

Réf :

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

MASTER

Thème

**Isolement et identification des
phytopathogènes bactériens à partir
de tubercules de pomme de terre
symptomatique**

Présenté par :

ZIANE Celia & TAFININE Meriem

Soutenu le : 30/06/2019

Devant le jury composé de :

Mr. BENSALD K.

MAA

Président

Mr. LADJOUZI R.

MAA

Encadreur

Mlle. BELHAMICHE N.

MAA

Examineur

Année universitaire : 2018 / 2019

REMERCIEMENT

Tout d'abord on remercie le bon Dieu le tout puissant qui nous a accordé la force et le courage pour la réaliser ce travail.

*On tient vraiment à exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude à monsieur **Laadouzi** notre encadreur pour son soutien son aide et ses conseils.*

*Nous remercions ainsi les membres de jury composé de Mr **BENSAID** et Mme **Belhamiche** de nous avoir consacré leur temps et d'avoir accepté d'examiner et évaluer ce travail.*

*Nos remerciements vont droit à Mr **DJOUDI F, BETTACHE A**, et tous les ingénieurs et les doctorants du LMA (Laboratoire de microbiologie appliquée) pour leurs conseils et leur aide.*

Nous remercions toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, nous exprimons notre profonde reconnaissance à tous nos enseignants pour le savoir qui nous a été transmis au long de notre parcours d'apprentissage au sein de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

A vous tous un grand merci

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 01

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralité sur la culture de la pomme de terre

1-Définition	02
2-Taxonomie	02
3-Description morphologique et cycle de vie	02
3-1 Morphologie	02
3-2. Physiologie et multiplication végétative de la pomme de terre	03
3-2.1. Dormance	03
3-2.2. Germination	03
3-2.3. Tubérisation	04
4-Exigences écologiques et culturales de la pomme de terre	05
4-1. Exigences climatiques	05
4-2. Exigences édaphiques	05
4-2.1. Structures et texture du sol	05
4-2.2. PH	05
4-2.3. Salinité	05
5-Composition et intérêt nutritifs	05
6-Production et importance économique	06
6-1. Echelle mondiale	06
6-2. Echelle nationale	07

Chapitre II : Maladies et ravageurs de la pomme de terre

1-Pourriture molle et jambe noire	08
1-1. Description des agents responsables	08
1-1-1. Taxonomie et nomenclature	08
a) Evolution de la taxonomie	08
b) Taxonomie actuelle	09
1-1-2. Caractéristiques culturales et biochimiques	10

c) Production d'indole	20
1-Principe	20
2- Technique	20
3-Lecture	20
Résultats et discussion	
1- Isolement des bactéries a partir des tissus macérés	21
2- Résultat du test d'inoculation sur demi-tubercules	24
3- Résultats des tests biochimiques	27
Conclusion	30
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

CMS : *Clavibacter michiganensis* subsp.

Ds : *Dickeya solani*.

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

LB: Luria Bertani.

pH: Potentiel d'hydrogène.

Pca: *Pectobacterium carotovora atrosepticum*.

GNO: gélose nutritive ordinaire.

Pcc : *pectobacterium carotovorum carotovorum*.

Dd : *Dickeya dadantii*

Introduction

La pomme de terre constitue une denrée alimentaire de base très appréciée. En Algérie, on estime que la consommation annuelle moyenne dépasse les 100 Kg par habitant (FAOSTAT, 2018). Du fait de sa productivité importante et de ses conditions de culture, cette dernière est souvent la cible de nombreuses maladies virales, fongiques et bactériennes.

Parmi les bactérioses de pommes de terre, la pourriture molle, due aux genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp, engendre chaque année des pertes considérables à la fois au champ, à la récolte ou durant la conservation. L'impact économique est difficile à chiffrer parce qu'il dépend de l'intensité de l'épidémie et des répercussions qui peuvent subsister pendant plusieurs années (Smadja *et al.*, 2004).

Ces pathologies, souvent associées à d'importantes pertes économiques, ainsi qu'à des prix de revient très élevés impliquent des déficits financiers conséquents et constituent un sérieux handicap pour l'économie nationale. Ces maladies, menacent de plus en plus la sécurité alimentaire des pays en voie de développement tels que l'Algérie ou on estime que 70% des refus sont attribués aux problèmes phytosanitaires dont 32% due à des problèmes de pourriture molle (Yahiaoui-Zaidi *et al.*, 2003).

Au regard de l'importance économique considérable de la pomme de terre et vu la dépendance actuelle de l'étranger, les problèmes phytosanitaires de cette culture se doivent d'être bien étudiés, et traités en conséquence. Aussi, il devient impératif de s'intéresser au diagnostic de cette maladie, via l'identification et la caractérisation des agents pathogènes.

Ainsi, l'objectif de notre présente étude est d'établir une collection de souches à partir de divers échantillons de tubercules de pomme de terre présentant les symptômes de pourriture molle, dans le but d'identifier ces pathogènes, et d'estimer ainsi leur incidence sur pommes de terre. Notre travail expérimental est axé sur les points suivants :

- Isolement de bactéries pectinolytiques à partir de d'échantillons infectés ;
- Identification morphologique et biochimique ;
- Réalisation de test de pathogénicité et d'agressivité sur demi-tubercule, ce dernier, en plus d'évaluer la virulence bactérienne ainsi que le degré de sensibilité végétale, peut aussi être utilisé comme clef d'identification en permettant de caractériser ces pathogènes pectinolytiques en se basant sur l'aspect des symptômes engendrés.

Chapitre I : Généralités sur la culture de pomme de terre

1- Définition

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L) désigne la plante et ses tubercules comestibles appartenant à la famille de solanacées, c'est une culture vivace, dicotylédone, annuelle, tubéreuse et herbacée. Originaires d'Amérique du sud, elle fût introduite en Europe au 16^{ème} siècle, puis en Afrique à la fin de 19^{ème} (Kleinkopf, 1983 ; Hawkes, 1990 ; Spire et Rousselle, 1996). Elle est rencontrée très fréquemment en zones arides principalement au nord et au sud du continent africain (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

2- Taxonomie

La position systématique de la pomme de terre est la suivante (Boumlik, 1995).

Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Polémoniales
Famille	Solanacées
Genre	<i>Solanum</i>
Espèce	<i>Solanum tuberosum</i> L

3- Description morphologique et cycle de vie

3-1. Morphologie

La pomme de terre se compose d'une partie aérienne et d'une partie souterraine :

a)- **Appareil aérien** : Le système aérien est composé comme suit :

- Les tiges aériennes sont au nombre de 2 à 10, parfois plus, avec un port plus au mois dressé et une section irrégulière ;
- Les feuilles composées qu'elles portent permettent, par leurs différences d'aspect et de coloration, de caractériser les différentes variétés ;
- Les fleurs, dont la couleur et le nombre définissent aussi divers cultivars sont généralement autogames, mais souvent stériles ;

- Les fruits ou baies qu'elles produisent contiennent des graines dont l'intérêt est nul en culture (**Bamouh, 1999**).

b)-Appareil souterrain : Le système souterrain porte des tubercules vivaces, organes de réserve et de conservation. Les racines, nombreuses, fines et fasciculées peuvent pénétrer profondément dans les sols suffisamment meubles. Les tiges souterraines, (rhizomes, ou stolons), sont courtes et leurs extrémités se renflent en tubercules (**Saguez, 2007**).

3-2. Physiologie et multiplication végétative de la pomme de terre

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

La durée du cycle végétatif de la pomme de terre est variable, elle dépend de l'état physiologique des tubercules plantés, de l'ensemble des facteurs climatiques et des variétés utilisées. Le tubercule n'est pas seulement un organe de réserve, c'est aussi un organe qui sert à la multiplication végétative, cette dernière se déroule en trois étapes : la dormance, la germination et la tubérisation (**Kechid, 2005**).

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

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

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

La morphologie de la plante de pomme de terre, ainsi que le cycle végétatif des tubercules sont résumés dans la figure suivante.

