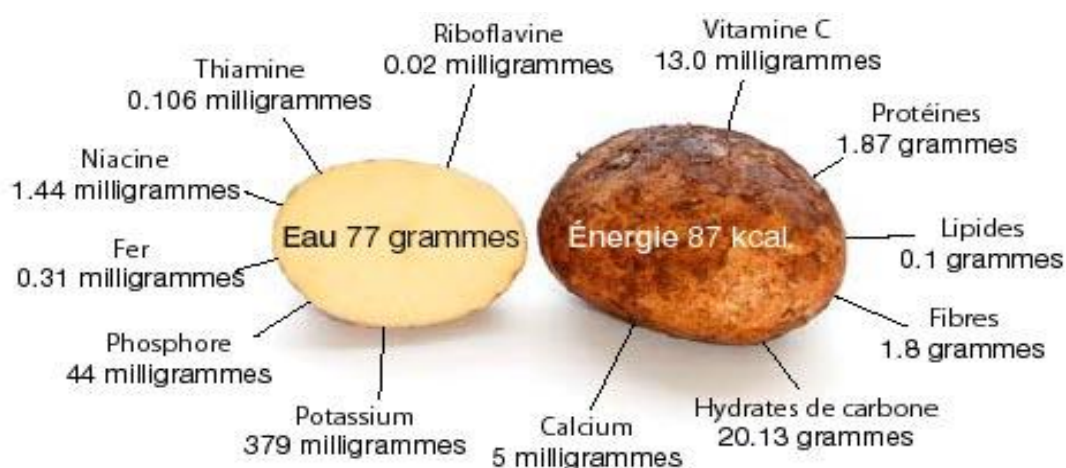
## II-3-Intérêt nutritionnel

La pomme de terre est destinée à quatre grands types d'utilisations :

- l'alimentation humaine (sous forme de tubercules frais ou transformés) ;
- l'alimentation animale ;
- l'extraction industrielle de l'amidon et d'autres sous-produits ;
- La production de plants.

La pomme de terre est une bonne source de glucides. Cependant, elle est déficiente en lipides, en protides et renferme de faibles teneurs en vitamines (Jouzier, 2005). Sa valeur calorique reste toutefois modeste, entre 80 et 90 kcals (334 à 376 kJ)/100 g (Kechid, 2005).

Par ailleurs, le féculé de pomme de terre possède de nombreuses débouchées industrielles, principalement dans la papeterie, chimie, pharmacie, textile et plus récemment son incorporation dans les emballages plastiques (Saguez, 2007).



**Figure 01** : Valeur nutritionnelle de la pomme de terre (pour 100 g de pommes de terre cuites avec leur peau et épluchées avant consommation) (Oswaldo, 2010).

## II-4 Maladies causées par les espèces des genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp

Les bactéries pectinolytiques, anciennement regroupées sous le genre *Erwinia* sp sont responsables de deux maladies de la pomme de terre : la jambe noire qui touche les plantes et la pourriture molle sur tubercules (Czajkowskiet al., 2011 ; Toth et al.,2011 ).

### II-4-1 Pourriture molle

La pourriture molle est considérée comme étant une des plus importantes maladies bactériennes qui affectent la pomme de terre (De Boer, 1994). Ces agents pathogènes induisent des symptômes typiques de la maladie sur tubercules au champ et en conservation (Helias, 2008). (Voir Fig 02)



**Figure 02 :** Symptômes de pourriture molle et humide sur tubercule (Hélias, 2008)

#### II-4-2 Jambe noire

Cette maladie se caractérise par une pourriture humide brun foncé à noire qui débute à la base de la tige et peut s'étendre au-delà du collet voir même atteindre la totalité de la tige. Dans des conditions climatiques plus sèches, les symptômes sont moins marqués (Gaucher, 2007).



**Figure 03 :** Symptômes de jambe noire à la base des tiges (Hélias, 2008)



### III- Méthodes de lutte contre la jambe noire et la pourriture molle

A l'heure actuelle, il n'existe pas de méthode de lutte directe que l'on puisse mettre en pratique, mais un ensemble de mesures ayant pour objectifs principaux de réduire les niveaux d'inoculum au départ d'une culture et/ou de rechercher les conditions les moins favorables à la multiplication et la transmission de la maladie (Rousselle, 1996).

Cela implique notamment des techniques culturales préventives, des méthodes chimiques, biologiques et génétiques.

#### III-1-Pratiques culturales

C'est un ensemble de recommandations, dont les principales sont :

- ✓ Eviter les conditions de culture humides qui influencent les niveaux de contamination par l'intermédiaire des lenticelles (Hélias *et al.*, 2000) ;
- ✓ Se débarrasser des plantes infectées pour éviter les contaminations (Elphinstone et Pérombelon, 1986) ;
- ✓ Récolter à maturité et avec beaucoup de soins en évitant les blessures qui constituent autant de portes d'entrée (Pérombelon et Kelman, 1980) ;
- ✓ Maintien d'une hygiène stricte de l'exploitation (désinfection régulière du matériel et des locaux, de son environnement, élimination des déchets) (Pérombelon et Kelman, 1980) ;
- ✓ Eliminer les auxiliaires capables de transmettre les germes, comme par exemple les drosophiles (Molina *et al.*, 1974) ;
- ✓ La pratique des rotations de culture et d'irrigation pour débarrasser les résidus des végétaux contaminés, les repousses et résidus de culture permettent la survie et la multiplication des bactéries (Kerlan et Tribodet, 1996).

#### III-2- Lutte chimique

- ✓ Application de composés chimiques, ex : le 5-nitro-8-hydroxyquinoline capable de diminuer l'incidence de pourriture molle sur des tubercules fraîchement blessés (Harris, 1979) ;
- ✓ Traitement à base de cuivre, mais peu efficace et déconseillé pour des raisons de protection d'environnement (Priou et Jouan, 1996) ;



- ✓ Utilisation 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), capable d'altérer l'intégrité cellulaire et la croissance des pathogènes.

### III-3- Lutte biologique

Cette méthode consiste à utiliser différents organismes vivants, appelés auxiliaires, ou leurs produits, pour prévenir ou réduire les dégâts causés par les bio-agresseurs. Il s'agit d'utiliser la biodiversité et les ennemis naturels des espèces nuisibles (Fernandes, 2005).

La lutte biologique est une alternative très prometteuse, à cause de l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes. Ces derniers se caractérisent par leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action ainsi leur persistance dans l'environnement (De Kouassi, 2001).

Les micro-organismes utilisés en lutte microbiologique appartiennent à plusieurs taxons (virus, bactéries, microchampignons, nématodes et protozoaires). Les champignons et les bactéries étant les micro-organismes les plus utilisés, et ayant un intérêt agronomique considérable.

La lutte biologique connaît ces dernières années une popularité due en partie à un certain échec de la lutte chimique qui constitue un danger sur l'environnement et sur l'homme. En fait, l'utilisation des moyens de lutte biologique contre les agents phytopathogènes antagonistes a connu un essor considérable à partir des années 1980 (Mouria *et al.*, 2013).

- ✓ Kloepper (1983) proposa d'utiliser les capacités antagonistes de certaines bactéries vis-à-vis des *Pectobacteria*.
- ✓ L'isolement de *Pseudomonas* a permis de sélectionner quelques souches (*P. fluorescens*, *P. putida*) antagonistes des *Pectobacteria in vitro*, leur pouvoir protecteur est dû, entre autres, à la production de sidérophores (Xu et Gross, 1986) ;
- ✓ Action et efficacité des antibiotiques produits par *Bacillus subtilis* sur *P. carotovorum* et *atrosepticum in vivo* et *in vitro* (Sharga et Lyon, 1998).

- ✓ Le contrôle du développement des bactéries pectinolytiques par le genre *Pseudomonas sp* (Yaganza (2005)).

### **III-4- Lutte génétique**

Les connaissances actuelles sur la génétique de résistance de la pomme de terre aux bactéries sont encore à leur début. Latour et al (2008) ; Gebhardt et Valkanen (2001) ont identifié, grâce à des marqueurs ADN, 19 gènes de résistance dominants, liés 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 sp* et que les niveaux de résistance enregistrés restent encore peu élevés.

## IV- Le contrôle biologique

### IV-1- Définition

Le contrôle biologique ou bio-contrôle concerne l'ensemble des méthodes de protection des végétaux utilisant des mécanismes naturels. Il vise la protection des plantes en privilégiant son interaction avec des organismes ou des biomolécules et en régissant les relations entre espèces dans le milieu naturel. Ainsi, le principe de bio-contrôle est fondé sur la gestion des équilibres des populations plutôt que leur éradication (Thibierge, 2015).

### IV-2- Les agents de bio-contrôle

D'après Freund (2013), quatre grandes familles des produits de bio-contrôle sont utilisés dans le cadre de la protection durable et intégrée des cultures :

**a)-Macroorganismes :** Parmi les éléments de bio-contrôle : les macro-organismes, (invertébrés, insectes et nématodes), sont les plus anciennement utilisés d'une façon raisonnée pour protéger les cultures contre les attaques des bio-agresseurs.

**b)-Micro-organismes :** Les micro-organismes (champignons, bactéries et virus) sont utilisés pour protéger les cultures contre les ravageurs et les maladies et/ou stimuler la vitalité des plantes. Ils combinent plusieurs modes d'action (production de toxines, compétition notionnelle...) pour combattre les bio-agresseurs et ainsi assurer la protection des végétaux.

*Bacillus thuringiensis* est parmi les micro-organismes les plus couramment utilisés en phytoprotection.

**c)- Médiateurs biochimiques :** Les médiateurs biochimiques comprennent l'utilisation de phéromones d'insectes et kairomones. Ils permettent le contrôle des populations d'insectes par la méthode de confusion sexuelle et le piégeage. Ce sont des substances sémi-chimiques, c'est-à-dire émises par la plante ou les animaux dans l'environnement. Ces composés sémi-chimiques sont classés en phéromones qui permettent la communication entre individus de la même espèce, les kairomones sont échangées entre des individus appartenant à des espèces différents.

**d)- Substances naturelles :** Les substances naturelles utilisées dans le cadre du biocontrôle sont présentes dans le milieu naturel et peuvent être d'origine végétale, animale ou microbienne.

### **IV-3 Le genre *Trichoderma*, agent de biocontrôle et de croissance des plantes**

#### **IV-3-1 Historique**

Le terme « *Trichoderma* » a été introduit en mycologie à partir de 1794 par Persoon (Bissett, 1991). Il désigne un grand ensemble de champignons microscopiques cosmopolites sans reproduction sexuée connue (Roquebert, 1996). 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 espèces sont d'intérêt économique et sont utilisées 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) (Roquebert, 1996 et Prieto *et al.*, 1997).

#### **IV-3-2 Taxonomie**

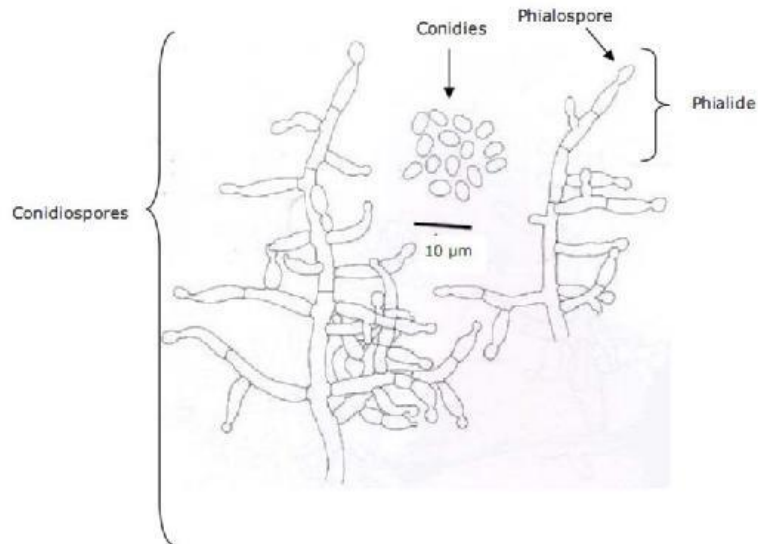
La taxonomie moderne des champignons a abouti l'embranchement des *Deuteromycotina* auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La classification phylogénique actuelle des *Trichoderma sp* se présente comme suit :

**Tableau IV :** Taxonomie de genre *Trichoderma* (Bissett, 2004).

<b>Règne :</b>	Fungi
<b>Embranchement :</b>	Amastigomycota et /ou Eumycètes
<b>Sous embranchement :</b>	Ascomycotina
<b>Classe :</b>	Sadariomycètes
<b>Ordre :</b>	Hypocréales
<b>Famille :</b>	Hypocraceae
<b>Genre :</b>	<i>Trichoderma</i>

**IV-3-3 Morphologie**

L'aspect macroscopique des *Trichoderma* sp. Présente un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiospores ont une forme conique ou pyramidale, très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. Les phialides portent les spores (Kubicek *et al.*, 2003).



**Figure 04 :** Aspect morphologique d'un conidiophore de *Trichoderma* sp (Samuels *et al.*, 1994).

Les colonies fongiques sont légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont d'abord colorées en blanc en forme de cercle, puis après deux jours une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium (Cournut, 1984 ; Landreau, 2001, Kubicek *et al.*, 2003).



**Figure 05 :** Aspect des colonies et cellules de *Trichoderma* sp

#### IV-3-4 Habitat et écologie

Grâce à sa grande capacité d'adaptation à différentes conditions climatiques, les espèces de *Trichoderma* sp sont très répandues dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998). Elles sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats (Widden et Abitrol, 1980).

Les *Trichoderma* sp. terrestres se développent quasiment dans tous les sols (forestiers ou cultivés) et sur les végétaux en décomposition, mais sont rarement parasites de plantes vivantes (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998). La présence des *Trichoderma* sp. en milieu terrestre (6% du nombre total des espèces fongiques) semble comparable à celle en milieu marin (6,4% à 10,4%) (Landreau, 2001).

Leur abondance dans les écosystèmes est due à leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes (Widden et Abitrol, 1980 ; Vining, 1990 ; Kubicek *et al.*, 2003).