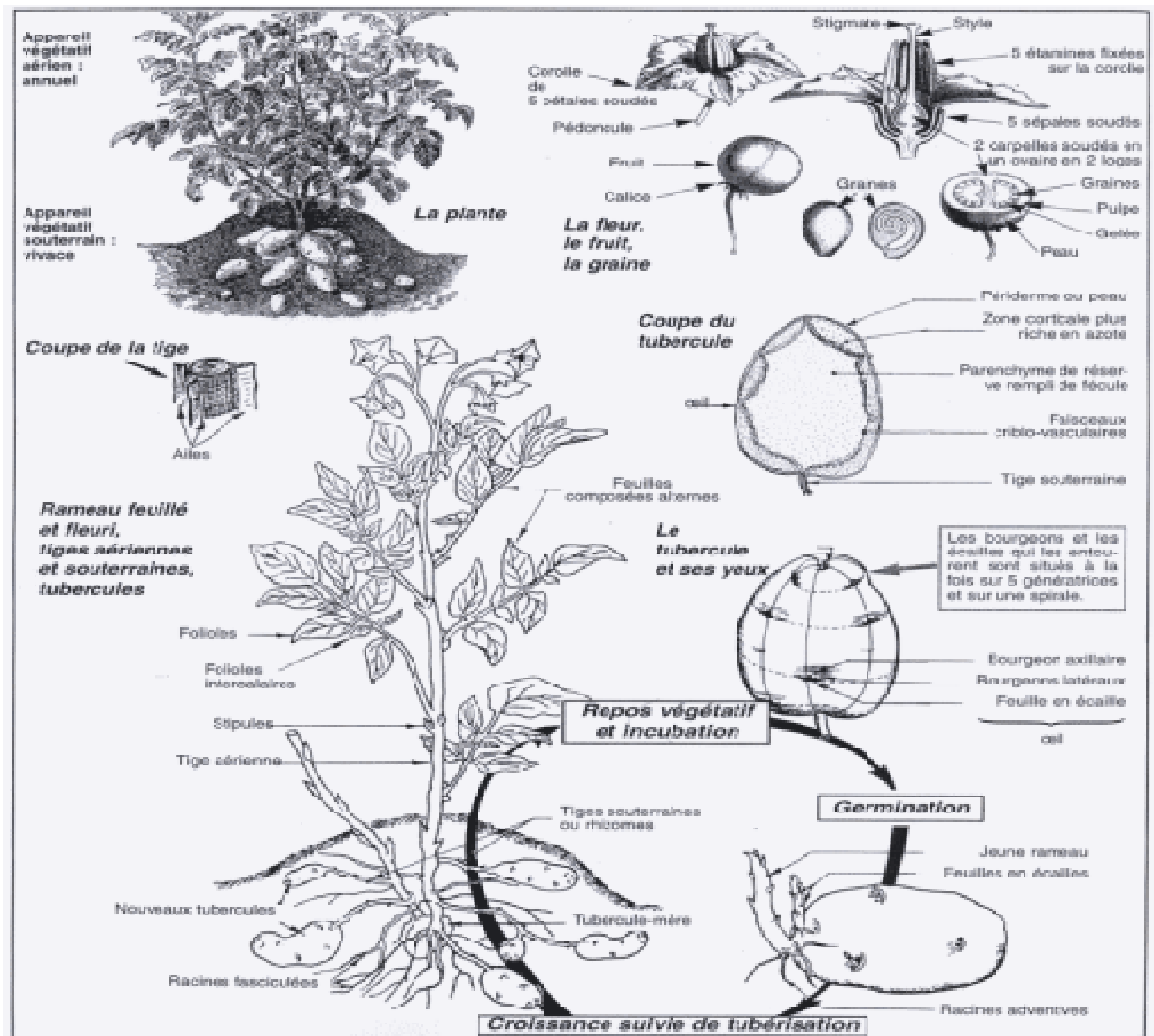


Figure 1 : Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre et cycle végétatif (**Soltner, 1998**)

4. Exigences écologiques et culturelles de la pomme de terre

4.1 Exigences climatiques

a) Température : La température est un paramètre de croissance très important, les hautes températures stimulent la croissance des tiges, par contre, les basses températures favorisent davantage la croissance du tubercule. La pomme de terre est très sensible au gel. Le zéro de végétation est compris entre 6 et 8°C. Les températures optimales de croissance des tubercules se situent aux alentours de 18°C le jour et 12°C la nuit. Une température du sol supérieure à 25°C est défavorable à la tubérisation (**Rousselle *et al.* 1996**). .

b) La lumière : La croissance végétative de la pomme de terre est favorisée par la longueur élevée du jour (14 à 18h). Une photopériode inférieure à 12h favorise la tubérisation. L'effet du jour long peut être atténué par les basses températures (**Boufares, 2012**).

4.2. Exigences édaphique

4.2.1. Structure et texture du sol : La plupart des sols conviennent à la culture de la pomme de terre à condition qu'ils soient bien drainés et pas trop pierreux. Les sols profonds, fertiles et meubles sont les plus préférés. En général, la pomme de terre se développe mieux dans des sols à texture plus ou moins grossière (texture sablonneuse ou sablo-limoneuse) que dans des sols à texture fine et battante (texture argileuse ou argilo-limoneuse) qui empêchent tout grossissement de tubercule (**Patel et Rajput, 2007**).

4.2.2. pH : Dans les sols légèrement acides (pH de 5,5 à 6), la pomme de terre peut donner de bons rendements. Une alcalinité excessive du sol peut causer le développement de la galle commune sur tubercule (**Chaumeton *et al.*, 2006**).

4.2.3. Salinité : La pomme de terre est relativement tolérante à la salinité par rapport aux autres cultures maraîchères. Cependant, un taux de salinité élevé peut bloquer l'absorption de l'eau par le système racinaire (**Bustan *et al.*, 2004**).

5- Composition et intérêts nutritifs

Le tubercule de pomme de terre est caractérisé par sa richesse en glucides, c'est également une source non négligeable en protéines et vitamine C. La composition et la valeur nutritionnelle de ce légume sont données dans la figure ci-dessous.

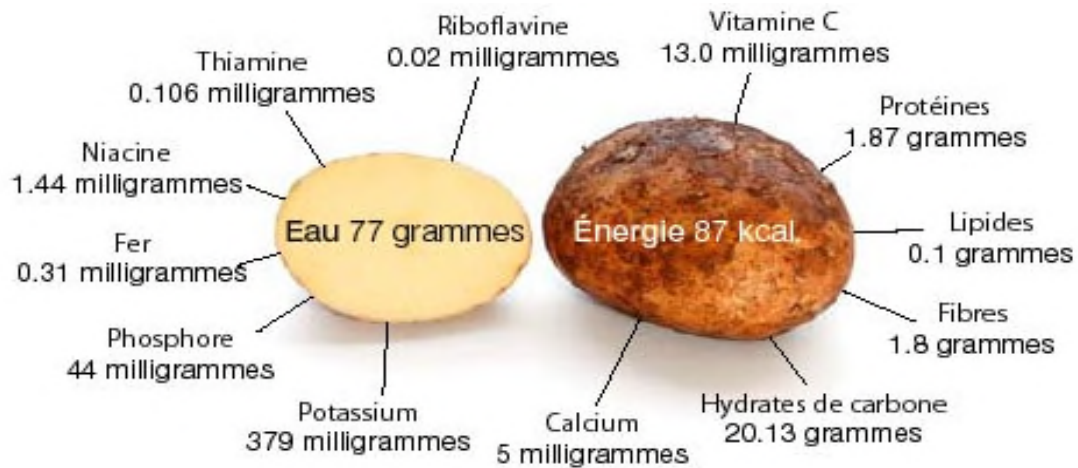


Figure 2 : Valeur nutritionnelle de la pomme de terre (100 g de pommes de terre cuites avec peau et épluchées avant consommation) (Oswaldo, 2010).

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 ; (maïzena, glucose)
- la production de plants.

6- Production et importance économique de la pomme de terre

La pomme de terre représente la quatrième plus grande culture vivrière du monde juste après le maïs, le riz et le blé, avec une production dépassant les 376 millions de tonnes, réparties sur une superficie de 19 millions d'hectares de terres cultivées (FAOSTAT, 2018).

6-1. Echelle mondiale

Les pommes de terre sont cultivées dans plus de 150 pays, principalement dans l'hémisphère nord. C'est la plus importante dicotylédone alimentaire. Les cinq premiers producteurs, dans l'ordre Chine (64,8 Mt), Russie (36,8 Mt), Inde (28,6 Mt), États-Unis (20,4 Mt), Ukraine (19,1 Mt), représentant la moitié de la production mondiale (FAOSTAT, 2018).

6-2. Échelle nationale

La filière pomme de terre a un poids économique considérable au niveau national. L'Algérie occupe la deuxième place en Afrique après l'Égypte, avec une production annuelle de 4 400 000 tonnes. Les plantations de pommes de terre occupent une surface de 140 000 ha, soit 27% de la superficie totale consacrée aux cultures maraichères. Cette production a connu une augmentation considérable au cours des dernières années (**FAOSTAT, 2018**).

Chapitre II : Maladies et ravageurs de la pomme de terre.

La culture de pomme de terre est la cible de nombreuses maladies microbiennes et virales, de ravageurs, ainsi que de problèmes de nature abiotique, que ce soit au champ ou en cours de transport et conservation. Ces maladies augmentent le coût de revient, diminuent le rendement et la qualité des tubercules et induisent des pertes économiques considérables, ainsi qu'une pollution de l'environnement par l'utilisation excessive des produits chimiques (**Degefu et al., 2006**).

Les principales maladies biotiques de la pomme de terre, leurs symptômes ainsi que les agents responsables sont résumées en annexes. Parmi les maladies de la pomme de terre, un intérêt est donné bactérioses, en particulier aux maladies de pourriture molle et jambe noire qui ont un impact considérable sur cette culture.

1- Pourriture molle et jambe noire

La pourriture molle sur tubercule et jambe noire sur plante est une maladie bactérienne qui affecte les pommes de terre au champ, ainsi que les tubercules en cours de stockage. Elle est présente dans toutes les régions de culture de la pomme de terre, aussi bien en zones tempérées que dans les régions chaudes. Les agents causaux de la maladie appartiennent aux genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp.

1-1 Description des agents responsables

Les espèces appartenant aux genres *Pectobacterium/Dickeya* sp, famille des *Enterobacteriaceae* (anciennement appelés *Erwiniae* pectinolytiques), sont des bactéries phytopathogènes pectinolytiques, responsables de pourritures molles, nécroses et flétrissements sur de nombreuses cultures maraichères. Ces espèces sont caractérisés par la production de grandes quantités d'enzymes pectinolytiques qui en synergie avec d'autres enzymes provoquent la dégradation des tissus végétaux (**Hauben et Swings, 2005 ; Charkowski, 2012**).

1-1-1 Taxonomie et Nomenclature

a)-Evolution de la taxonomie : Le rang taxonomique des espèces des genre *Pectobacterium* et *Dickeya* spp a longtemps fait l'objet de controverses et de remaniements dues à l'hétérogénéité et diversité des souches d'un même taxon.

- Le nom *Erwinia* fut proposé pour la première fois par **Winslow et al. (1917)** en honneur du phytopathologiste Erwin F. Smith, ce genre permit de regrouper les entérobactéries pathogènes, saprophytes et épiphytes des plantes (**Pérombelon et Kelman, 1980 ; Toth et Birch, 2005**) ;
- **Waldee en 1945** proposa de classer *Erwinia* pectinolytiques (espèces *carotovora* et *chrysanthemi*) dans le nouveau genre *Pectobacterium* pour les séparer des autres *Erwinia*, agents de nécroses sèches et flétrissements ;
- **En 1969, Dye** a proposé de maintenir le genre *Erwinia* qu'il subdivisa en quatre groupes : *Amylovora*, *Carotovora* qui regroupe les espèces pectinolytiques, *Herbicola* et un dernier groupe constitué d'espèces atypiques ;
- D'autres auteurs (**Kwon et al., 1997 ; Hauben et al., 1998**) s'appuyant sur le séquençage des ARNr 16S de ont proposé de déplacer les *Erwinia* pectinolytiques vers le genre *Pectobacterium*.
- Ces phytopathogènes ont été par la suite subdivisées en deux groupes différents : *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* et *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, puis respectivement *Pectobacterium atroscopicum* et *Pectobacterium carotovorum* (**Garden et al., 2003**). Tandis qu'*Erwinia chrysanthemi* est devenu un nouveau genre (*Dickeya* spp) (**Samson et al., 2005**).
- Les espèces *Dickeya* spp associées à la pomme de terre sont *D. dadantii*, *D. zea*, *D. dianthicola* (**Samson et al., 2005**), ainsi qu'une dernière espèce nommée *solani* (**Parkinson et al., 2009 ; Cahill et al., 2010 ; Toth et al., 2011**). Par ailleurs, une nouvelle sous-espèces (*Pectobacterium carotovorum* ssp. *brasiliensis*) associée aux symptômes de jambe noire sur pomme de terre a été découverte au Brésil (**Duarte et al., 2004**), puis en Afrique du Sud (**Van der Merwe et al., 2010**).

b)-Taxonomie actuelle : Actuellement, l'ensemble de ces bactéries est subdivisé 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**).

Le genre *pectobacterium* comprend :

1. ***Pectobacterium carotovorum*** : se développe à des températures avec un optimum de 27 à 30°C. Ces espèces peuvent infecter une large gamme de différents végétaux ;
2. ***Pectobacterium atroscopicum*** : peut croître à des températures entre 15 à 25°C ;
3. ***Pectobacterium wasabiae*** : pathogène du rhizome du wasabi et des racines de raifort ;

4. *Pectobacterium betavascularum* : agent responsable de nécrose vasculaire des racines de la betterave à sucre, se développe à 36 °C.

Le genre *Dickeya* (anciennement *Erwinia chrysanthemi*, puis *Pectobacterium chrysanthemi*) est constitué de diverses espèces pouvant croître à des températures comprises entre 27 et 40°C, et dont les principales sont : *D. dadantii*, *D. solani*, *D. zae* et *D. dianthicola*.

1-1-2 Caractéristiques culturelles et biochimiques

Les espèces des genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp, sont des bactéries à Gram négatif, non sporulées, en bâtonnet droit, de 0,5 à 1,0 par 1,0 à 3,0 µm de diamètre. Les cellules sont mobiles par des flagelles péritriches (1 à 6 flagelles). Elles peuvent être isolées, par paires ou en courtes chaînes. Elles sont caractérisées par un métabolisme fermentatif de type respiratoire, aéro-anaérobie-facultatif, oxydase négative, catalase et nitrate réductase positive. La température optimale de croissance de ces espèces est de 27 à 32°C, leur température maximale varie de 32 à 42°C. Elles possèdent une forte activité pectinolytique due à la production de pectinases (Murashi *et al.*, 1965 ; Lelliott et Dickey, 1984 ; Yahiaoui-Zaidi *et al.*, 2003 ; Lautier, 2007).

1-2 Maladie de jambe noire

La maladie de la jambe noire (aussi appelée pourriture aérienne) touche les plantes de pommes de terre en végétation, elle se développe généralement en conditions aérobies et est principalement provoquée par l'espèce *P. atrosepticum*, mais sous certaines conditions elle est aussi due à *P. carotovorum* et *Dickeya* sp Cette maladie est souvent favorisée par des sols humides et des températures relativement fraîches (< 19°C) (Van der Merwe *et al.*, 2009).

a)- Symptomatologie : En conditions humides, la maladie se manifeste sous forme d'une nécrose noire à la base des tiges ((et parfois des racines) qui prennent alors une couleur noire, la pourriture se propage du tubercule mère jusqu'à la tige. Dans les conditions sèches, les symptômes ont tendance à conduire à un retard de croissance, jaunissement et dessèchement des tiges et feuilles (Humphris *et al.*, 2015). Le flétrissement du feuillage est dû à l'obstruction de la circulation de la sève brute dans le xylème, ce dernier étant colonisé par les bactéries (De Werra *et al.*, 2015). Les tissus se ramollissent et la mauvaise alimentation en eau de la plante peut entraîner un flétrissement du feuillage, ainsi qu'un jaunissement et un enroulement des feuilles qui rend très nets les symptômes sur les plantes fortement touchées.

b)-Epidémiologie : Les voies de transmission du pathogène se font via les débris, tubercules, outils et aussi par les semences. Les insectes et les nématodes peuvent servir de vecteur entre les plantes malades et saines,

La contamination des tubercules de semence, ainsi que la survie du pathogène dans le sol est favorisée par des conditions humides et fraîches, tandis que les symptômes sur tige sont favorisés par des conditions humides et chaudes (**D'Hondt-Defrancq, 1984**).

1-3 Maladie de la pourriture molle

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

b)- Epidémiologie : La chronologie des étapes de la pourriture molle est particulièrement importante.

D'abord, la bactérie est présente au stade latent dans les aires d'infection privilégiées comme les blessures et les lenticelles, la multiplication active débute mais sans macération cellulaire. Quand un seuil critique est atteint (généralement estimé à 10^7 - 10^8 cellules/g de tissus pourris), la bactérie produit alors de grandes quantités d'enzymes extracellulaires qui dégradent les cellules, les organes et les tissus végétaux (**Pérombelon, 2002 ; Smadja et al., 2004**).

Les parties pourries et saines de la chair sont au début bien délimitées, et les attaques lenticulaires sur tubercule se manifestent par l'apparition de petites taches diffuses, d'aspect huileux autour des lenticelles. Ces nécroses sont de couleur marron avec un point noir foncé au centre. Les bactéries se répandent ensuite dans le tubercule en passant par les tissus vasculaires. Puis, les tissus sous-épidermiques se dépriment, deviennent spongieux, brunissent et se crevassent provoquant ainsi une pourriture molle. Le cycle de la maladie est illustré dans la figure 3 (**Yahiaoui-Zaidi, 2004**).

En conservation, les tubercules infestés subissent une rupture, libérant ainsi une charge bactérienne exsudée aux tubercules adjacents. Le développement de biofilms d'eau produit les

conditions d'anaérobiose idéales pour la propagation de la maladie qui se développe parfois comme une infection secondaire, en suivant les envahisseurs primaires comme le mildiou, lequel occasionne des blessures et détruit les tissus de l'hôte (Spencer, 2003).

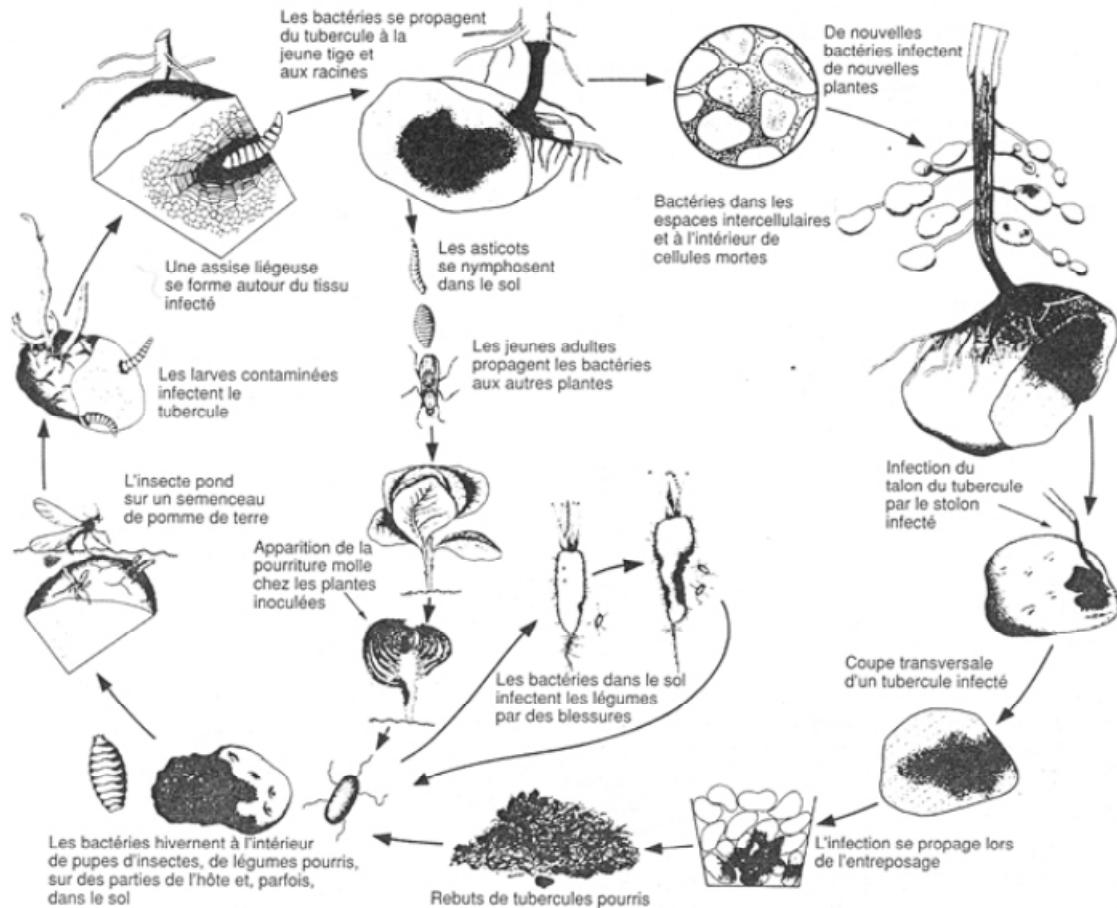


Figure 3 : Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne (Yaganza, 2005).