#### IV-3-5- Pouvoir antagoniste et mode d'action

La première publication qui fait mention des propriétés antagonistes des *Trichoderma* date de 1887. Cependant, l'étude approfondie du phénomène d'antagonisme et de son application comme moyen de lutte contre les parasites des plantes n'a débuté qu'au milieu du 20<sup>ème</sup> siècle.

Les *Trichoderma* sont très efficaces pour la lutte contre les maladies des plantes reliées aux sols, aussi bien que pour la dégradation de composés toxiques présents dans les sols. Les sols inoculés protègent les cultures et garantissent un milieu sain pour un développement normal de la végétation (Harman, 2000).

En effet, ce champignon secrète de multiples enzymes, antibiotiques, hormones qui sont utiles pour la croissance des plantes et leur confèrent une protection contre les pathogènes. Il en résulte aussi une amélioration du contenu du sol en nutriments. La présence de *Trichoderma* dans le sol joue à la fois un rôle préventif et curatif (Harman *et al.* 2004; Singh *et al.* 2007).

Généralement, *Trichoderma* inhibe ou dégrade les pectinases et d'autres enzymes essentiels aux phytopathogènes. En plus de son effet inhibiteur, *Trichoderma* est aussi capable d'induire une résistance localisée et systématique. L'amélioration de la croissance des plantes par *Trichoderma* peut prendre lieu soit au niveau de la plante (Yedida *et al.*, 2001), soit au niveau du sol (Chang *et al.*, 1986 ; Harman, 2000).

*Trichoderma* sp a la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différents modes d'action. Il peut utiliser :

- > **L'antibiose** : résulte de la production de substances agissant comme des « antibiotiques » et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène ;
- > **La compétition** : se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu (aires d'alimentation, sites de développement) que les champignons pathogènes mais *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirable ;
- > **Le parasitisme** qui se manifeste par la destruction de l'agent pathogène lorsque *Trichoderma* s'enroule autour de celui-ci soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui « injectant » des substances (enzymes) qui le détruisent.

## I- Matériel

### I-1- Matériel bactérien

Pour les besoins de notre étude trois souches bactériennes de référence sont utilisées :

- *Pectobacterium carotovorum* ssp *carotovorum* (Pcc 86.21) et *Pectobacterium carotovorum* ssp *atrosepticum* (Pca 88.22) provenant de la collection française de bactéries phytopathogènes (CFBP-INRA Rennes, France).
- *Dickeya solani* (Ds IFB 0123), Institut Français de Bio-informatique, CNRS UMS 3601-IFB-Core, isolée en 2007 par Van de Wolf au Pays-Bas.

### I-2- Matériel végétal

Les échantillons végétaux utilisés pendant notre expérimentation sont composés de deux variétés de pomme de terre de consommation : une à peau blanche « Spunta », et une autre peau rouge « Désirée », prélevés de plusieurs marchés de la ville de Bejaia durant la période comprise entre février et avril 2018.

Les tubercules de pomme de terre sélectionnés sont de dimensions moyennes et plus au moins uniformes (calibre 25-45 mm), d'aspect sain, ne présentant aucun symptôme de maladie et dépourvus de blessures.



Figure 06 : Tubercules des deux variétés sélectionnées

## II-Méthodes

### II-1- Préparation des cultures bactériennes

En conditions stériles, les souches bactériennes sont d'abord revivifiées à partir d'un milieu de conservation minimum, et sont ensuiteensemencées sur bouillon nutritif ou LP



(Levure Peptone) pour l'enrichissement. Après une période d'incubation d'environ 24/48h à 27°C, plusieurs repiquage successifs sont effectuées sur gélose nutritive et sur milieu semi- sélectif King B (*Pseudomonas* Agar) dans le but d'écartier d'éventuels contaminants afin d'obtenir des colonies pures.

La composition des milieux utilisés est donnée en annexe I

## **II-2- Test de pathogénicité**

### **II-2-1-Principe**

Le test d'inoculation repose sur l'observation des différent symptômes de pourriture molle provoquées après infection sur les demi-tubercules de pomme de terre, afin de déterminer le niveau de pathogénicité des différentes souches pectinolytiques ainsi le degré de sensibilité des variétés utilisées. Ces essais sont réalisés selon les protocoles expérimentaux d'Ibrahim et *al.*, (1978) et de Priou et *al.*, (1992).

### **II-2-2-Mode opératoire**

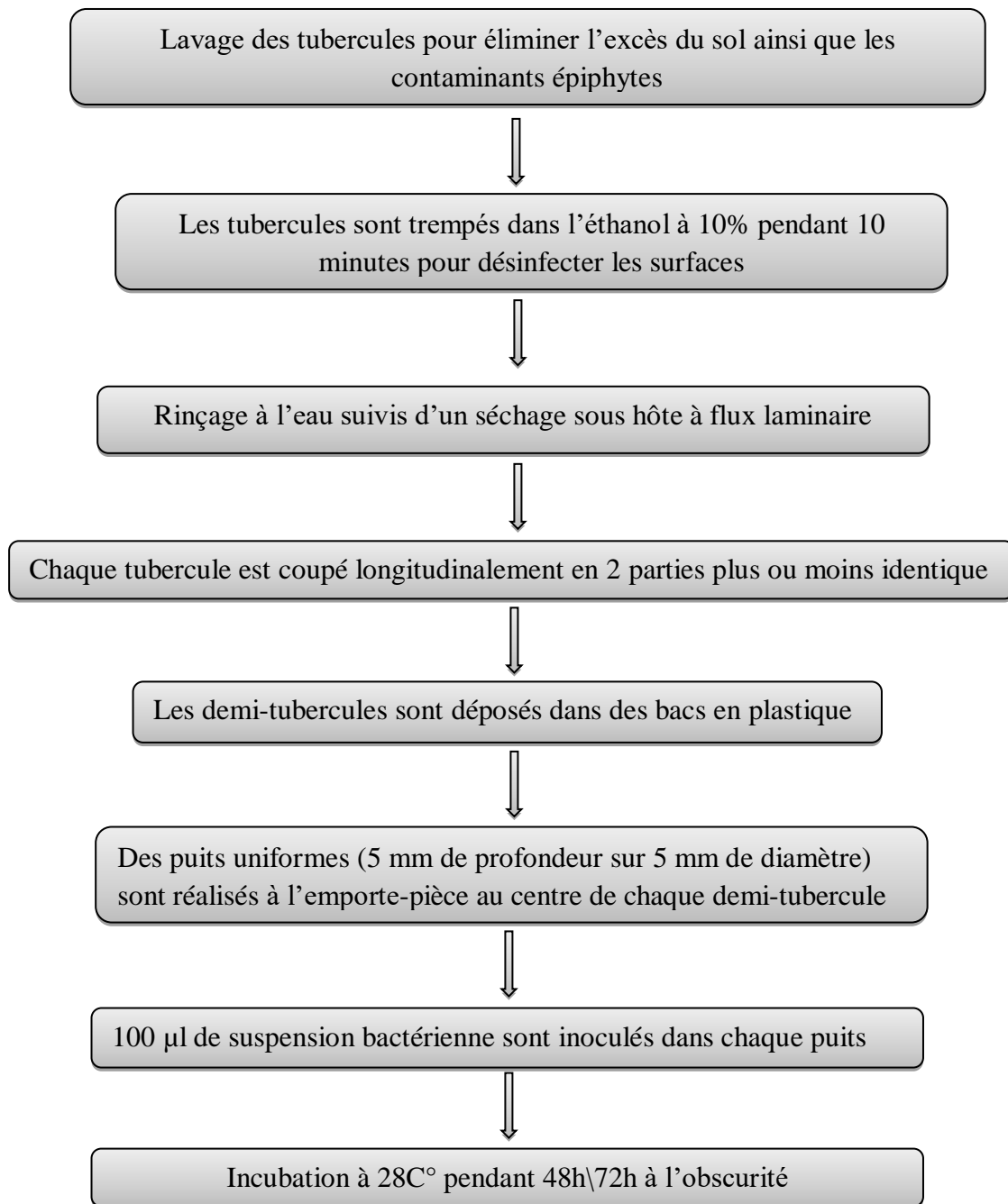
#### **a)-Préparation de l'inoculum standard**

Une préculture bactérienne est d'abord préparée sur bouillon LP à partir d'une colonie bactérienne individualisée, après 24h d'incubation à 27°C, une série de dilutions est réalisée dans 9 ml d'eau distillée stérile.

La standardisation de l'inoculum est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 540nm pour une densité optique de 0,1 (DO = 0,1), ce qui correspond à une population bactérienne de  $10^8$  cellules/ml.

#### **B)-Inoculation sur demi-tubercules**

L'effet des souches *Pectobacterium* et *Dickeya* sp sur les tranches de pomme de terre est investigué selon les protocoles d'Ibrahim et *al* (1978) et Priou et *al* (1992) avec de légères modifications.



**Figure 07 :** Protocole d'inoculation sur tubercules de pomme de terre selon Ibrahim *et al.*, (1978) ; Priou *et al.*, (1992)

### C)- Lecture des résultats

La lecture est réalisée en mesurant cinq différents paramètres :

- Prélèvement et pesée du poids des tissus pourris (gr) ;
- Mesure du volume d'eau nécessaire pour remplir les puits, correspondant à la quantité de tissus macérés (ml) ;
- Calcul de la longueur de la zone macérée (mm) ;
- Estimation de la profondeur de la dépression créée par la propagation du pathogène (mm) ;

### II-3- Traitement par *Trichoderma asperellum* (T34)

*T. asperellum* est un champignon asexué, avec une multiplication végétative effectuée par des conidies de petites tailles et ovoïdes. La germination de ces conidies et le développement des tubes germinatifs sont influencés par différents facteurs tels que le pH, la nutrition, la lumière et les propriétés hydrologiques du sol (Magan, 1988).

#### II-3-1- Principe et mode opératoire

Ce test consiste à évaluer l'interaction pomme de terre-pathogène-antagoniste en utilisant une souche industrielle du genre *Trichoderma* sp connu pour sa large application en tant qu'agent de contrôle biologique des cultures, ce champignon est disponible sous forme de poudre formulée industriellement. L'effet préventif de la souche fongique *Trichoderma asperellum* « T34 » est évalué sur demi-tubercules, deux concentrations de T34 sont préparées ( $10^5$  et  $10^7$  UFC/ml), puis inoculées à raison de 100  $\mu$ l sur des puits de tubercules (5/5 mm). L'infection bactérienne se fait après 8h, 16h et 24h post-traitement selon le même mode opératoire que celui de l'inoculation. La poudre de T34, ainsi que ces deux dilutions sont conservées à 4°C.



**Figure 08** : Aspect morphologique des colonies de T34 sur milieu de culture PDA

## II-4- Extraction/dosage des composés phénoliques

### II-4-1- Extraction

#### a)-Principe

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. Le principe consiste à ce que le solvant doit franchir la barrière cette interface solide-liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide en l'entraînant vers l'extérieur. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion (Ribereau-Gayon, 1968).

#### b)-Protocole

Dans la présente étude ; les tissus symptomatiques macérés et/ou traités par le T34 ainsi que les tissus adjacents sont prélevés afin de déterminer leur teneur en composés phénoliques sur demi-tubercules.

Afin d'extraire les composés phénoliques et selon le protocole modifié de Bachir Bey *et al.*, (2013), un gramme des tissus prélevés sont hachés et broyés à l'aide d'un pilon en verre, ensuite chaque échantillon est homogénéisé par ajout de 20 ml de solvant (méthanol à 99,7%). Le mélange subit une macération à température ambiante durant 30 minutes, puis est filtré. Les extraits obtenus sont conservés une courte période à 4°C avant dosage des composés phénoliques.

### II-4-2- Dosage

#### a)-Principe

Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ribereau-Gayon, 1968).

**b)-Protocole**

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu est estimé selon la méthode de Singleton et Rossi (1965).

Un volume de 750 µl du réactif dilué 10 fois dans de l'eau distillée sont ajoutés à 200 µl d'extrait dilué, par la suite 400 µl de la solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (75g/l) sont additionnés. Après 1 heure d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 740 nm grâce à un spectrophotomètre.

**II-5- Test d'antibiogramme****a)-Principe**

L'antibiogramme consiste à déterminer la sensibilité ou la résistance aux antibiotiques d'une bactérie à l'origine d'un processus infectieux (Jehl *et al.*, 2015). Selon le cercle qui entoure le disque d'antibiotique, il existe trois interprétations différentes : bactérie sensible résistante ou intermédiaire à l'antibiotique.

**b-) Matériel utilisé**

- Milieu standardisé : gélose Mueller-Hinton.
- Suspensions bactériennes (*Pca*, *Pcc* et *Ds*) à une DO de 0,1 à 540 nm (10<sup>8</sup> cellules/ml).
- Ecouvillons de laboratoire stériles.
- Disques d'antibiotiques ;

**Tableau V** : Les différents disques d'antibiotiques utilisés.

Noms	Symbole	Quantité par disque (µg)
Amikacine	AK	30
Amoxyclav	AMC	30
Gentamicine	GN	10
Cefoxitine	FOX	30
Oxacilline	OX	5
Cefotaxime	CTX	30
Ceftazidime	CAZ	30
Rifampicine	RD	5

**c)-Mode opératoire :**

Une pré-culture est préparée à partir de gélose nutritive ordinaire sur milieu LP en tubes à essai, puis une suspension bactérienne ajustée à une DO comprise entre 0.08 et 0.13 à 600 nm est préparée sur des tubes d'eau physiologique (Andrews, 2008).

Avec un écouvillon stérile, le milieu Mueller-Hinton est ensemencé en surface. Cinq disques d'antibiotiques sont déposés pour chaque boîte à l'aide d'une pince stérilisée. Les boîtes sont ensuite incubées pendant 24h/27°C. L'efficacité d'un antibiotique vis-à-vis d'une souche bactérienne est directement visible en évaluant le diamètre de l'anneau entourant le disque d'ATB (zone d'inhibition).