2- Autres bactériose de la pomme de terre

2-1 La pourriture brune

La pourriture brune (flétrissement bactérienne) de la pomme de terre est une maladie causée par *Ralstonia solanaceum*. Cette bactérie, qui est un organisme de quarantaine se rencontre dans les régions chaudes à tempérées, avec un optimum de température qui varie entre 25 et 30 °C.

La bactérie pénètre par les racines et se propage par le système vasculaire ; elle est disséminée par l'eau d'irrigation (eau de surface) ou par le plant (Kupferschmied *et al.*, 2017).

2-1-1)- Symptomatologie

a)- En végétation : Les symptômes en végétation ne sont pas toujours très apparents. On peut parfois noter des flétrissements rapides du feuillage, encore vert, plus ou moins rapides selon la température et l'humidité (Lebas, 2010).

b)- Sur tubercule : L'expression de la maladie sur les tubercules se caractérise par la présence d'un brunissement rougeâtre des tissus vasculaires, visible après avoir coupé les tubercules. Une pourriture beige puis brune (ce qui explique la dénomination de la maladie) se développe ensuite au niveau de cet anneau vasculaire (Lebas, 2010).

2-2 Pourriture annulaire

Cette maladie, extrêmement infectieuse cause de sérieux dommages sur les cultures de pommes de terre très sérieux et elle est. L'espèce *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* est l'agent responsable du flétrissement bactérien en végétation et de la pourriture annulaire sur les tubercules. Cette bactérie peut survivre facilement sur les déchets de plantes, sur les outils agricoles (récolte et conditionnement) et dans tous les types de locaux (Langerfeld, 1990).

Symptomologie

a)- Description des symptômes en végétation : Les symptômes en végétation ne sont pas toujours très apparents. Toutefois, on peut noter, sur quelques plantes, un flétrissement du feuillage qui se produit assez tardivement, avec des jaunissements, des enroulements et des nécroses du feuillage.

b)- Description des symptômes sur tubercule : L'expression de la maladie sur les tubercules se caractérise par la présence d'un brunissement de l'anneau vasculaire à partir du talon qui va évoluer en pourriture molle (non humide). Une pression du tubercule provoque le suintement d'un exsudat blanc jaunâtre bactérien provenant des tissus vasculaires (Langerfeld, 1990).

Les tubercules-mères infectés sont la principale source d'inoculum. Après leur plantation, *Cms* migre dans les vaisseaux des tiges, des stolons et infecte les tubercules-fils. La bactérie est détectée environ 3 semaines après la plantation. (De Boer et McCann, 1989).

Matériel et Méthodes

Notre travail expérimental a été réalisé au cours de la période allant du début Mars jusqu'au début Juin 2019 au niveau du Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA) sis au niveau du Bloc de Recherche, à côté de l'entrée Sud de l'université de Béjaia.

I-Matériel

Le matériel utilisé est composé du matériel végétal et d'un matériel bactérien.

1- Matériel végétal

Pour les besoins de notre étude, une campagne d'échantillonnage et de prélèvements a été initiée pour la période allant du 04 Mars au 25 Avril 2019, soit une durée d'une cinquantaine de jours au cours de laquelle des tubercules de pomme de terre symptomatiques ou présentant des blessures, ainsi que des résidus de tubercules sont régulièrement collectés et acheminés au laboratoire. Tous les prélèvements ont été effectués au niveau du marché hebdomadaire dit Edimco à proximité de l'université, (commune de Béjaia), à raison de deux jours par semaine (Lundi et Jeudi).

Echantillonnage

Les tubercules de pommes de terre prélevés présentent des symptômes typiques de pourritures molles, avec des zones nécrosées, les parties infectées sont de couleur crème à brun foncé, avec une consistance granuleuse et un aspect spongieux. La sélection des tubercules contaminés est basée sur la présence des symptômes spécifiques : forme spongieuse, couleur crème à brune, ainsi qu'odeur très caractéristique (Fig 3).

Les tubercules échantillonnés sont pour la plupart d'aspect contaminé ou ayant subi des dommages mécaniques (blessures, dégradations...), cependant nous avons aussi explorés quelques tubercules ayant une apparence externe saine et intacte, mais pouvant potentiellement héberger une contamination latente. La plupart des tubercules appartiennent généralement à la variété Spunta qui est la plus couramment commercialisée, cependant l'état de décomposition avancé de certains tubercules empêche leur identification de visu.

Au total, un ensemble de 200 tubercules ont été prélevés et analysés durant cette étude, avec plusieurs séries de lots de tubercules infectés récoltés chaque semaine. Chaque tubercule est étiqueté, puis mis séparément dans un petit sachet en plastique, dans le but d'éviter des transferts de germes à l'intérieur du lot qui pourraient biaiser les résultats. Une fois collectés et en fonction

de leur nombre, les échantillons sont soit directement utilisés ou bien conservés à 4°C durant quelques jours avant usage.



Figure 4: photographie des Tubercules infectés récoltés

2- Matériel bactérien

Dans le but d'accompagner l'identification et pour les besoins de l'étude, cinq souches bactériennes de référence sont utilisées :

- *Pectobacterium carotovorum ssp. atrosepticum* (Pca 53.84), provenant de la collection française de bactéries phytopathogènes (CFBP/ INRA Anger- UMR pathologie végétale, France) isolée en Algérie en 1997 ;
- *Pectobacterium carotovorum ssp carotovorum* (Pcc 86.21) ;
- *Pectobacterium carotovorum ssp .atrosepticum* (Pca 88.22) provenant de la collection française de bactéries phytopathogènes (CFBP-INRA Rennes, France) ;
- *Dickeya solani* (CFBP 8199), isolée au Pays-Bas en 2007 (**Van der Wolf et al., 2007 et 2014**) ;
- *Dickeya dadantii* (Dd 39.37).

II- Méthodes

II-1) Prélèvement et isolement

L'isolement des souches bactériennes à partir des tubercules infectés est effectué selon les méthodes modifiées et ajustés de **Hyman et al (1998)** et **Lacroix et Vésina (2003)**, le protocole est décrit comme suit :

- 1) Conservation des tubercules au froid, ils sont laissés à température ambiante pendant 1h environs ;
- 2) Lavage des tubercules sous un courant d'eau continue afin d'éliminer l'excès de sol, tout en évitant de déchirer la peau du végétal ;
- 3) Séchages des tubercules soit à l'air libre ou bien sous hotte à flux laminaire, si nécessaire utilisé du papier absorbant pour accélérer le séchage ;
- 4) Découpage longitudinal des tubercules en deux parties identiques, à partir de ce stade les manipulations doivent se faire en conditions stériles devant la flamme du bec bunsen ;
- 5) Prélèvement des petites quantités de tissus aux limites des parties pourries et des parties saines en moyen d'une lame aseptisée à l'alcool puis flambée ;
- 6) Broyage des tissus à l'aide d'une tige en verre, suivi d'une mise en suspension dans des tubes d'eau physiologique stérile (0,85%) pendant 40 à 60 minutes ;
- 7) Réalisation des dilutions à 1/10, notamment pour les tubercules présentant un stade de macération très avancé ;
- 8) Agitation des suspensions bactériennes au vortex pendant une dizaine de secondes ;
- 9) Ensemencement par épuisement (stries par la méthode de cadrans) sur milieux de culture en boites de pétri, King A, LB (Luria Bertali) et GN (Gélose Nutritive) ;
- 10) Après incubation à 28°C pendant 24h, sélection de colonies pures caractéristiques et réensemencement par repiquage ;
- 11) Conservation des colonies sélectionnées sur gélose inclinée en tubes à essai milieux King A et LB.

II-2) Identification

II-2-1) Observation culturale

Les souches isolées et conservées sont revivifiées sur boîte de Pétri contenant le milieu GNO après incubation, la première étape consiste en une sélection initiale de colonies typiques de *Pectobacterium* sp ainsi que des autres phytopathogènes bactériens en tenant compte des caractères suivants :

- Taille et le diamètre des colonies ;
- Forme et allure des contours ;
- Aspect de la surface (opacité, consistance) ;
- Couleur et présence de pigmentations ;
- Odeur caractéristique des colonies ;
- Aspect du trouble bactérien dans le bouillon.

L'observation macroscopique des colonies bactériennes se fait d'abord à l'œil nu, puis en utilisant une loupe binoculaire. En se basant sur l'ensemble de ces critères, trois types de colonies peuvent être distingués :

Sur gélose

- **Colonies S** (Smooth ou lisses), de 1.5 à 3mm de diamètre, régulièrement arrondies, limitées par un bord régulier, légèrement bombées de surface lisse, translucides, ayant souvent des reflets bleutés.
- **Colonies R** (Rough ou Rugueuses), de 1.5 à 3mm de diamètre limitées par un bord irrégulier finement dentelé, assez plates, de surface rugueuse, translucides et grisâtres.
- **Colonies M** (muqueuses), plus volumineuses, arrondies, limitées par un bord régulier, très bombées, de surface lisse, brillante, opaques : elles réalisent l'aspect en « coulée de miel ».

II-2-2) Examen microscopique

a)- Principe : La coloration de Gram est une coloration différentielle basée sur la structure de la paroi bactérienne qui est différente selon qu'il s'agisse de bactéries à Gram positif ou à Gram négatif, ainsi que la forme et mode de regroupement des cellules.

b)- Technique :

- Réalisation de frottis à partir de culture fraîches, suivi de séchage et fixation à la chaleur ;
- Différentes étapes de coloration et rinçage ;
- Observation sous microscope optique avec l'ajout d'une goutte d'huile à émersion au grossissement 100 ;

c)- Lecture : Bactéries à Gram positif : violet.- Bactéries à Gram négatif : rose.