### III) Résultats

#### III-1) Tests d'infection sur tubercules de pommes de terre

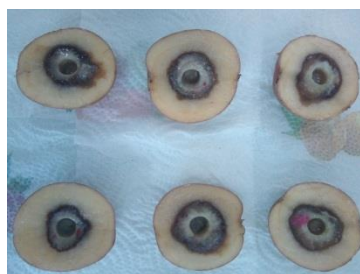
Dans le but de mettre en évidence et d'évaluer l'agressivité et le potentiel infectieux des souches pectinolytiques utilisées et aussi afin d'estimer les différences de sensibilité des cultivars de pommes de terre, des essais d'inoculation sont réalisés sur tubercules de deux variétés (à couleur blanche et rouge), par induction des symptômes de macération.

Parmi les méthodes décrites pour la détermination du taux de macération des tissus sur demi-tubercules de pommes de terre figurent la mesure des poids et volume des tissus pourris. Dans notre travail, nous avons tenu compte de deux autres paramètres, à savoir le diamètre des zones macérées et la profondeur des cavités.

Après 48 à 72h d'incubation, on constate un net effet pathogène. Ce dernier varie d'une souche à l'autre tant au regard de la nature des symptômes observés et par l'étendue des nécroses formées (figure 09).

A signaler aussi que les symptômes observés sur demi-tubercules sont typiques des pourritures molles et sont en accord avec les données bibliographiques. Ainsi, les tissus végétaux inoculés par les souches de *Pectobacterium* et *Dickeya* sp sont distinguables par l'apparence de la pourriture occasionnée sur demi-tubercules.

Les symptômes causés par *Pca* sont caractérisés par une pourriture foncée et humide entourée d'un halo noir marquant une frontière avec les tissus sains, ceux provoqués par *Pcc* et *Ds* sont plutôt secs, de couleur marron clair et l'étendue de la surface nécrosée est plus réduite (Tableau IV).



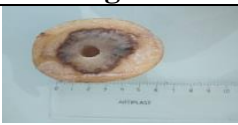



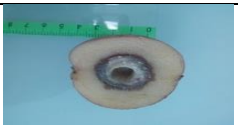

(B)



(A)

**Figure 09** : Symptômes de pourriture molle sur demi-tubercules à couleur Blanche (A)  
Rouge (B)

Tableau VI : Aspects typiques des macérations engendrés sur demi-tubercules

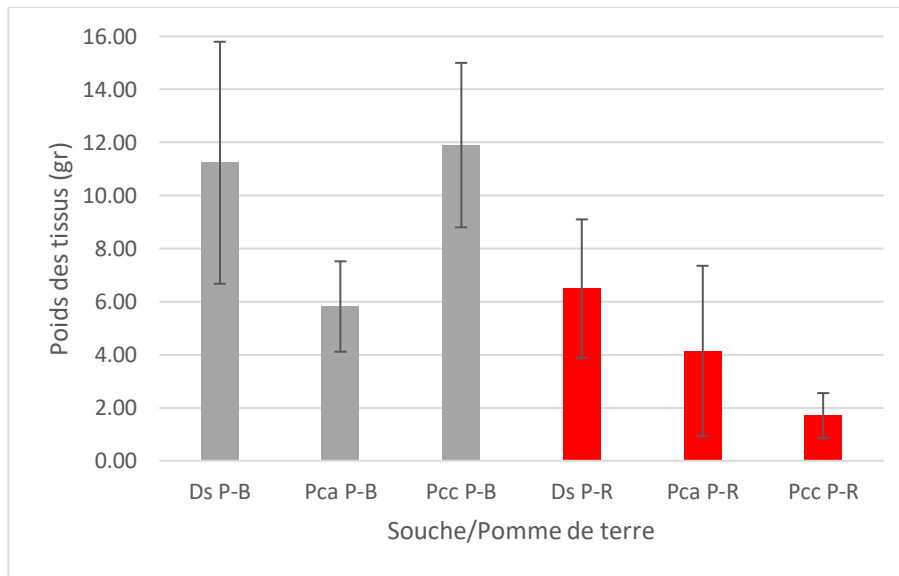
Variété	Souche	Figure	Caractéristiques
Blanche	<i>Ds</i>		-Couleur marron claire avec une zone nécrosée plus réduite.
	<i>Pcc</i>		
	<i>Pca</i>		-Pourriture humide entourée d'un halo noir ayant une démarcation avec les tissus sains. - odeur caractéristique.
Rouge	<i>Ds</i>		-Couleur noire claire et l'étendue de la surface nécrosée plus réduite. - odeur caractéristique.
	<i>Pcc</i>		
	<i>Pca</i>		-Une pourriture humide entourée d'un halo marron marquant une frontière avec tissus sains.

### a)-Estimation des poids des tissus macérés

La mesure des poids des tissus symptomatiques nous indique un effet agressif plus important chez l'espèce *Pcc* qui a enregistré les valeurs les plus élevées (jusqu'à 11,9 g), suivi de près par *Ds*. L'espèce *Pca* induit les plus faibles taux de macération, à savoir 2 fois moins que les autres souches.

Concernant la réponse variétale, on note que les tubercules à couleur de peau blanche sont plus sensibles par rapport à ceux de couleur rouge avec des pourcentages d'infection pouvant atteindre 85%, on constate aussi une différence entre les cultivars rouge et blanc avec un rapport de 1/6 pour la souche *Pcc* (Figure 10).



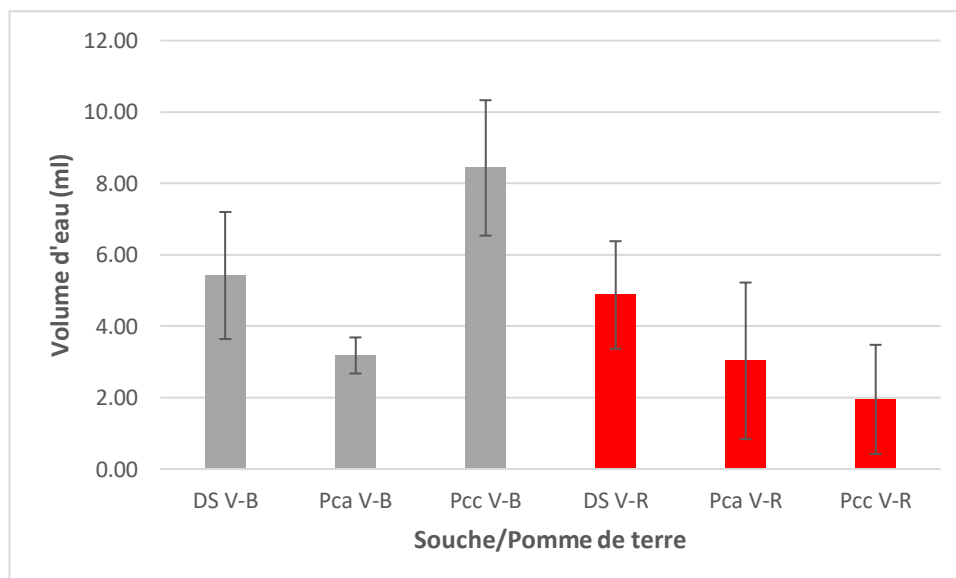


**Figure 10 :** Mesure des poids des tissus macérés sur tubercules de pommes de terre des variétés blanches et rouges

### b)-Mesure des volumes d'eau

Pour le calcul des volumes d'eau nécessaires pour remplir les cavités, on note la même tendance avec *Pcc* comme étant la plus virulente (plus de 8 ml) et *Pca* la moins pathogène, *Ds* ayant un niveau intermédiaire.

Le même constat est à faire pour les tubercules à couleur blanche qui sont nettement moins tolérants que les demi-tubercules de couleur rouge, le cultivar rouge présente des valeurs 4 fois moins importantes par rapport aux tubercules de la variété blanche pour la même souche inoculée (*Pcc*) (Figure 11).

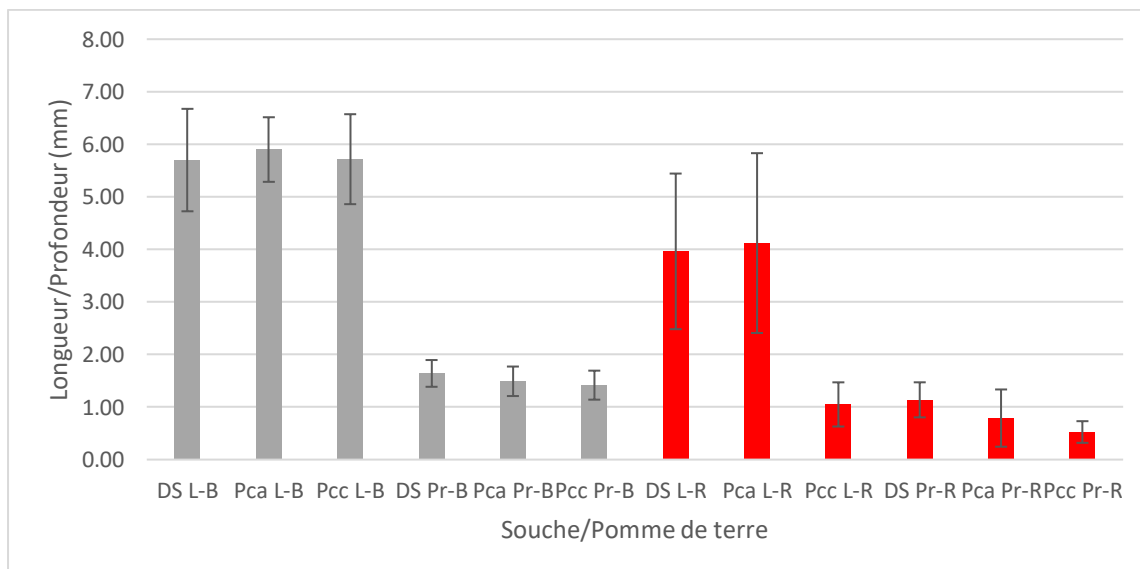


**Figure 11 :** Mesure des volumes d'eau des zones macérées sur tubercules de pommes de terre des variétés blanches et rouges

### c)-Calcul des longueurs et profondeurs des zones macérées

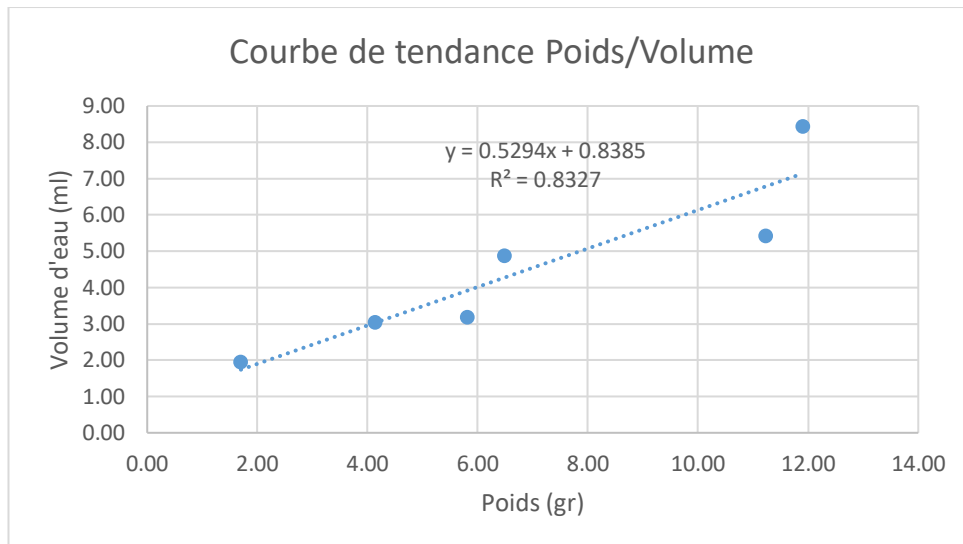
L'estimation des longueurs des zones macérées, ainsi que des profondeurs des cavités engendrées par la macération, nous indique un même plateau de pathogénicité pour les trois souches qui ont enregistré des valeurs assez similaires sur la variété blanche, tandis que sur cultivar rouge, il existe une certaine variabilité entre souches. Cependant, on note globalement le même effet, avec des tubercules de couleur rouge moins sensibles à l'action des souches pectinolytiques (Figure 12).

Les diamètres des pourritures varient jusqu'à 11 fois entre les souches les plus pathogènes et celles qui le sont le moins. Ce qui démontre une nette variabilité entre les souches testées. Cette variabilité, notamment présentes chez l'espèce *carotovorum* a été décrite par de nombreux auteurs (Smith et Bartz, 1990 ; Priou *et al.*, 1992 et Yahiaoui-Zaidi *et al.*, 2003 ).



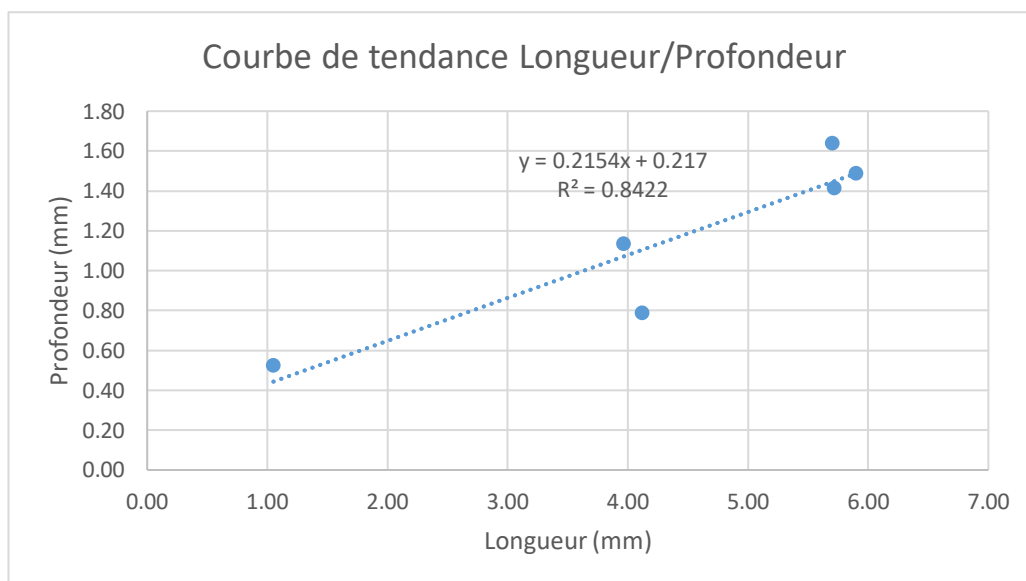
**Figure 12** : Mesure des longueurs et profondeurs des zones macérées sur tubercules de pommes de terre des variétés blanches et rouges

La mesure des poids des tissus macérées nous renseigne sur l'incidence et la sévérité de la maladie, tandis que l'évaluation des volumes d'eau est utile pour déterminer les taux de propagation du pathogène, ces deux paramètres sont généralement bien corrélés et présentent une bonne proportionnalité, comme indiqué ci-dessous.