II-2-3) Test de pathogénicité et d'infection sur demi-tubercules

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

2-Mode opératoire

a)-Préparation de l'inoculum standard : Une préculture bactérienne est d'abord préparée sur bouillon à partir d'une colonie bactérienne individualisée, après 24h d'incubation à 27°C, une série de dilutions est réalisée dans 9ml d'eau distillée stérile. La standardisation de l'inoculum est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 600 nm (visible) pour une densité optique de 0,1 (DO = 0,1), correspondant à une population bactérienne de 10^8 cellules/ml.

B)-Inoculation des demi-tubercules : Les étapes d'infection sont résumées dans le schéma suivant :

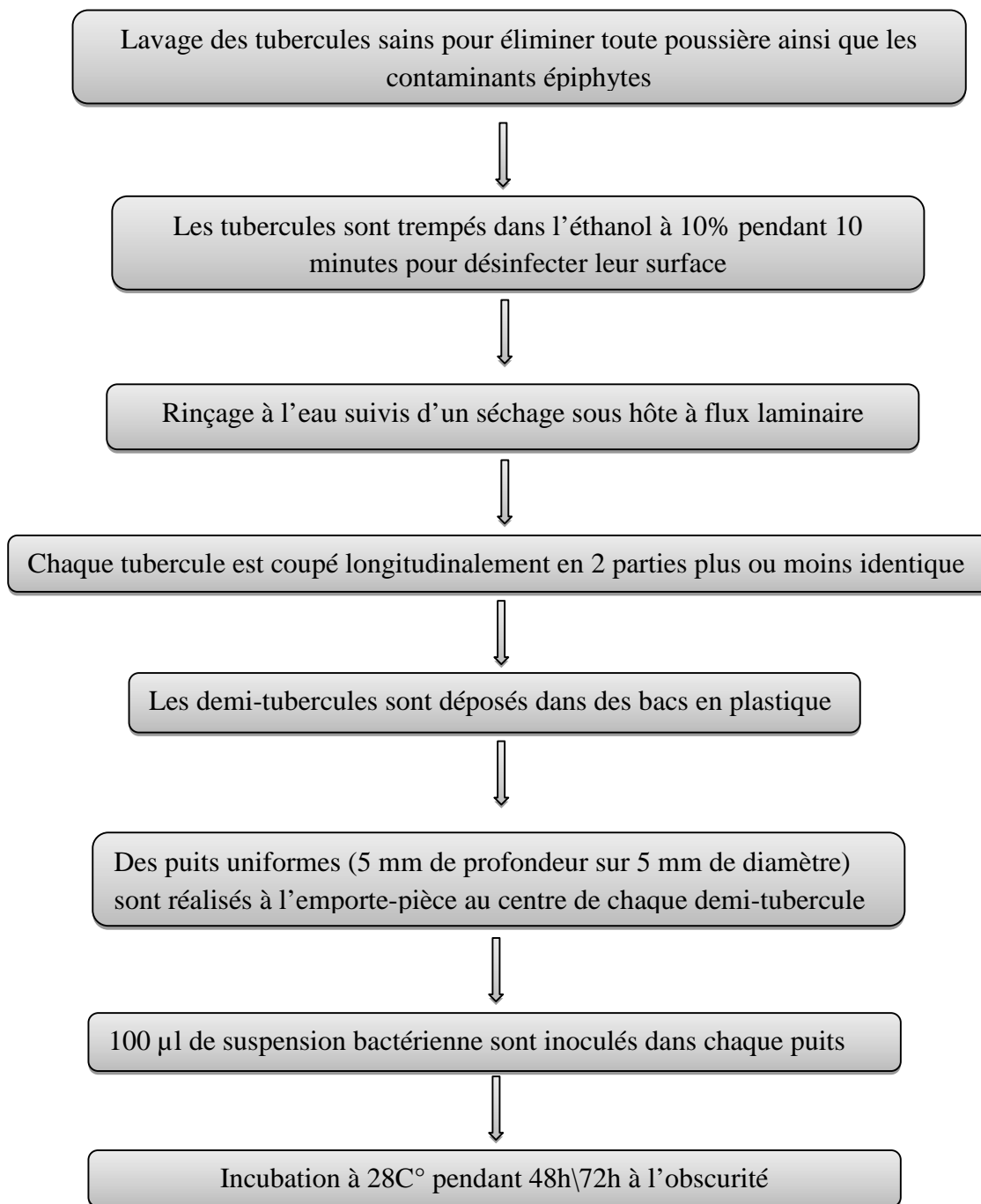


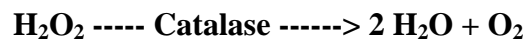
Figure 4 : Protocole d'inoculation sur tubercules de pomme de terre (Ibrahim *et al.*, 1978 ; Priou *et al.*, 1992)

II-2-4) Tests biochimiques

La composition de tous les milieux de culture, ainsi que le matériel et consommable utilisés sont donnés en annexes

a)-Recherche de la catalase :

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) :



Le test consiste à mettre un amas de colonies bactériennes en contact de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ à 30 volumes). Une réaction positive se traduit par la formation instantanée de bulles et d'effervescence, ce qui indique la dégradation, via l'enzyme catalase, du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène gazeux (**Mezaache, 1997**).

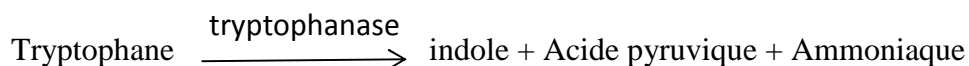
b)- Réduction des nitrates en nitrites :

Il s'agit de la mise en évidence de la capacité des isolats à réduire les nitrates (NO₃) en nitrites (NO₂), en conditions d'aéro-anaérobiose (**Smid et al., 1993**).

Une colonie bactérienne est prélevée puis ensemencée sur milieu Eau peptonée nitraté (EPN) en tubes à essai. Après 24h d'incubation à 27 °C, la lecture est réalisée en ajoutant quelques gouttes de réactifs de révélation A (acide sulfanilique) et B (α-naphtylamine). Une réponse positive est caractérisée par l'apparition d'une coloration rouge dans le milieu attestant la présence de nitrate-réductase. En absence de coloration, de la poudre de Zinc est additionnée et si le milieu reste toujours incolore alors, la bactérie est considérée nitrate positive.

c)- Production d'indole

1- Principe : Le test indole sert à déterminer si la bactérie produit de l'indole à partir de tryptophane, les bactéries qui synthétisent l'enzyme tryptophanase sont capables de métaboliser le tryptophane pour donner l'acide pyruvique et l'ammoniaque ainsi que l'indole.



La présence d'indole peut être détectée par addition de réactif de Kovacs qui se traduit par la formation du complexe rouge lumineux dessus à la surface de milieu.

2- Lecture : La révélation se fait par l'ajout de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs au milieu de culture. Après agitation douce, une réaction positive se traduit par l'apparition d'un anneau rouge en surface (**Lacroix et al., 1994**), ce là indique que le tryptophane est hydrolysé par le tryptophanase.

Résultats et discussion

1- Isolement de bactéries à partir des tissus macérés

Suite aux purifications par des repiquages multiples, une moyenne de 2 à 3 isolats distincts sont isolés à partir de chaque tubercule sur l'ensemble des 200 échantillons de pomme de terre prélevés.

Les colonies de forme et d'aspects différents sont repiquées et conservées provisoirement que ce soit sur bouillon, milieux sur boîtes de pétri ou sur gélose inclinée. Chaque bactérie isolée est suspendue sur eau physiologique pour être ensuite inoculée sur demi-tubercule.

Tout d'abord, les colonies bactériennes présentant des caractéristiques supposément proches de celles de *Pectobacterium* et *Dickeya* sp sont triées.

Les résultats de l'observation culturelle sur loupe binoculaire ont permis de définir le type suivant de colonies :

- ✓ Couleur blanchâtre avec une consistance crémeuse ;
- ✓ Surface lisse avec bords réguliers ;
- ✓ Forme sont bombées à semi-bombée ;
- ✓ Aspect irisé et translucide ;
- ✓ Donnent des suspensions homogènes ;
- ✓ Diamètre des colonies situé entre 2 et 8 mm ;
- ✓ Certaines d'entre elles dégagent une odeur de pourri typique ;
- ✓ Quelques colonies ont produits des pigments bleus indigoidines.

Selon **Lacroix et al (1994)** et **Lacroix et Vézina (2003)**, les caractères cultureux des colonies produites par les genres *Pectobacterium* sp et *Dickeya* sp correspondent aux points énumérés ci-dessus. De ce fait, ces isolats, au nombre de 20, sont susceptibles d'appartenir aux dits genres.

Ceci dit, l'observation macroscopique manque de fiabilité car les colonies d'autres genres phytopathogènes et pectinolytiques (*Pseudomonas*, *Bacillus* et *Flavobacterium*) possèdent des caractéristiques similaires à celles des *Pectobacteria*.

Les figures suivantes montrent l'aspect externe des colonies isolées sur milieu King B.

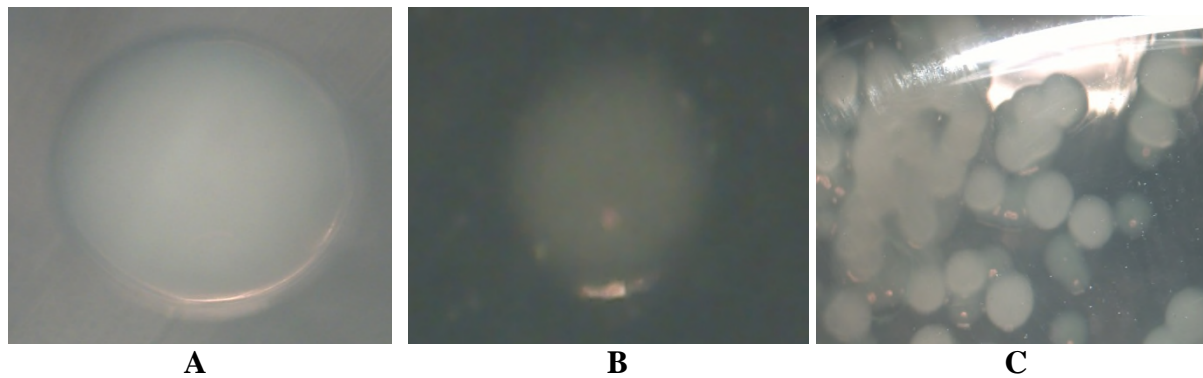


Figure 6 : aspect caractéristique des colonies appartenant aux ex *Erwinia* pectinolytiques observé sur loupe binoculaire (A et B : Gr * 2,4 ; C : Gr* 0,8)

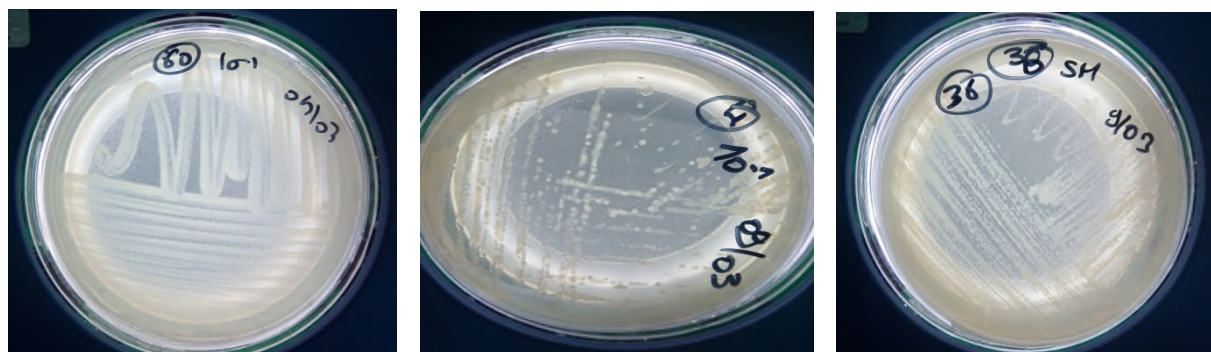


Figure 7: Photographie de l'aspect externe sur milieu King B des isolats sélectionnés

Les colonies sélectionnées sont repiquées sur milieu King B en boîtes de Pétri, puis conservées sur le même milieu en tubes à essai, ainsi que sur milieu LPA en tubes, en vue de leur identification.

En plus des isolats retenus, on s'est aussi intéressé à d'autres types de colonies qui peuvent aussi être des pathogènes de la pomme de terre autre que *Pectobacterium* et *Dickeya*. Ainsi 2 isolats ont donné une croissance très spécifique sur les milieux de culture. Ces bactéries ont la particularité d'avoir au début une culture blanche crémeuse comme celle des *Pectobacterium*, mais au bout de quelques heures de croissance, leur couleur vire petit à petit vers le rouge clair ou rose, ainsi le lendemain les colonies qui étaient crémeuses deviennent complètement rouges.

A notre connaissance, ce type de colonies est caractéristique d'une seule et unique bactérie, en l'occurrence *Ralstonia solanacearum*, cette dernière est responsable de flétrissement sur plante et de pourritures brunes sur tubercules de pomme de terre. *R. solanacearum* est caractérisée

par ses colonies muqueuses et par la formation de pigments rouge pâle à rose diffus au centre des colonies.

La détection des souches de *R. solanacearum* se fait, entre autres, sur des milieux de culture à base de sels de tetrazolium (chlorure de tetrazolium), ces sels permettent d'apprécier quantitativement l'activité oxydo-réductrice de composés azotés secrétés par cette bactérie, ce qui permet de détecter cette dernière via la pigmentation rouge-rose (Cellier, 2010).

L'aspect cultural typique de ces isolats est présenté ci-dessous.

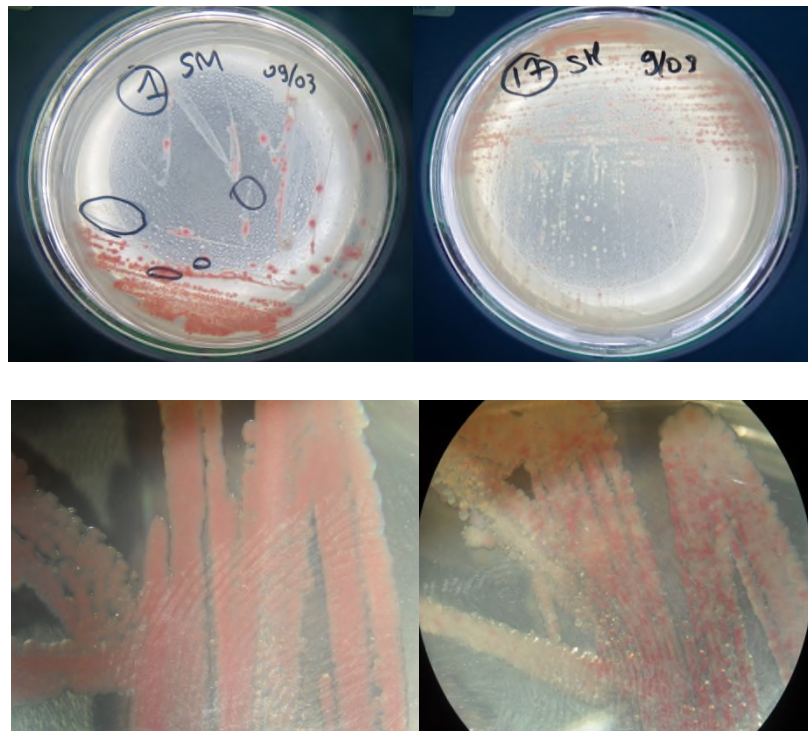


Figure 8 : aspect typique des colonies supposées de *R. solanacearum* observées (Haut : à l'œil nu, Bas : à la loupe binoculaire)

La figure 8 montre clairement le début de diffusion de la pigmentation rose sur les centres des colonies muqueuses, ce qui aboutira par la suite à un envahissement de l'amas de colonies. D'ailleurs, Siri et al (2011) a mis en évidence la diversité génétique et la virulence élevée des souches de cette espèce sur les plantes et tubercules de pomme de terre

Cependant, cet aspect ne doit pas être confondu avec d'autres isolats qui ont directement donné des colonies rouge sang, ces dernières pourraient en effet appartenir à un autre groupe bactérien : le genre *Serratia* dont les espèces produisent un pigment caractéristique appelé la prodigiosine (Barnard et al., 2007). (Fig8).

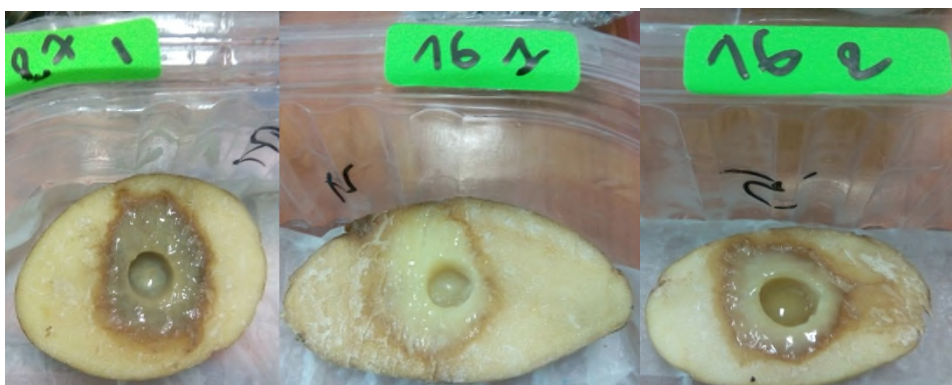
2)- Résultats du test d'inoculation sur demi-tubercules

Dans le but de mettre en évidence et d'évaluer l'agressivité et la virulence des souches pectinolytiques isolées, ainsi que celles de référence, des essais d'inoculation sont réalisés sur tubercules de deux variétés, dans le but d'induire et de recréer les symptômes de macération pour ce qui est des souches de référence, ainsi que de mettre en évidence la présence d'activité pectinolytique ou pas pour les isolats sélectionnés.

Après 48 à 72h d'incubation, on constate un net effet pathogène de certaines souches. 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.

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 tubercules inoculés par les souches de *Pectobacterium* et *Dickeya* sp sont distinguables par l'apparence de la pourriture occasionnée.

Alors que 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 I).