**Figure 13 :** corrélation entre les facteurs poids et volume d'eau des zones macérées

Les paramètres longueur et profondeur des zones de macération présentent également une corrélation positive.



**Figure 14 :** corrélation entre les facteurs longueurs et profondeur des zones macérées

De nombreux auteurs ont mis en évidence que les méthodes d'inoculation basées sur la mesure des volumes des lésions et poids des tissus macérés sont des outils plus fiables et meilleurs que le calcul de dimensions linéaires comme la longueur ou la profondeur des zones macérées qui sont des approches beaucoup plus subjectives « Lyon *et al.*, (1975) ; De Boer *et al.*, (1978) and Wright *et al.*, (1991) ».

L'effet causé par les deux souches *carotovorum* et *Dickeya solani* sur les 2 variétés est nettement plus important et intense, dans la mesure où une grande surface des demi-tubercules présente des symptômes de macération. Contrairement à la souche *atrosepticum*, moins agressive avec une capacité de macération plus limitée.

D'une manière générale, et en vue des résultats obtenus, on constate que c'est la souche *Pcc* qui présente les taux d'infection les plus élevés, ceci à la fois pour tous les paramètres de mesures, (Poids, volume, longueur et profondeur des pourritures avec une capacité de macération importante sur pomme de terre. Suivi de près par *D. solani*. Alors que la sous-espèce *atrosepticum* est la moins agressive avec les taux d'infection les plus bas.

La faible virulence de *Pca* est expliquée par son optimum de température. En effet, d'après Pérombelon (1992) et Smadja *et al.*, (2004), à des températures de 15 à 22°C, les souches d'*atrosepticum* produisent des quantités élevées de pectinases, induisant ainsi des symptômes intenses de pourriture molle. Tandis qu'à des températures supérieures à 25°C, cette production diminue pour devenir presque indétectable à 30°C, et c'est les souches *Pcc* et *Ds* qui prédominent alors. Ainsi la température d'incubation de 28 à 29°C, a fortement diminué la virulence de *Pca*

Plusieurs études précédentes ont confirmé les résultats obtenus dans ce travail. Ainsi, Woltrers et Collins (1994) ont démontré que les souches de *Dickeya* et *Pc* sont beaucoup plus agressives par rapport aux souches *atrosepticum*. De même, les travaux de Marquez-Villavicencio et Charkowski (2011) qui ont testés la virulence de deux souches *Pc* et *Pa* sur 9 variétés de pomme de terre ont conclu que la souche *carotovorum* est bien plus agressive que *Pca*.

Allefs *et al.* (1996) ont aussi montré que sur 12 variétés de pomme de terre, la résistance à l'inoculation est plus prononcée pour les tubercules inoculés par *Dickeya* que ceux traités par *Pectobacterium atrosepticum* (*Pca*).

Par ailleurs, les résultats du test d'inoculation peuvent être différents et opposés d'un auteur à un autre et d'une année à une autre. Ainsi Zimnoch-Guzawska *et al.* (1999) ont testé la résistance de 44 hybrides diploïdes de pomme de terre vis-à-vis des maladies de jambe noire et de pourriture molle, ils ont en conclu que les souches de *Pa* sont les plus virulentes et produisent des quantités de pourritures généralement plus importantes que les souches de *Dickeya*, ceci dépend bien sur des conditions expérimentales, notamment les températures d'incubation.

En effet, la prédominance des espèces appartenant à *Pcc* ainsi qu'à *Dickeya* sp peut être expliquée par la température optimum de croissance entre 25 et 30°C qui favorise l'activité de ces dernières. Les essais ont été réalisés à une température de 27 °C.

Une variabilité dans leur réponse à l'infection est aussi observée sur les deux variétés, ainsi on a remarqué que la variété à couleur Blanche est plus sensible que celle de couleur rouge. Les tubercules à couleur blanche ont montré une plus grande sensibilité vis-à-vis des agents de pourriture molle.

Cette faible tolérance peut être en partie expliquée par la présence d'un déficit en certains composés secondaires tels que les glycolalcoïdes ( $\alpha$ -solanine and  $\alpha$ -chaconine) et autres métabolites par comparaison aux variétés colorées de pommes de terre. En effet, ces métabolites secondaires sont impliqués et jouent un rôle non négligeable dans la résistance contre divers pathogènes et ravageurs (Ginzberg *et al.*, 2009).

Andrivon *et al* (2003) ont mentionné dans leurs travaux que la résistance de pomme de terre vis-à-vis des agents de pourriture molle est corrélée à leur teneur en composés phénoliques et autres substances bioactives.

Lapwood *et al* (1984) ont montré lors de l'évaluation de la résistance de 22 cultivars à la pourriture molle entre 1982 et 1983, que la variété Désirée à peau rouge est plus résistante vis-à-vis des deux espèces *atrosepticum* et *carotovorum*. Tandis que Acuña *et al.* (2004) ont évalué la réaction de 14 cultivars vis-à-vis de quatre maladies, et ont conclu que la variété Désirée est sensible à la pourriture sèche. Par contre, elle est plus résistante à la pourriture molle, ainsi qu'à la gale commune et à la nervure noire.

La tolérance des tubercules à peau rouge est probablement aussi expliquée par leur teneur en matière sèche relativement plus élevée comparé au cultivar à peau blanche. Marquez-Villavicencio *et al* (2011) suggère aussi que la taille des tubercules ainsi que leur degré de maturité affecte la susceptibilité des pommes de terre envers la pourriture molle, avec les plus grands calibres à maturité précoce (variété rouge) plus tolérants que les tubercules tardifs à petit calibre (variété blanche).

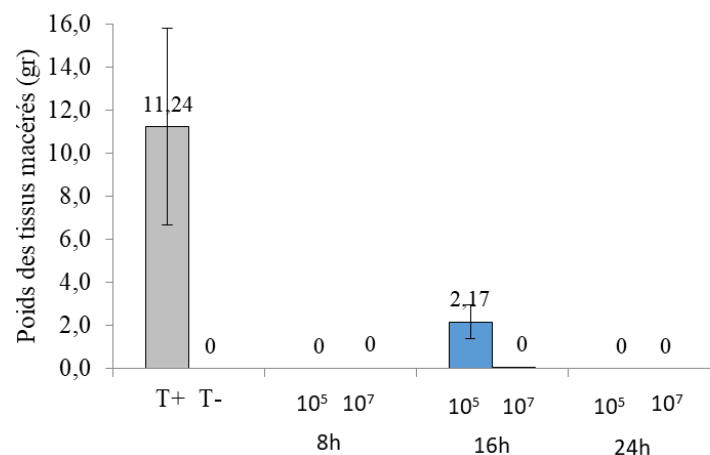
Enfin, il semblerait que les variétés colorées (rouge, pourpre ou autre teinte), renferment plus de composés phénoliques, notamment les anthocyanines et sont par conséquent plus tolérantes vis-à-vis de maladies bactériennes et ravageuses que les cultivars non colorés (Wegener *et Jansen*, 2007).

### III-2) Traitement des demi-tubercules par *Trichoderma asperellum* T34

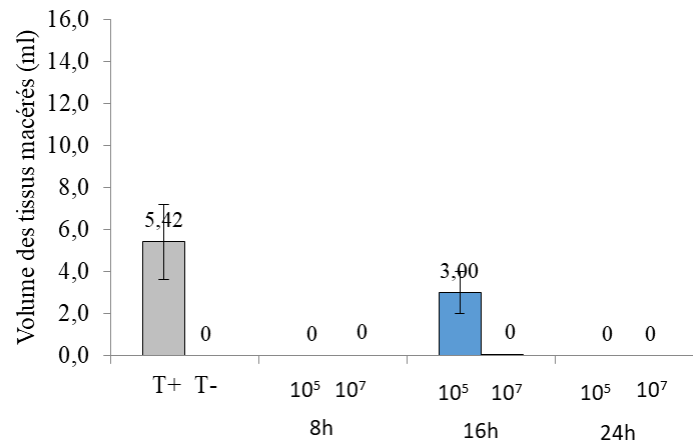
Le traitement préventif des demi-tubercules des 2 cultivars par inoculation de 100 µl de la solution fongique à deux concentrations ( $10^5$  et  $10^7$  UFC/ml) a été effectué en trois temps : 8, 16 et 24h avant infection bactérienne. Pour cet essai nous avons pris en considération uniquement les mesures poids des tissus pourris et volumes d'eau. Les deux autres tests (longueur et profondeur des zones macérées, bien que effectués, n'ont pas été retenus.

Les résultats obtenus nous ont permis de constater l'effet inhibiteur de *Trichoderma asperellum* pour les deux concentrations utilisées, avec un net avantage pour la solution la plus concentrée ( $10^7$  cellules/ml). Ainsi, il semblerait globalement qu'à 8h post traitement, on enregistre une nette diminution des symptômes de macération par rapport au témoin positif (tubercules infectés et non traités), ceci à la fois pour la mesure des poids des tissus, ainsi que des volumes d'eau. Tandis que les tubercules inoculés à 16h et 24h après traitement n'ont présenté aucune trace de symptômes de macération, que ça soit par mesure des poids des tissus infectés ou bien via l'estimation des volumes d'eau.

On note cependant deux exceptions : sur les demi-tubercules à variété blanche inoculés par *Dickeya solani*, ainsi que sur la variété rouge infectée par *Pcc*. Pour ces deux essais, on a constaté une absence de symptômes après 8h, ensuite une apparition de lésions pour les tubercules inoculés après 16h, et enfin une absence de traces de macération après 24h. Ces incohérences peuvent être expliquées par des erreurs de manipulations ayant engendré des contaminations (figures 15, 16, 25 et 26).



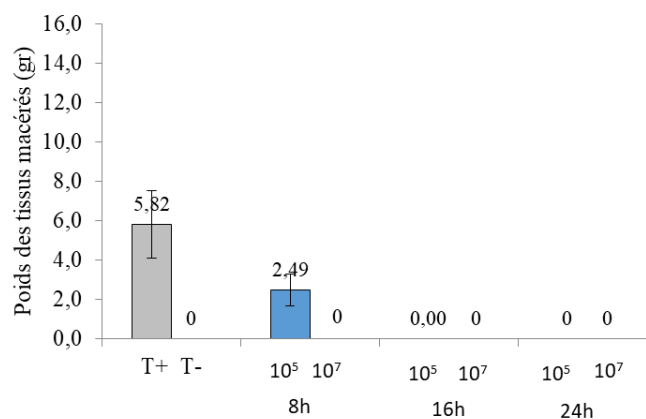
**Figure 15 :** résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété blanche infectés par *Dickeya solani* (mesure des poids des tissus macérés)



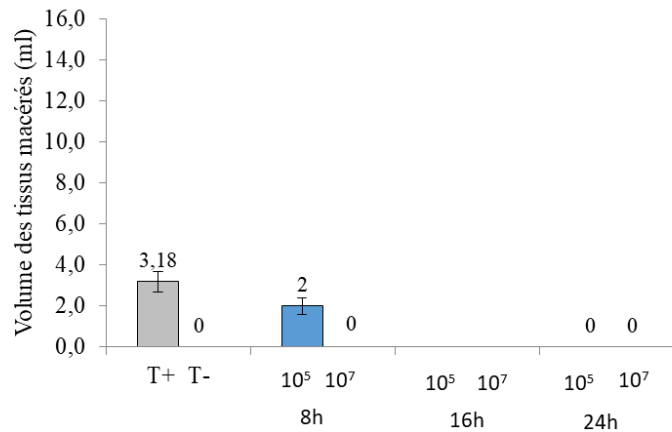
**Figure 16** : résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété blanche infectés par *Dickeya solani* (mesure des volumes d'eau)

L'analyse des données obtenues nous a permis d'affirmer certaines conclusions, ainsi à 16h et 24h, l'effet antagoniste de *Trichoderma asperellum* est avec un taux d'inhibition qui atteint 100 %.

8h après traitement, on observe une nette diminution des symptômes de macération par rapport au témoin, ainsi pour les tubercules à peau blanche inoculés par *Pca* il y'a une différence de poids de plus de 2 fois et de 1,5 fois pour le volume par rapport au contrôle, ce qui correspond à une réduction de 53% et 37% respectivement (figures 17 et 18).

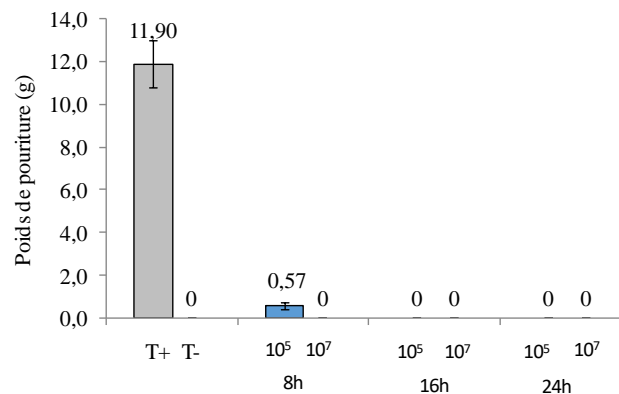


**Figure 17** : résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété blanche infectés par *Pectobacterium atrosepticum* (mesure des poids des tissus macérés)

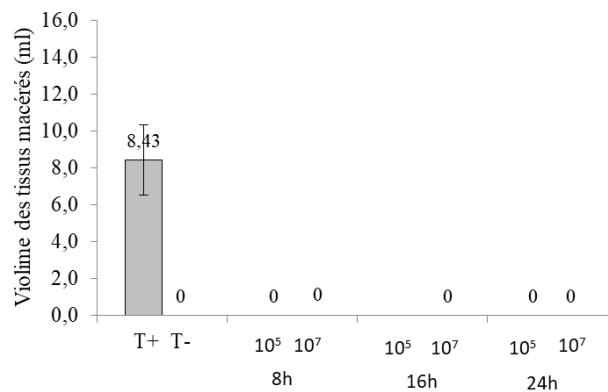


**Figure 18** : résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété blanche infectés par *Pectobacterium atrosepticum* (mesure des volumes d'eau)

Concernant le traitement des tubercules infectés par la souche *Pcc*, on constate les meilleurs taux de régression de la maladie (symptômes 20 fois plus réduits que le contrôle) sur cultivar blanc, avec un taux d'efficacité d'environ 95% (figures 18 et 19).