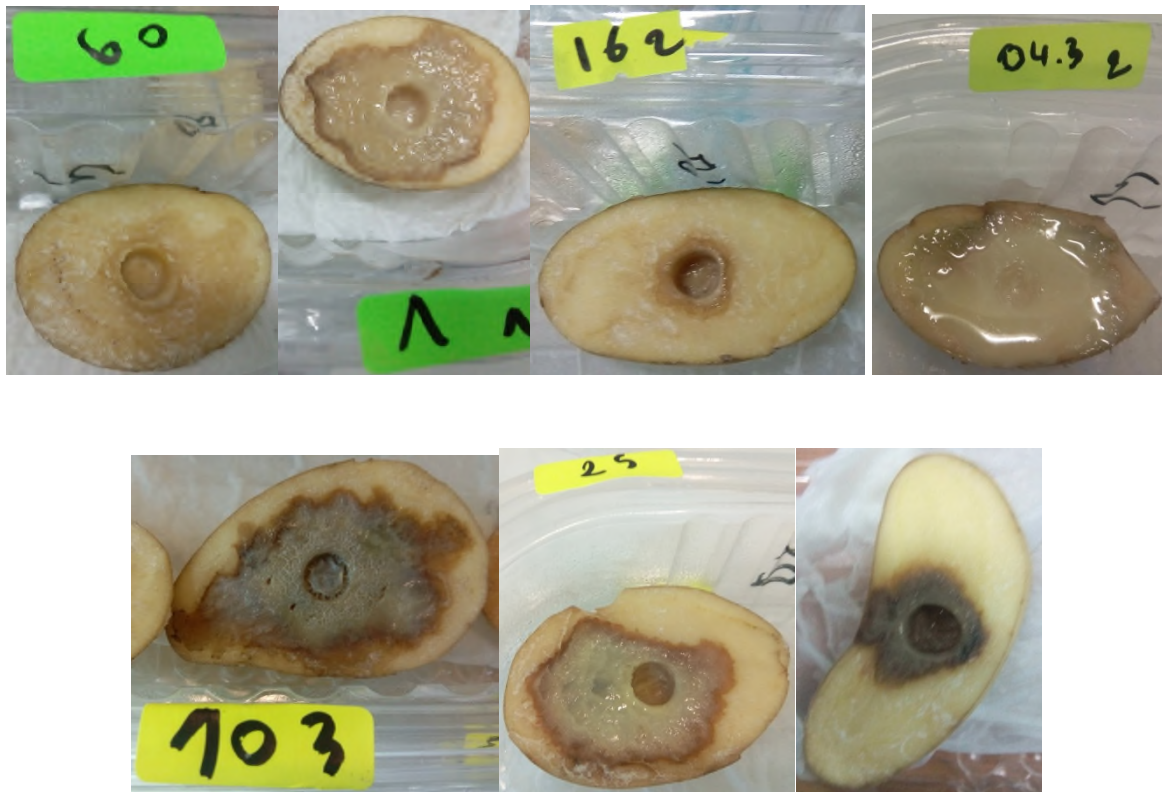





Figure 9 : Les différents types de symptômes obtenus après inoculation des demi-tubercules

La figure ci-dessus nous renseigne sur la relative diversité quant à l’aspect des symptômes engendrés sur tubercules, les différences entre les couleurs, aspects et étendus des nécroses indiquent l’apparence des isolats bactériens à divers espèces et genres. De même, malgré le fait que les tubercules inoculés aient été incubés dans les mêmes conditions, on note la présence de pourritures humides chez quelques échantillons et de zones nécrosées sèches chez d’autres.

Tableau 2 : Aspects typiques des macérations engendrés sur demi-tubercules

Echantillon	Souche	Figure	Caractéristiques
	<i>Ds</i>		<ul style="list-style-type: none"> -Couleur marron claire avec une zone nécrosée plus réduite. - odeur caractéristique.

Tubercule de pomme de terre	<i>Pcc</i>		
	<i>Pca</i>		-Pourriture humide entourée d'un halo noir ayant une démarcation avec les tissus sains. - odeur caractéristique.

Les données du test d'infection, on permis de sélectionner 20 souches sur l'ensemble des isolats testés à partir de 200 tubercules analysés, à savoir un rendement de 10%. Ce faible taux peut s'expliquer par le fait que les demis tubercules utilisés soit résistant ou les bactéries testées ne soit pas fortement pathogène

En outre, selon l'intensité des symptômes et leur étendue, les isolats pectinolytiques ont été classés comme suit :

- **Symptômes très intenses avec des zones de nécroses étendues : 6 souches** « (1) 1, 27 (1), 16 (1), 16 (2), 25 et 103 ».
- **Symptômes à intensité moyenne : 6 souches** « 17 (2) ; 60, 49 (2), 135, 155 et 162 »
- **Symptômes à faible intensité, nécroses très réduites : 8 souches** « (3) 2, 61 (1), 59, 13, 34, 10 et 20 et 7 ».

En fonction de la nature et des caractéristiques des symptômes observées sur les demi-tubercules inoculés, on peut classer les 20 souches pectinolytiques en 4 groupes :

Pectobacterium carotovorum : 8 souches

Pectobacterium atrosepticum : 4 souches

Dickeya sp : 6 souches

Ralstonia solanacearum : 2 souches

D'une manière générale, et en vue des résultats obtenus, on constate que c'est les souches apparentées à *P. carotovorum* qui prédominent avec les taux d'infection les plus

élevés. Suivi de près par *atrosepticum*, tandis que les souches de *Dickeya* sont les moins isolées.

La 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. Or, nos prélèvements ont été réalisés durant la période Mars-Avril, dans des conditions climatiques relativement fraîches, ce qui explique la prédominance des souches de *Pectonacterium atrosepticum* qui poussent à un large intervalle de températures, suivi de souches d’*atrosepticum*.

Plusieurs études précédentes ont confirmé les résultats obtenus à l’instar de dans ce **Woltrers et Collins (1994)** et Marquez-Villavicencio (2011) qui ont démontré que les souches carotovorum sont les plus répandues et agressives par rapport à *atrosepticum*. De même, les travaux de 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 *Pa*.

3- Résultats des tests biochimiques

Les 20 souches sélectionnées durant le test d’infection sur la base de leur activité pectinolytique et de leur pathogénicité ont fait l’objet d’une série de 3 tests de routines dans le but d’avoir de meilleures données sur leurs caractéristiques biochimiques et microbiologiques. L’ensemble des résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Résultats des tests de coloration de Gram, Catalase et production d’indole

Souches \ Tests	Gram	Catalase	Nitrate réductase	Indole
162	-	+++	+	-
20	-	+++	+	-
155	-	+	+	-

04	-	-	+	-
162	-	+++	+	-
16 (2)	-	+	+	-
10	-	+	+	-
25	-	+	+	-
14	-	-	+	-
7	-	+	+	-
01(1)	-	+	+	-
27(2)	-	+	+	-
135	-	+	+	-
27(1)	-	+	+	-
03(2)	-	-	+	-
60	-	+	+	-
103	-	+	+	-
<i>Pa</i> (souche témoins)	-	+	+	-
<i>Ds</i> (souche témoins)	-	+	+	-

On constate que la totalité des isolats sont Gram négatif et ont montré une absence d'indole sur milieu Urée-Tryptophane, résultats qui est d'ailleurs logique puisque les souches de *Pectobacterium atrosepticum* et sont connues pour être non productrices d'indole (absence d'enzyme tryptophanase).

Tandis que pour les souches du genre *Dickeya*, le caractère de production d'indole est variable et est d'ailleurs utilisé comme critères de distinction pour discriminer entre les espèces, sous-espèces et biovars de ce genre (**Lelliot et Dickey, 1984 ; Cother et Blakeney, 1987**).

En ce qui concerne l'activité catalytique, la majorité des isolats testés ont affiché une catalase positive avec dégagement gazeux et effervescence, ce qui est tout à fait normal puisque ce caractère (production d'enzyme catalase ou peroxydase) est souvent présent chez la quasi-totalité des bactéries utilisant la respiration aérobie. On note cependant, que 3 souches ne possèdent pas de catalase, ce qui peut indiquer que ce sont des anaérobies stricts ou microaérophiles.

Pour finir, la recherche de la nitrate-réductase a donné un résultat positif chez la totalité des souches sélectionnées. En effet, la réduction des nitrates en nitrites puis en diazote est une réaction très présente chez une grande partie des bactéries, étant donné que les dénitrifiants englobent beaucoup d'espèces bactériennes.

Conclusion

L'objectif de cette étude consiste à mettre en évidence la présence des bactéries pectinolytiques appartenant aux genres *Pectobacterium* et *Dickeya* sp responsables de pourriture molle à partir de tubercules de pommes de terre symptomatiques, prélevés au niveau de la commune de Béjaia

Les isolement réalisés sur un lot total de 200 tubercules prélevés, ainsi que les essais d'inoculation effectués sur demi-tubercules ont permis de caractériser un total de 20 souches bactériennes qui se sont avérés pathogènes et dotées d'activité pectinolytique.

Sur la base des types de symptômes engendrés sur demi-tubercules, on a été en mesure d'identifier 12 souches appartenant potentiellement au genre *Pectobacterium* (8 apparentées à l'espèce *P. carotovorum*, et 6 affiliées à l'espèce *P. atrosepticum*). Le genre *Dickeya* sp est représenté par 6 souches. Par ailleurs, 02 isolats ce sont avérés appartenir à l'espèce *Ralstonia solanacearum*, qui est aussi agent de pourriture molle sur les tubercules de pommes de terre.

Au terme de cette étude, nous sommes en mesure d'attester de l'intensité et du degré d'infection de ces pathogènes pectinolytiques sur tubercules. Ces résultats confirment la présence et la diversité des bactéries pectinolytiques.

Cependant, l'identification biochimique réalisée est très limitée et présente et reste partielle et subjective, Pour une meilleure identification des souches, il est recommandé de compléter par d'autres tests biochimiques, ainsi que par une identification sérologique.

En guise de perspectives, nous souhaiterions que les données récoltées durant cette étude, ainsi que les conclusions tirées constitueraient une base d'étude pour de futurs travaux afin de mieux explorer les différents aspects liés aux maladies de jambe noire et de pourriture molle.

Nous recommandons aussi pour les études ultérieures un élargissement de la gamme d'échantillonnage à d'autres cultures alimentaires très répandues en Algérie (tomates, oignons...). Enfin, il serait aussi souhaitable aussi de porter un intérêt à l'évolution de la maladie en végétation (jambe noire).

Liste des références bibliographique

Bakhoum et Iphigénie Maria Ndeye Sira (2004). Contrôle de qualité et validation de différentes micro-méthodes d'identification bactérienne-THM-44339.

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

Boumlik. (1995). Systématique des spermaphytes, Ed office des publications universitaire, Ben Aknoun de Alger, 80 p

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.