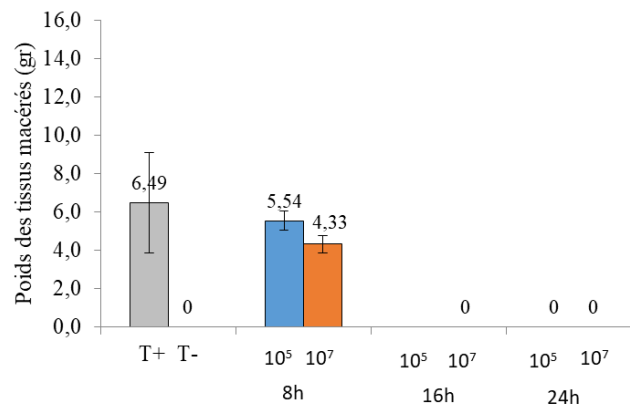
**Figure 19** : résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété blanche infectés par *Pectobacterium carotovorum* (mesure des poids des tissus macérés)



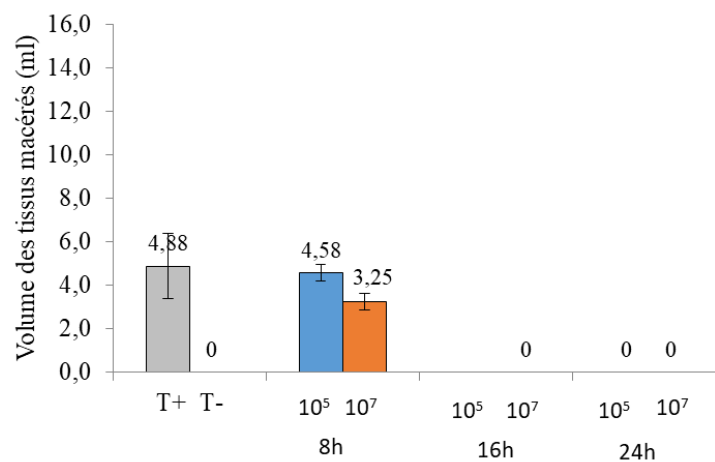
**Figure 20** : résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété blanche infectés par *Pectobacterium carotovorum* (mesure des volumes d'eau)



Pour les demi-tubercules de la variété rouge, on observe le même constat avec une réduction des symptômes de macération induits par la souche *Ds*, après 8h de traitement, avec des taux allant de 15 à 33% pour la mesure du poids et de 7 à 33% pour le calcul du volume d'eau. Il semblerait que l'effet du traitement soit moins efficace lorsqu'il est en interaction avec la souche *Ds* (figures 21 et 22).

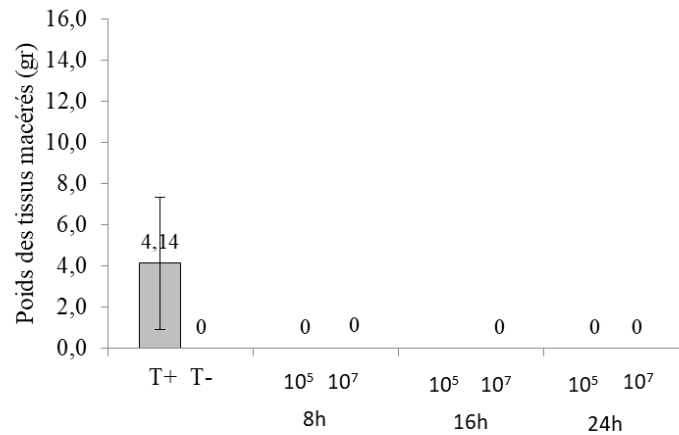


**Figure 21** : résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété rouge infectés par *Dickeya solani* (mesure des poids des tissus macérés)

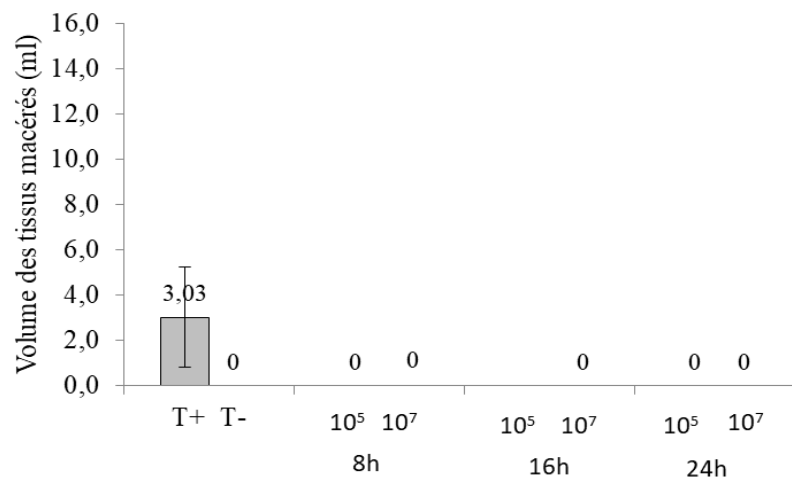


**Figure 22** : résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété rouge infectés par *Dickeya solani* (mesure des volumes d'eau)

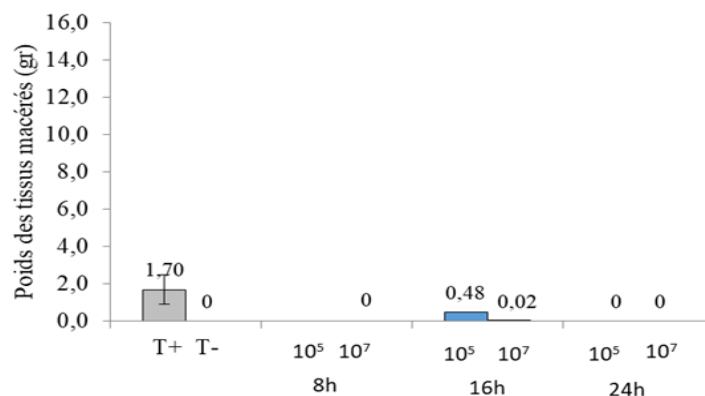
Les autres demi-tubercules traités n'ont affiché aucun symptôme y compris après 8h (figures 23 et 24).



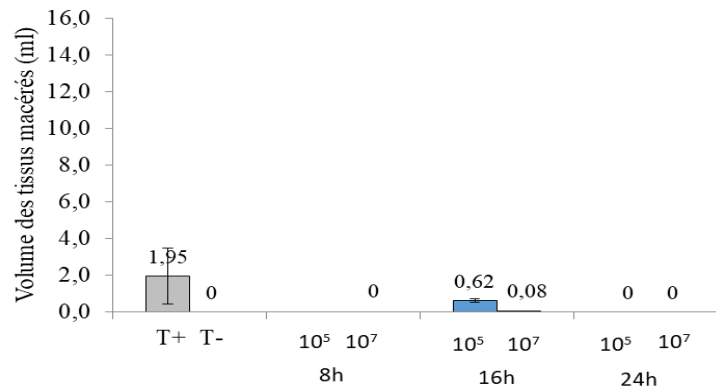
**Figure 23:** résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété rouge infectés par *Pectobacterium atrosepticum* (mesure des poids des tissus macérés)



**Figure 24 :** résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété rouge infectés par *Pectobacterium atrosepticum* (mesure des volumes d'eau)



**Figure 25 :** résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété rouge infectés par *Pectobacterium carotovorum* (mesure des poids des tissus macérés)



**Figure 26 :** résultat du traitement par *Trichoderma asperellum* des demi-tubercules de la variété rouge infectés par *Pectobacterium carotovorum* (mesure des volumes d'eau)

Ces données nous renseignent clairement sur l'effet antagoniste du champignon T34 durant l'interaction plante-pathogène-agent de biocontrôle. Cet effet inhibiteur est dépendant d'une part du temps de contact (intervalle entre traitement et infection) ; l'action du T34 est optimale après 24h post-traitement avec un taux d'inhibition de la pourriture molle de 100%.

Cet effet du temps de traitement est lié à la grande vitesse de croissance des cellules fongiques de *Trichoderma* sp. En effet, leur taux de croissance élevé permet un avantage considérable durant les premiers stades de l'infection pour la compétition avec les pathogènes afin d'occuper l'espace et aussi l'assimilation des nutriments et ceci avant même que l'antagoniste déploie son arsenal de métabolites bioactifs Barbosa *et al* (2001).

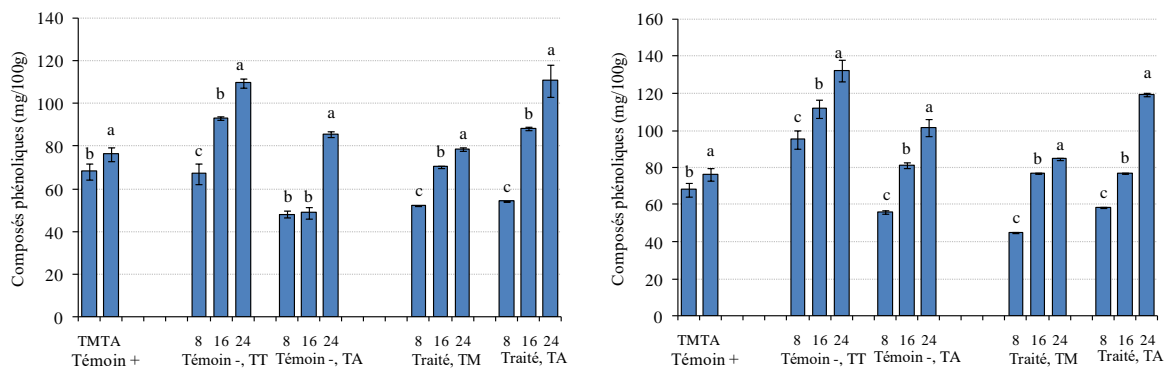
Les colonies de la souche *T. asperellum* T34 utilisée ont montré une croissance rapide, pouvant même être dénombrées au-delà des dilutions 10<sup>-6</sup> sur milieu PDA. Cette croissance rapide de la souche fongique explique en partie sa capacité à coloniser l'espace et les tissus de l'hôte et à s'approprier les ressources nutritives, même juste après leur introduction au sein de l'hôte.

### III-3) Dosage des composés phénoliques

Les résultats du dosage des polyphénols et autres composés ont montré une augmentation de la concentration en composés phénoliques en relation avec le temps de traitement et d'inoculation pour atteindre un pic après 24h. On constate que cette même tendance générale est observée sur les deux variétés inoculées par les trois souches de référence. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est donnée en annexes.

Ainsi, les demi-tubercules à variété blanche traités par le T34 puis inoculés par *D. solani* (figure 27) ont montré une augmentation de la teneur en polyphénols au cours du temps pour atteindre un pic après 24h de traitement et ceci pour les deux concentrations utilisées ( $10^5$  et  $10^7$ ) et aussi à la fois pour les tissus macérés, traités et ceux adjacents.

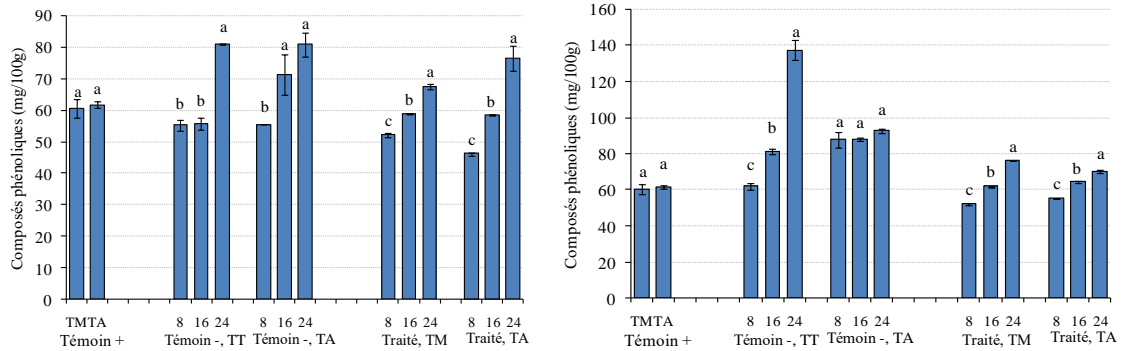
On note aussi que les tissus directement inoculés par le T34 présentent de meilleurs taux en composés phénoliques par rapport aux tissus les plus éloignés (environ 1 cm de distance). A noter aussi que c'est la concentration  $10^5$  qui a induit une teneur plus élevée en composés phénoliques par rapport à  $10^7$ .



**Figure 27** : dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété blanche infectés par *Dickeya solani* et traités par T34 à  $10^5$  (droite) et  $10^7$  cellules/ml (gauche)

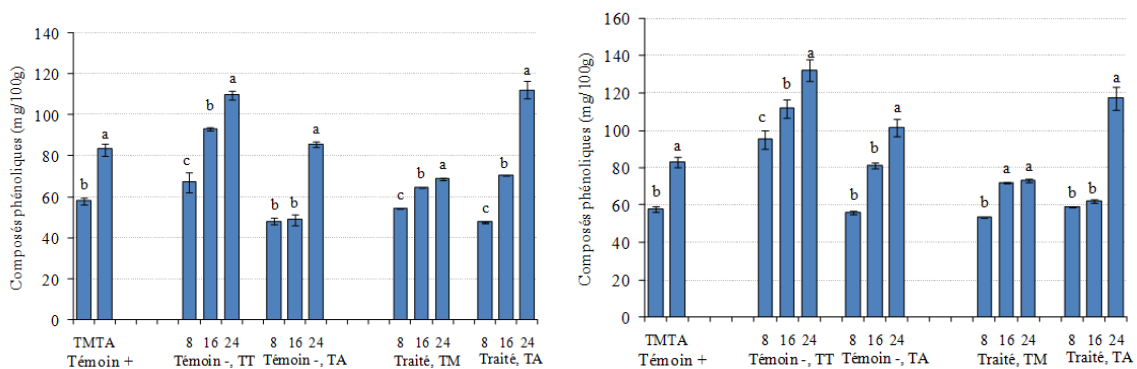
Sur tubercules rouges infectés par *D. solani*, on observe le même effet avec une augmentation des concentrations en polyphénols jusqu'à 24h et une accumulation de ces composés plus importante chez les tissus traités uniquement par le T34. C'est la solution la moins concentrée du T34 qui induit toujours le plus de composés phénoliques (figures 28).

On constate aussi, que c'est sur les tubercules à cultivar blanc, qu'on observe le plus de composés phénoliques produits et accumulés par rapport au cultivar à peau rouge.

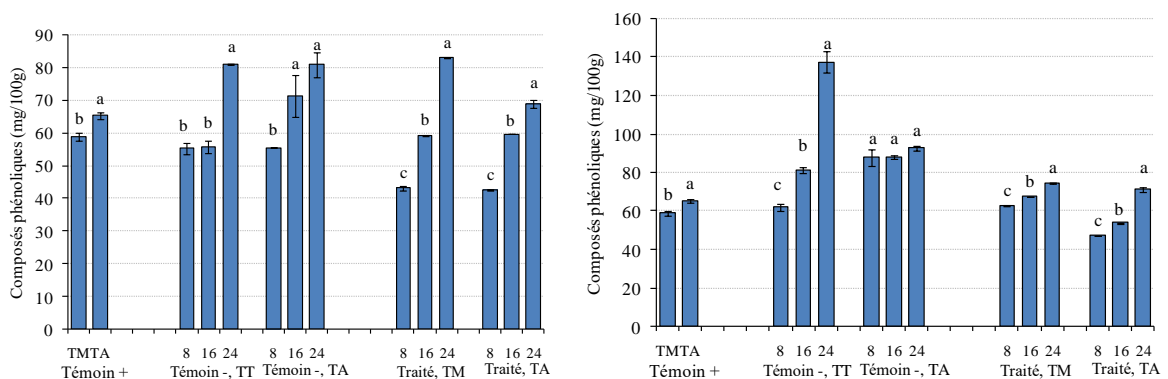


**Figure 28 :** dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété rouge infectés par *Dickeya solani* et traités par T34 à 10<sup>5</sup> (droite) et 10<sup>7</sup> cellules/ml (gauche)

Pour *P. atrosepticum*, on note le même effet sur les deux variétés (figures 29 et 30), avec plus de composés phénoliques induits sur cultivar blanc. Les tissus macérés présentent moins de composés phénoliques que les tissus adjacents.

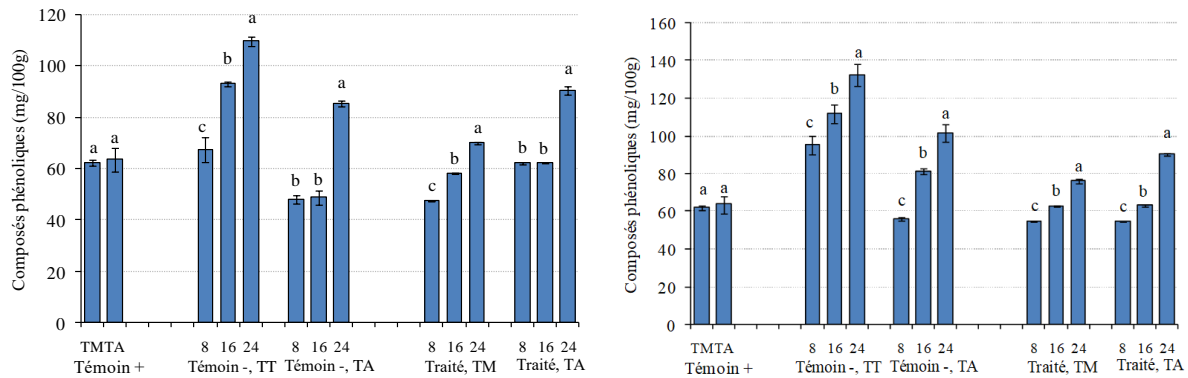


**Figure 29 :** dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété blanche infectés par *P. atrosepticum* et traités T34 à 10<sup>5</sup> (droite) et 10<sup>7</sup> cellules/ml (gauche)

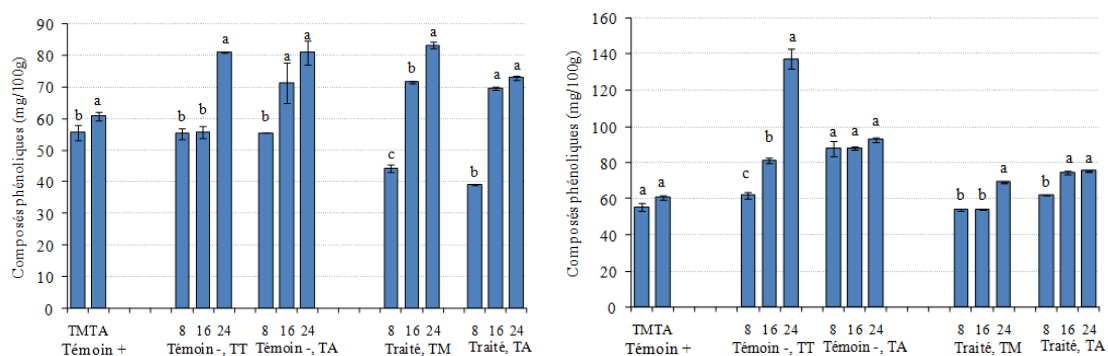


**Figure 30 :** dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété rouge infectés par *P. atrosepticum* et traités par T34 à 10<sup>5</sup> (droite) et 10<sup>7</sup> cellules/ml (gauche)

Enfin, on observe le même résultat sur *Pcc* (figures 31 et 32), avec une teneur en composés phénoliques nettement moins élevée que les deux autres souches bactériennes. Et toujours, c'est la concentration  $10^5$  qui induit le plus de composés.



**Figure 31 :** dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété blanche infectés par *P. carotovorum* et traités par T34 à  $10^5$  (droite) et  $10^7$  cellules/ml (gauche)



**Figure 32 :** dosage des composés phénoliques sur demi-tubercules de la variété rouge infectés par *P. carotovorum* et traités par T34 à  $10^5$  (droite) et  $10^7$  cellules/ml (gauche)

D'après les résultats du dosage, on peut suggérer qu'il existe un lien direct entre traitement par *Trichoderma asperellum* et accumulation des composés phénoliques dans les tissus végétaux, ainsi les teneurs les plus élevées en polyphénols et autres composés correspondent aux temps de contact maximum, à savoir après 16h et 24h, ou on observe une inhibition totale des symptômes de pourriture molle.

En effet, il est bien connu et documenté que l'antibiose est parmi les mécanismes utilisés par les espèces du genre *Trichoderma* sp au cours de son interaction antagoniste avec les agents pathogènes, il s'en suit une production de diverses substances et métabolites à effet bioactif.

Le genre *Trichoderma* sp est réputé pour sa production d'un large panel de métabolites secondaires estimé à plus de 100 composés dotés d'activités antibiotiques, dont la production dépend de différents facteurs tels que le pH, température et nature des tissus colonisés (Sivasithamparam and Ghisalberti, 1998 ; Hort, 2008 ; Vinale *et al.*, 2008). Aussi, le pouvoir antagoniste des souches de *Trichoderma* sp est directement corrélé aux taux de substances bioactives produites et libérées, incluant les composés phénoliques.

Par ailleurs, sur les deux variétés testées, c'est le cultivar de couleur blanche, plus sensible aux agents de macération, qui a affiché les teneurs les plus élevées en composés phénoliques en comparaison avec les tubercules de couleur rouges, pourtant plus tolérants.

Ce résultat peut être expliqué en partie par le fait que ce sont souvent les végétaux les plus attaqués et au niveau desquels on enregistre le plus de symptômes et lésions qui accumulent dans leur tissus des teneurs plus importantes en composés secondaires induits. Ainsi, les enzymes pectinolytiques et autres facteurs de pathogénicité induisent une plus grande accumulation de ces métabolites en comparaison aux variétés moins sensibles et qui sont relativement moins exposées aux attaques microbiennes des phytopathogènes, et qui renferment surtout plus de métabolites constitutifs que de substances induites.

### III-4) Test d'antibiogramme

La lecture du test d'antibiogramme nous a permis d'évaluer le degré de sensibilité de nos souches bactériennes à l'égard de quelques antibiotiques connus pour leur efficacité vis-à-vis des bactéries à Gram négatif. Ainsi on a pu observer que les trois souches testées (*Dickeya solani*, *Pectobacterium* et *atrosepticum carotovorum*) sont globalement sensibles à la plupart des antibiotiques utilisés avec différents degrés.

Parmi tous les antibiotiques utilisés, seuls, les disques de Ceftazidime (Caz), n'ont induit aucune zone d'inhibition sur les trois souches, malgré leur concentration (30 µg/disque).

D'une manière générale, les antibiotiques les plus efficaces sont : l'Amikacine (AK), la Gentamicine (GN) et à moindre degré la Cefotaxime (CTX) et la Rifampicine (RD). Notons que les autres antibiotiques (Amoxyclav « AMC », Cefoxitine « FOX » et Oxacilline « OX » n'ont induit aucun effet antibactérien sur la souche *Ds* (figure).

Selon Karam et karam (1994), un diamètre inférieur à 1,5 cm indique que la souche est résistante ® à l'antibiotique considéré. Tandis que pour un diamètre supérieur à 1,5 cm elle est sensible (S). Ainsi, on observe les résultats suivants :

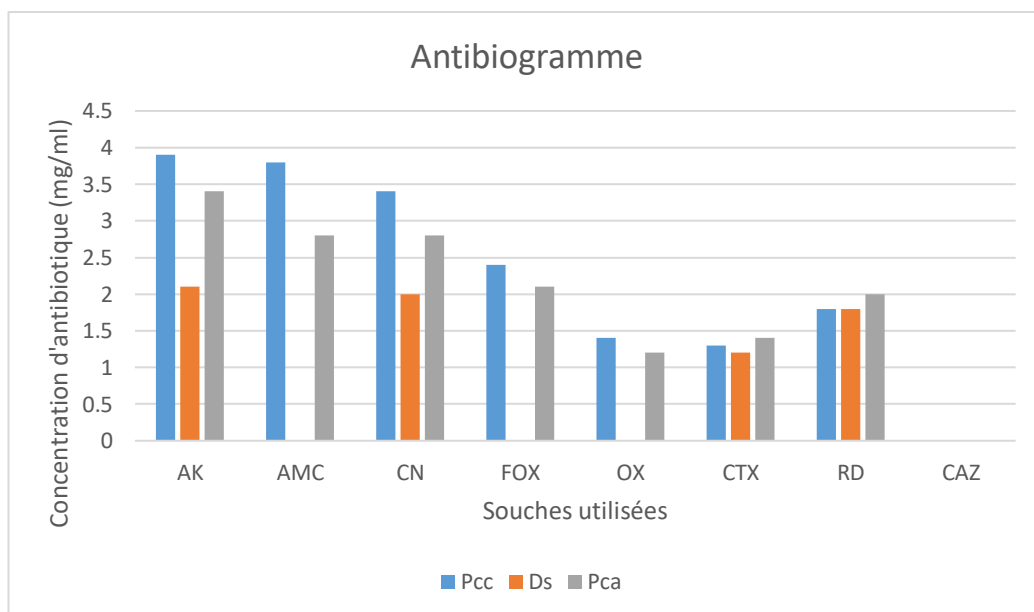
- ✓ *Dickeya solani* est résistante à 4 antibiotiques (AMC, FOX, OX et Caz) et sensible à deux autres (AK, CN), tandis qu'elle présente une sensibilité intermédiaire pour les antibiotiques CTX et RD.
- ✓ *Pectobacterium carotovorum ssp carotovorum* : résistant à Caz, sensible à AK, AMC, CN et FOX ; intermédiaire aux OX, CTX et RD ;
- ✓ *Pectobacterium carotovorum ssp atrosepticum* : résistant à Caz, sensible à AK, AMC, CN et FOX ; intermédiaire aux OX et CTX ;
- ✓

**Tableau VII** : Réponses des souches pectinolytiques vis-à-vis des antibiotiques testés

ATB Souche	AK	AMC	CN	FOX	OX	CTX	RD	CAZ
<i>Pca</i>	S	S	S	S	I	I	S	R
<i>Pcc</i>	S	S	S	S	I	I	I	R
<i>Ds</i>	S	R	S	R	R	I	I	R

S : Sensible R : Résistant I : Intermédiaire

Considérant les résultats obtenus, on peut affirmer que les trois souches présentent des niveaux de sensibilité similaires, avec une plus grande résistance pour la souche *Dickeya solani* tandis que *Pcc* et *Pca* présentent des niveaux de sensibilité similaires vis-à-vis des antibiotiques testés.



**Figure 33** : Résultats du test d'antibiogramme



Le test d'antibiogramme a été réalisé dans le but de comparer entre le pouvoir pathogène de nos souches pectinolytiques et leur résistance à certains antibiotiques actifs sur les bactéries Gram négatif.

La souche *Pca* qui est la moins virulente sur pomme de terre est aussi la plus sensible aux antibiotiques, vu qu'elle est inhibée par 5 antibiotiques sur les 8 testés. La souche *Ds* affiche une certaine tolérance aux antibiotiques étant résistante à la moitié d'entre eux, tandis que *Pcc* bien qu'étant la plus agressive, est considérée comme antibiosensible.

Ainsi et au vu des résultats, et à première estimation, il semblerait qu'il n'y est pas de corrélation directe entre pouvoir pathogène et résistance aux antibiotiques, effectivement cette piste mérite d'être encore plus investiguée.

## **Conclusion**

Notre étude s'inscrit dans une optique de biocontrôle et protection des cultures, ainsi, nous avons testé l'efficacité d'un agent antagoniste, à savoir *Trichoderma asperellum* sur tubercules de pommes de terre infectés par les bactéries macérées appartenant aux genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp.

Le pouvoir infectieux de deux souches de *Pectobacterium* sp (*carotovorum* et *atrosepticum*) et de *Dickeya solani* a d'abord été évalué par la méthode d'inoculation sur demi-tubercules. Ces essais nous ont permis de différencier les niveaux de pathogénicité de nos souches avec *P. carotovorum* puis *D. solani* comme étant les plus agressives, tandis que la souche *Pca* est celle qui a induit le moins de symptômes. Une variabilité dans la réponse végétale a aussi été observée, avec le cultivar de couleur rouge plus tolérant que la variété à peau blanche.

Le traitement préventif des pommes de terre par l'agent fongique *T. asperellum* à différents temps 8, 16 et 24h avant inoculation, a permis de constater une nette régression des symptômes de macération juste après 8h. On observe une complète inhibition de la pourriture molle à 16 et 24h d'intervalle entre traitement et inoculation.

Un protocole d'extraction/dosage des composés phénoliques a été réalisés à la fois sur tissus sains et macérés, la quantification de ces métabolites nous a permis de faire le lien entre antagonisme du T34 et production de métabolites secondaires après traitement et infection. Ainsi l'augmentation de la teneur en composés phénoliques est positivement corrélée avec l'activité antimicrobienne du T34 et est fonction de l'intervalle de temps entre traitement et infection.

A la lumière des résultats obtenus, il apparait que l'utilisation d'agents de biocontrôle dans la lutte contre les phytopathogènes est une stratégie prometteuse et pouvant être appliquée à concentrations réduites.

Ces résultats préliminaires se doivent être approfondis par des investigations ultérieures qui pourront s'intéresser à une caractérisation plus poussées des métabolites impliqués dans l'interaction plante-pathogène-antagoniste. De même il serait intéressant de tester l'efficacité de cet agent de contrôle sur des pathogènes de la pomme de terre, autres que *Pectobacterium/Dickeya* sp et aussi d'effectuer des essais *in vitro*.

### Annexe I :

La plupart des milieux des cultures sont stérilisés à une température de 120 °c pendant 20min.

Composition des milieux utilisés pour la culture et la conservation des bactéries pectinolytiques.

#### ➔ Milieu GNO (pH=7,2)

Composition	Par litre
Peptone	5 g
Extrait de levure	2 g
Extrait de viande	1 g
NaCl	5 g
Agar	15 g
Eau distillé	1000 ml

#### ➔ Milieu King B (pH=7,2)

Composition	Par litre
Peptone	20g
Phosphate de K dibasique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	1,145g
Sulfate de Mg (MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O)	1,5g
Glycerol	15ml
Agar	15g
Eau distillé	1000 ml

#### ➔ Milieu LP (pH=7,5)

Composition	Par litre
Peptone	5 g
Extrait de levure	3 g
Eau distillé	1000 ml

#### ➔ Milieu Mueller- Hinton (pH= 7,2)

Composition	Par litre
Agar	17 g
Amidon de maïs	1,5 g
Peptone	17,5 g
Infusion de viande	300 ml
Eau distillé	1000ml

➔ Milieu PDA (pH=5,4)

Composition	Par litre
Pomme de terre	200 g
Glucose	20 g
Agar	15 g
Eau distillé	1000ml

## Annexe II :

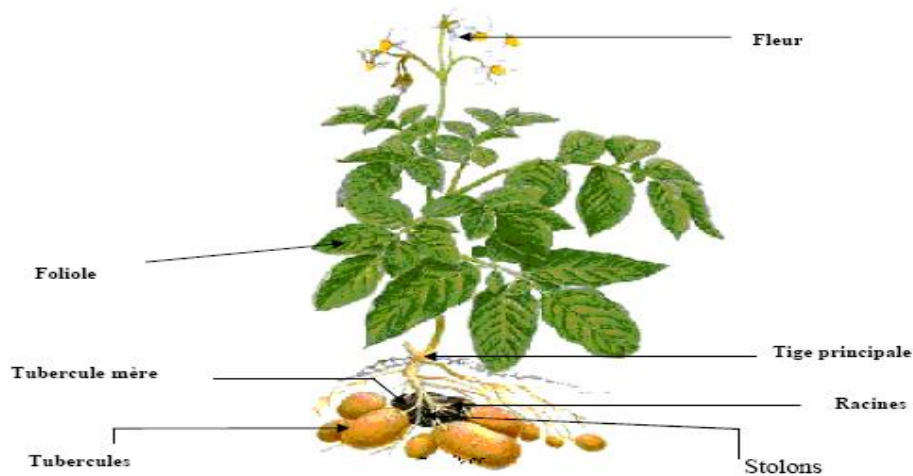


Figure : l'appareil végétatif de la pomme de terre. (Madec et Perennec. 1962)

## Annexe III :

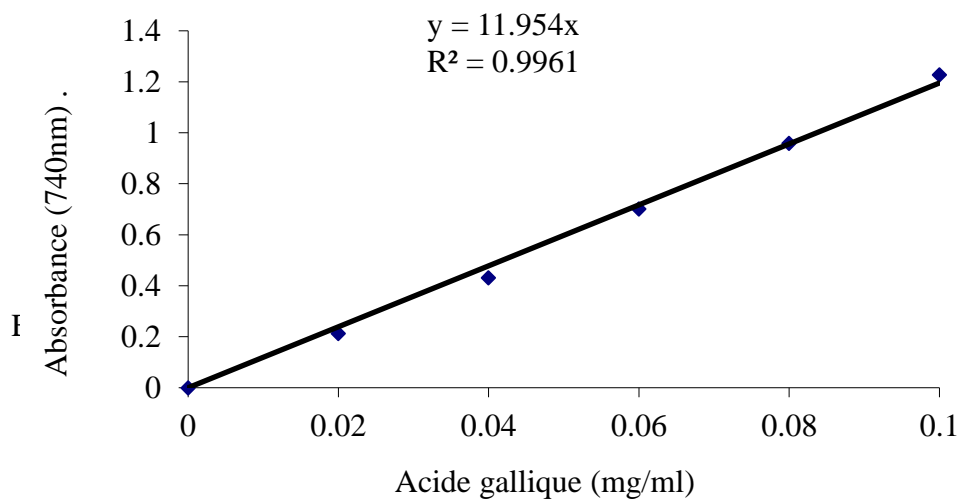


Figure : courbe de tendance avec l'acide gallique comme étalon

### A

Acuña I, Kalazich J, Aguila C, Vargas, M, Mancilla S. and Uribe M. (2004). Relative resistance to dry rot, rhizoctonia disease, common scab and soft rot of potato commercial cultivars at the southern Chile. XXI National Congress of Phytopathology 7-12 Marh, Chile, 30 p.

Allefs, J. J. H. M., Van Dooijeweert, W., Prummel, W., Kaizer, L. C. P. and Hoogendoorn, J. (1996). Components of partial resistance to potato blackleg caused by pectolytic *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *E. chrysanthemi*. *Plant Pathology* 45: 486-496.

Andrews J. (2008). BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 7). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 62, 256-278.

Andrivon D , Corbière R, Lucas J-M, Pasco C, Gravoueille J-M, Pellé R, Dantec J-P, and Ellissèche D. (2003). Resistance to Late Blight and Soft Rot in Six Potato Progenies and Glycoalkaloid Contents in the Tubers. *Amer J of Potato Res* (2003) 80:125-134

Arora. R K et Khurana, S M P . (2004). Major Fungal and Bacterial Diseases of Potatoes and their Management. In, Mukerji, K. G .(ed), *Fruit and Vegetable Diseases*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 189-231.

### B

Bachir bey M, Louaileche, H et Zemouri S. (2013). Optimization of phenolic compound recovery and antioxidant activity of light and dark dried fig (*Ficus carica L.*) varieties . *Food Science and Biotechnology*. 22, 1613-1619.

Baghaee-Ravari S, Rahimian H, Shams-Bakhsh M, Lopez-Solanilla E, Antunez-Lamas M et Rodriguez-Palenzuela P.(2011). Characterization of *Pectobacterium* species from Iran using biochemical and molecular methods. *European Journal of Plant Pathology*.129, 413-425.

Bamouh H. (1999). Technique de production la culture de pomme de terre, bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, N° 58, p.p.1-15

Barbosa, et al (2001).. Barbosa M.A.G, Rehn K.G; Menezes M; Mariano R de Lima R. (2001). Antagonism of *Trichoderma* species on *Cladosporium herbarum* and their enzymatic characterization. *Braz. J. Microbiol.* vol.32 no.2 São Paulo Apr./June 2001

Bissett J.(1991). A revision of the genus *Trichoderma*. La section *Pachybasium*. (a) *can.J.Bot.*, 69: 2373-2417.

Bisset J. (2004). Commentaires de l'adresse internet suivante : <http://www-Medicalglossary-org/fungi-mitosporic-fungi-definitions.html>.

Brenner D J, Steigerwalt , A.G, Miklos, G.V, Fanning,G.R. (1973). Deoxyribonucleic acid Relatedness among *Erwiniae* and other *Enterobacteriaceae* the soft-rot organisms(genus *Pectobacterium* Waldee), *international Journal of Systematic Bacteriology* .23, 205-216.

### C

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

Charkowski et al.( 2012). The role of secretion systems and small molecules in soft rot Enterobacteriaceae pathogenicity. *Ann. Rev. Phytopathol.* 50:425-449.

Chibane A. (1999). Techniques de la production de la pomme de terre au Maroc. *Bulletin de Transfert de Technologie en Agriculture*, N°52, 4 p.

Cournut B. (1984). Le genre *Trichoderma* hyphomycètes . Th :Pharmacie : Marseille . 77 p.

Czajkowski R, Pérombello M C M, van Veen J A et van der Wolf J. M. (2011). Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species : a review. *Plant Pathology*. 60 (6), 999-1013.

### D

De Boer SH, Cuppels DA, Kelman A, (1978). Pectolytic *Erwinia* spp. in the root zone of potato plants in relation to infestation of daughter tubers. *Phytopathology* 68, 1784–90.

De Boer S H. (1994). Prospects for control of potato diseases caused by pectolytic *Erwinias*. *Advances in Potato Pest Biology and Management*, APS Press. 136-148.

De Boer S H . (2004). Blackleg of potato. *The Plant Health Instructor*. DOI:10.1094/PHI-2004-0712-01.

De Kouassi (2001). Les possibilités de la lutte microbiologique : Emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. *Vertigo* 2 :2 (2001).

Denis Gaucher D et Arvalis . (2007). Mildiou de la pomme de terre : les outils d'aide à la décision évoluent- Perspectives agricoles ate de parution - Numéro de la revue : 331- Nombre de pages : 2

Dupuis B, Michilante D ,Garcia-Albeniz Net Nimal C .(2005) .Le point sur les infections par *Erwiniaspp*.en plant de pomme de terre .*journal of Applied Microbiology* . 96, 535-54

### E

Elphinstone J, and Pérombelon M.C.M. (1986). Contamination of Progeny tubers of potato plants by seed- and leaf-borne *Erwinia carotovora*. *Potato Res.* 29, 77–93

Esposito E et Silva M. (1998). Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Crit. Rev. Microbiol.* 24 (2), 89-98

### F

FAO. (2016). FaoStat Database.<http://faostat.fao.org>.

Fernandes, B (2005). Lutte biologique. PHM% Revue horticole,465, pp.31

Freund P. (2013) .Le biocontrôle : 4 freins au développement d'une filière prometteuse. ACTU ENVIRONNEMENT.

### G

Gardan L, Gouy C, Christen R et Samson R. (2003). Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level:*Pectobacterium atrosepticum* sp nov.,*Pectobacterium betavasculorum* sp . nov . and *Pectobacterium wasabiae* sp .nov . International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 53, 381-391.

Gebhardt C et Valkonen J P T. (2001). Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome . Annu Rev Phytopathol 39, 79-102.

Genllud O, Pelaez F, Gonzalez I et Diez M T. (1994). Diversity on actinomycetes and seaweeds from the Iberian coasts .Microbiologia. 10, 413-422.

Ginzberg et al (2009).

Grison C. (1983) . La pomme de terre : caractéristiques et qualités alimentaires. Association pour la Promotion Industrie Agriculture (APRIA). Institut Technique de la pomme de terre . Edition TEC et DOC, 292 p.

### H

Harman G E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol - Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease. 84, 377-393.

.Harman G E C R, Howell A, Viterbo I, Chet et M. Lorito. (2004). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology. 2, 43-56.

Harris R I. (1979). Chemical control of bacterial soft-rot of wounded potato tubers. Potato Res. 22, 245-249.

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

Hélias V. (1999): Mise au point d'outils de caractérisation et de détection d'*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* agent de la jambe noire et de la pourriture molle de pomme de terre. Application à l'étude de la transmission de la bactérie, via la plante, du tubercule mère vers les tubercules fils en cours de culture. Thèse de Doctorat, Rennes, France, 190 p.

Hélias V.(2008). *Pectobacterium spp* .et *Dickeya spp* .de la pomme de terre :nouvelle nomenclature pour *Erwinia spp* .,symptomatologie ,épidémiologie et prophylaxie .17(4) , 350-351.

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

### I

Ibrahim M, Jouan, B, Samson R, Poutier F et Saily M. (1978): Prspect of a pathpogenicity test concerning *Erwinia carotovora* var .*atroseptica* and *Erwinia carotovora* var .*carotovora* on half potato tubers, variation according to variety of bacterial species and stains, inoculums dose, temperature, variety of potatoes, physiological age of tubers and delay between injury and inoculation. Proceeding 4<sup>th</sup> International Plant Conference plant pathogenic Bacteria. Angers. pp 591-602.

### J

Jehl. F, Chabaud A et Gillon A. (2015). L'antibiogramme : diamètres ou CMI ?. Antibiotic suscptibility testing : Diameters or MICs ? Journal des anti-infectieux.

Johnson Dennis A, Jeremiah K S Dung, Thomas F Cummings etBrenda K Schroeder.(2011). Development and Suppression of Aerial Stem Rot in Commercial Potato Fields.Plant Disease. 95, 285-291

Jouzier E. (2005). Solanacées médicinales et philatélie. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux 144, 311-332.

### K

Kamysz W, Krolick A, Bogucka K, Ossowski T, Lukasiak J et Loijkowska E. (2005). Antibacterial Activity of Synthetic Peptides Against Plant Pathogenic *Pectobacterium* Species . Phytopathol. 153, 313-317.

Karam et Karam ,(1994).Isolement et caracterisation de bacteries lactiques de laitscrus d'Algerie.In alimentation,Généétique et santé de l'anfant.Pp.257-264 .Ed ,Desjeux,J .F.et Touhami,M. ,L'Harmattan

Kechid M (2005). Physiologie et biotechnologie de la micro tubérisation de la pomme de terre *Solanum tuberosum*.L Mémoire de Magister, Université de soutenance : Université Constantine 1 (ex Mentouri). Grade : Magister 2005

Kerlan C, Priou S, Jouan B ,Pasco C, Samson R, Corbiere R, Tivoli B, Bedin P, Duvauchelle S, Andrivon D, Elimane R et Perraton B.(1996). Maladies in la pomme de terre .Ed .INRA. 231-316p.

Kloepper J W. (1983). Effect of Seed Piece Inoculation with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Populations of *Erwinia carotovora* on Potato Roots and in Daughter Tubers. Phytopathology .73, 217–219.

Kubicek, c p, Bissett j , Druzhinina I, ,Kullnig-Gradinger c et Szakacs, g. (2003). Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* sp: a case study on south-East Asain isolates. Fungal Genet. Biol, 38 (3), 310-319.



### L

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.

Lapwood D H, Read P J et Spokes J. (1984). Methods for assessing the susceptibility of potato tubers of different cultivars to rotting by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *carotovora*. Plant Pathol. 33, 13- 20.

Latour X. (2008) . Lutte contre les maladies bactériennes de la pomme de terre dues aux *Pectobacterium spp.* (*Erwinia carotovora*).Cahiers Agricultures. 17(4) ,355-360.

G. D. Lyon, B. M. Lund, C. E. Bayliss and G. M. Wyatt. (1975) : Resistance of potato tubers to *Erwinia carotovora* and formation of rishitin and phytuberin in infected tissue. Physiological Plant Pathology (1975) 6, 43-50.

Lyon GD. (1989). The biochemical basis of resistance of potatoes to soft rot *Erwinia spp.* a review Plant Pathol. 38, 313-39.

### M

Madec et Perennec. (1962). Les relations entre l'induction de la tubérisation et la croissance chez la pomme de terre. Ann. Phisio. Veg. pp 05-83.

Magan N .(1988). Effect of water potential and temperature on spore germination and germ-tube growth in vitro and straw leaf sheaths. Transactions of the British Society. .90, 97-107.

Marquez-Villavicencio Maria del Pilar et Amy O Charkowski . (2011). Soft Rot Disease Severity Is Affected by Potato Physiology and *Pectobacterium* taxa. Plant Disease. 95, 232-241.

Molina J J, Harrison M D et Brewer, J W. (1974). Transmission of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* by *Drosophila melanogaster* Meig. I. Acquisition and transmission of the bacterium. Am. Potato J. 51, 245–250.

Montesano M. (2002). Molecular characterization of plant defense responses to *Erwinia carotovora* . Academic Dissertation , University of Helsinki 60 p.

Mouria, B., A. Ouazzani Touhami, A. Badoc. et A. Douira.(2005). Effet de diverses farines sur la compétitivité des inoculums de trois souches de *Trichoderma* vis-à-vis des champignons phytopathogènes du sol. Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux, 144: 211-224.

### O

Oswaldo T.(2010).Hommage à la pomme de terre .Heds.Haute école de santé Genève .filière nutrition et diététique.11p

### P

Patel N and Rajput T B S. (2007). Effect of drip tape placement depth and irrigation level on yield of potato. *Agricultural Water Management* 88, 209-223.

Pérombelon, M C M et Kelman A. (1980). Ecology of the soft rot erwinias. *Annu. Rev. Phytopathol.* 18, 361–387. Identification of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrespticum*) on potatoes: a laboratory manual . *Scottish*

Pérombelon M C M et Van Der Wolf JM (2002). Methods for the detection and quantifi *Crop Research Institute Annual Report* 10p.

Pérombelon M C M. (2002). Potato diseases caused by solf rot erwinias : an overview of pathogenesis .*Plant Pathol* . 51, 1-12.

Prieto, A, leal, J.A, Poeda, A., jiménez-Barbero,J., Gomez-Miranda, B., Domenech, J, Ahrazem, O., & Berabé, M.,(1997). Structure of complex cell wall polysaccharides isolated from *Trichoderma* and hypocrea species. *Carbohydrate Research* 1997, 304 (3-4) : 281-291

Priou S et Jouan B . (1989). Jambe noire et pourritures molles : une bonne conduite limite les dégâts . *Cultivars*. 263, 88-93.

Priou S et Jouan B .(1992). Comparaison of the effectiveness of two methods of screening potato to solf rot induced by *Erwinia carotovora* ssp . *atroseptica* . *in* Proceeding of the joint conference of the EAPR breeding and varietal assessment section and the EUCARPIA potato section , Landerneau, France. pp 139-140.

Priou S et Jouan B. (1996). Les maladies provoquées par les bactéries pathogènes du genre *Erwinia*. In *La pomme de terre*, (Paris : Institut national de la recherche agronomique : Institut technique des céréales et des fourrages). pp260-274.

### R

Ribéreau-Gayon P. (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*. Editions. Dunod, Paris. 254p.

Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P et Ribéreau-Gayon P .(1982). Composés phénoliques. In « *Traité d'œnologie, sciences et technique du vin* ».Edition : DUNOD. Paris 173-201p.

Roquebert M F. (1996). Interactions antagonistes des *Trichoderma* sp. Dans les systèmes telluriques : Systématique, biologie et écologie des organismes. *Compterendu des 4èmes Rencontres en Toxinologie*, Paris. 13-15.

Rousselle P, Robert Y et Crosnier J C. (1996). *La pomme de terre : production, amélioration, ennemis et maladies, utilisation*. Editions: INRA-ITCF. Paris. 607p.

### S

Saguez J. (2007). Dérégulation des activités chitinasés : vers de nouvelles perspectives de lutte contre les aphides. Thèse de Doctorat en Science et Santé. Université de Picardie, Faculté des Sciences, Jules Verne, 148p.

Samuels, G. J. ;Petrini, O. and Mangui, S. (1994). Morphological and macromolecular characterization of *Hypocrea schweinitzii* and its *Trichoderma* anamorph. *Mycologia* , 86: 421-435.

Singh A S et Srivastava H B. (2007). Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. *Bioresource Technology*. 98, 470-473.

Singleton V L et Rossi J A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.  
Sivasithamparam and Ghisalberti, 1998.

Smadja B, Latour X et Faure D. (2004). Involvement of *N*-acylhomoserine lactones throughout the plant infection by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Pectobacterium atrosepticum*). *Mol Plant Microbe Interact.* 17, 1269-78.

Smith, C. and Bartz, J. A. (1990): Variation in the pathogenicity and aggressiveness of strains of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* isolated from different hosts. *Plant Disease* 74: 505-509.

Sharga B M et Lyon GD. (1998). *Bacillus subtilis* BS 107 as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria. *Can. J. Microbiol.* 44, 777-783. *ISHS Acta Horticulturae*. 986, 1-17.

Skerman V B D Mc, Gowan V et Sneath P H A. (1980). Approved lists of bacterial names international journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 30, 225-420.

### T

Thibierge J. (2015). Mise en œuvre du bio-contrôle par les agriculteurs : Retour d'expérience sur le succès du trichogramme contre la pyrale du maïs. Quels enseignements pour développer de nouvelles solutions. *Innovations Agronomiques* 46, 95-104.

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

### V

Van Dam J, Kooman P L et Struik P C. (1996). Effects of temperature and photoperiod on early growth and final number of tubers in potato ( *Solanum tuberosum* L.). *Potato Research*. 39, 51-62.

## Références bibliographiques

---

Van der Wolf J, S peksnijder A, Velvis H, Van de Haer J, van Doorn J, 2007. 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*. Jokionen, Finland: MTT Agrifood Research, Agrifood Research Working Papers no.142, 30

Vinale. F, Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R, Sheridan L. W and Lorito M (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology & Biochemistry* 40 (2008)1-10

Vining L C. (1990). Functions of secondary metabolites . *Annu. Rev. Microbiol.* 44, 395-427

### W

Wegener, C. B. and Olsen, O. (2004) : Heterologous pectate lyase isoenzymes are not different in their effects on soft rot resistance in transgenic potatoes. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 65: 59-66.

Widden P et Abitbol J J. (1980). Seasonality of *Trichoderma* species in spruce forest soil. *Mycologia*. 72 , 775-784.

Winslow C E A, Broadhurst J, Buchanan R E, Krumwiede Jr C, Rogers L A et Smith G H.(1917). The families and genera of the bacteria .Preliminary report of the committee of the society of american bacteriologists on characterization and classification of bacterial types .*Journal of Bacteriology*. 2, 505-566.

Wolters P J and Collins W W. (1994). Evaluation of diploid potato clones for resistance to tuber soft rot induced by strains of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *E. carotovora* subsp. *carotovora* and *E. chrysanthemi*. *Potato Research*. 37, 143-149.

Wright P.J., Crowhurst R.N., Anderson J.A.D. & Dale J.R. (1991). Evaluation of potato cultivars and breeding lines for susceptibility to tuber soft rot induced by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 1991, Vol. 19: 187-190

### X

Xu G W et Gross, D C. (1986). Selection of Fluorescent *Pseudomonads* Antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed piece decay. 76, 414-422.

### Y

Yahiaoui-Zaidi, R., Jouan, B. and Andrivon, D. (2003): Biochemical and molecular diversity among *Erwinia* isolates from potato in Algeria. *Plant Pathology* 52: 28-40.

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

Yaganza E S, Riou D, Simard M, Arul J et Tweddell R J. (2004). Ultrastructural alterations of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* caused by treatment with aluminium chloride and sodium metabisulfite. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 6800-6808.

## Références bibliographiques

---

Yaganza E S. (2005). Utilisation post-récolte de sels organiques et inorganiques pour lutter contre la pourriture molle de la pomme de terre : base physico-chimique. Thèse P. D. Université Laval, Québec, Canada 188 p.

Young, J M et Park, D C. (2007). Relationships of plant pathogenic *Enterobacteria* based on partial *atpD*, *carA*, and *recA* as individual and concatenated nucleotide and peptide sequences. *Systematic and Applied Microbiology*, article *in press*. 12p.

### Z

Zimnoch-Guzawska E, Lebecka R et Pietrak J. (1999). Soft rot and blackleg reactions in diploid potato hybrids inoculated with *Erwinia spp.* *American Journal of Potato Research* 76, 199-207.

## Résumé

Les espèces des genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp sont les agents responsables d'une des plus importantes maladies bactériennes de la pomme de terre : la pourriture molle qui induit des dégâts considérables au champ, ainsi qu'en conservation. Face à l'inefficacité des moyens de lutte classique, des méthodes alternatives ont été mises au point. Dans notre étude, nous nous sommes intéressés au potentiel antimicrobien d'une souche fongique de *Trichoderma asperellum* T34, connue pour son activité antagoniste. Deux souches de *Pectobacterium* (*atrosepticum* et *carotovorum*) et une de *Dickeya solani* ont été inoculées sur demi-tubercules de pommes de terre de deux variétés (blanche et rouge), les résultats du test d'infection ont permis de distinguer les souches hautement agressives (*D. solani* et *P. carotovorum*) de celles qui le sont le moins (*P. atrosepticum*), et aussi de différencier les tubercules à peau rouge plus tolérants à la maladie que ceux à peau blanche. Le traitement préventif par deux concentrations de T34, ( $10^5$  et  $10^7$  UFC/ml), des demi-tubercules infectés par les trois souches a permis dans un premier temps de réduire l'intensité des symptômes après 8h, puis d'inhiber complètement le développement des pathogènes après 16 et 24h. Le dosage des composés phénoliques réalisé sur des tissus macérés, traités et/ou intacts a aussi permis d'établir une corrélation positive entre teneurs en composés phénoliques et activité antibactérienne du T34. Les résultats obtenus confirment le grand intérêt antagoniste de *Trichoderma* sp sur pommes de terre et ouvrent la voie vers d'autres applications.

**Mots-clés :** Antagonisme, *Trichoderma asperellum*, Pomme de terre, *Dickeya solani*, Pourriture molle.

## Abstract

*Pectobacterium* and *Dickeya* species are responsible of one of the most important bacterial potato diseases : soft rot which induces considerable damage on field, and in conservation. Faced with the effectiveness of conventional control tools, alternative methods have been developed. In our study, we investigated the antimicrobial potential of fungal strain *Trichoderma asperellum* T34, known for its antagonistic activity. Two strains of *Pectobacterium* (*atrosepticum* and *carotovorum*) and one of *Dickeya solani* were inoculated on potatoes half-tubers of two varieties (white and red skin), results of infection test allow us to distinguish highly aggressive strains (*D. solani* and *P. carotovorum*) of those least susceptible (*P. atrosepticum*), and also to differentiate red-skinned tubers that are more tolerant to disease than white skinned potatoes. The preventive treatment with two concentrations of T34, ( $10^5$  and  $10^7$  CFU/ml), of infected half-tubers reduce firstly the intensity of symptoms after 8h, then inhibit completely the pathogen's development after 16 and 24h. Phenolic compounds assay carried out on macerated, treated and/or intact tissues establish a positive correlation between phenolic compounds contents and antibacterial activity of the T34. Our results confirm the antagonistic interest of *Trichoderma* sp on potatoes and open the way to other applications.

**Key-words :** Antagonism, *Trichoderma asperellum*, Potato, *Dickeya solani*, Soft rot.