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.

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.

Barnard, A.M.L., Bowden, S.D., Burr, T., Coulthurst, S.J., Monson, R.E., and Salmond, G.P.C. (2007). Quorum sensing, virulence and secondary metabolite production in plant softrotting bacteria. *Philosophical Transactions of the Royal Society B. Biological Sciences* .362 ,1165-1183

Bernhards U., (1998). La pomme de terre *Solanum tuberosum* L. Monographie.Institut biotechnologies de la multiplication végétative. *Cahiers Agricultures* 1998; 7:447-58.biotechnology and forestry Pp: 40-50.

Boufares Khaled (2012). Comportement de trois variétés de pommes de terre (Spunta, Désirée et Chubaek) entre deux milieux de culture substrat et hydroponique. *Memoire de Magister en Agronomie option: amelioration de la production vegetale et biodiversite.* Université de Tlemcen, 108 p.

Bustan, A., Sagia, M., De Malach, Y. and Pasternak, D. (2004): Effects of saline irrigation water and heat waves on potato production in an arid environment. *Field Crops Research* 90: 275-285.

Cahill, G., Fraser, K., Kowalewska, M., Kenyon, D., Saddler, G., (2010). Recent findings from the Dickeya survey and monitoring programme, The Dundee Conference. *Crop Protection in Northern Britain 2010*, Dundee, UK, 23-24 February 2010. The Association for Crop Protection in Northern Britain, pp. 171-176.

Cellier Gilles (2010). Description des écotypes du phylotype II dans le complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* : diversité et evolution. Thèse de Doctorat, soutenu le 13 décembre 2010. CIRAD Université de la Réunion, 210 p.

Charkowski A1, Blanco C, Condemine G, Expert D, Franza T, Hayes C, Hugouvieux-Cotte-Pattat N, López Solanilla E, Low D, Moleleki L, Pirhonen M, Pitman A, Perna N, Reverchon S, Rodríguez Palenzuela P, San Francisco M, Toth I, Tsuyumu S, van der Waals J, van der Wolf J, Van Gijsegem F, Yang CH, Yedidia (2012). The role of secretion systems and small molecules in soft rot Enterobacteriaceae pathogenicity. *Ann. Rev. Phytopathol.* 50 :425-449.

Chaumeton H., Jutier S., Fragnaud C., (2006). La culture des pommes de terre. 93 p

D'Hondt-Defrancq, (1984).Rapport de phytopathologie 1982/1984 et synthèse des programmes d'amélioration de la tomate pour la résistance aux maladies- Dakar (Cambérène, Sénégal) : ISRA/CDH, 1984 . - 74p.

De Werra, P., Bussereau, F., Keiser, A., and Ziegler, D. (2015). First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Switzerland. *Plant Dis.* 99 : 551.

De Boer, S.H. and M. McCann. (1989). Determination of *Corynebacterium sepedonicum* population densities in potato stems during the growing season. in *Phytopathology* 79(9) . January 1989- Phyto-79-946

Degefu, Y., Jokela, S., Tokola, E-J. and Virtanen, E. (2006): DNA based detection of blackleg and soft rot disease causing *Erwinia* strains in seed potatoes. *Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote* 21: 1-6.

Duarté, X., Anderson, C. T., Grimson, M., Barabote, R. D., Strauss, R. E., Gollahon, L. S. and San Francisco, M. J. D. (2000). *Erwinia chrysanthemi* strains cause death of human gastrointestinal cells in culture and express an intimin-like protein. *Federation of European Microbiological Societies Letters* 190 : 81-86.

Dye D.W (1969). A numerical taxonomic study of the genus *Erwinia* , *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 24:2, 223-229

FAO. (2018). FaoStat Database.<http://faostat.fao.org>.

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 betavascularum* sp . nov and *Pectobacterium wasabiae* sp .nov .
International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 53, 381-391.

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.

Hawkes, J. G., (1990). The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. Belhaven Press, London, UK

Humphris, S. N., Cahill, G., Elphinstone, J. G., Kelly, R., Parkinson, N. M., Pritchard, L., Toth, I. K., and Saddler, G. S. (2015). Detection of the bacterial potato pathogens *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. using conventional and real-time PCR. Pages 1-16 in: Plant Pathology. Methods in Molecular Biology, vol. 1302. C. Lacomme, ed. Humana Press, New York

Hyman L J, Toth I K et Pérombelon M C M (1998). Isolation and identification Methods for the detection and quantification of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*) on potatoes: a laboratory manual. Pérombelon, M. C. M. and Van Der Wolf, J. M. Scottish Crop Research Institute Occasional Publication.10. 82 p.

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

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

Kupferschmied Peter (BLW), Bünter Markus et Schaere Santiago (2017). *Ralstonia solanacearum* (Smith): Une bactérie potentiellement dévastatrice pour de nombreuses espèces végétales. Agroscope. Fiche technique I No. 51 / 2017

Kwon, S. W., S. J. go, H.W. Kang, J. C. Ryu, and J. K. Jo (1997). Phylogenetic analysis of *Erwinia* species based on 16S rRNA gene sequences. Int. J. Syst. Bacteriol. 47:1061– 1067

Lacroix C et Vézina L. (2003) .Technique de laboratoire pour le diagnostic des bactéries phytopathogène. Laboratoire de diagnostic en phytoprotection pour la détection et l'identification des bactéries phytopathogènes. 50p.

Lacroix, C, Vézina, L, Desjardins, S, Beaulieu, C. (1994). Comparaison de techniques d'identification des *Erwinia* et des *Pseudomonas* responsables de la pourriture molle. *Phytoprotection* .76, 27-37

Ladjouzi R. (2007). Recherche et identification des *Pectobacterium*, agents de la pourriture molle sur différentes plantes hôtes : pomme de terre, tomates et carottes. Thèse de Magister en Microbiologie Appliquée. Université de Bejaia, Faculté de Science de la Nature et de la Vie, Algérie ,72p.

Langerfield E., (1990). Verteilung befallener Knollen in einigen mit Bakterienringfaule (*Clavibacter michiganensis* subsp *sepedonicus* Davis et al) verseuchten kartoffelprobeN. Z. Pflanzenkr. Pffanzenschutz, 97, 187-193.

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., Faure, D., Diallo, S., Cirou, A., Smadja, B., Dessaux, Y., Orange, N. (2008). Lutte contre les maladies bactériennes de la pomme de terre dues aux *Pectobacterium* spp. (*Erwinia carotovora*). Cahiers Agricultures 17: 355-360.

Lautier T. (2007). Rôle de la protéine associée au nucléoïde Fis dans le contrôle de la virulence chez la bactérie phytopathogène *Erwinia chrysanthémie*. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 200p.

Lebas Marie-Ange (2010). Gestion Agro-écologique Du Flétrissement Bactérien : évaluation du potentiel assainissant de 6 espèces végétales vis-à-vis du flétrissement bactérien de la tomate (*Ralstonia solanacearum*), en conditions semi-contrôlées (serre). Rapport de stage d'année interstitielle au sein du PRAM : Septembre-Décembre-CIRAD, Agrocampus Ouest.

Lelliot, R.A., and Dickey, R.S., (1984). Genus VII. *Erwinia* Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers & Smith 1920, 209. In : Krieg NR, Holt JG, eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.1. Baltimore, USA : Williams & Wilkins Co., 469-476.

Mezaache, S. (2014). Etude des propriétés suppressives d'une souche de *Pseudomonas* isolée de la rhizosphère de la pomme de terre sur la croissance de deux bactéries et de deux champignons phytopathogènes.Mémoire de Magister. Université de Tlemcen, Algérie, 89p.

Muraschi, T.F., Friend, M., Bolles, D., (1965). *Erwinia*-like microorganisms isolated from animal and human hosts. Applied microbiology 13, 128-131.

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

Parkinson, N., Stead, D., Bew, J., Heeney, J., Tsrer, L., Elphinstone, J., (2009). Dickeya species relatedness and clade structure determined by comparison of recA sequences. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 59, 2388-2393.

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. *atrosepticum*) 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 soft rot erwinias : an overview of pathogenesis .*Plant Pathol.* 51, 1-12.

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 soft 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.

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

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, Jule Verne. 119p

Samson, R., Legendre, J. B., Christen, R., Achouak, W., Gardan, L. (2004). Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Brenner et al. 1973) Hauben et al. 1998 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species: *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54.

Siri M. I., Sanabria A., and Pianzola, M. J. (2011). Genetic Diversity and Aggressiveness of *Ralstonia solanacearum* Strains Causing Bacterial Wilt of Potato in Uruguay. *Plant Disease* / Vol. 95 No. 10

Skerman, V.B.D., Mc Gowan V., and Sneath P.H.A. (1980). Approved lists of bacterial names. *Int J Syst Bacteriol.* 30: 225-420

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.

Smid, E., Antonius H., Jansen, J and Tuijn Cees, J (1993). Anaerobic Nitrate Respiration by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* during Potato Tuber Invasion *Applied And Environmental Microbiolog.* 59,3648-3653.

Soltner (1998). Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre et cycle végétatif, productions végétales - Soltner D. - Éditions Sciences et Techniques Agricoles - 1998.

Spencer, R. C. J. (2003). Ozone as a post-harvest treatment for potatoes. Thesis for the degree of Master of Science, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada 152p.

Spire, D. et Rousselle, P. (1996). Origine socio-historique. in: P. Rousselle, Robert, Y. et J.C. Crosnier (Eds), la pomme de terre : production, amélioration, ennemis et maladies, utilisation. Editions INRA-ITCF 607 p.

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

Van der Merwe, J.J., (2009). Etiology of Soft Rot and Blackleg on Potatoes in South Africa. University of Pretoria.

Van der Merwe, J.J., Coutinho, T.A., Korsten, L., van der Waals, J.E., (2010). *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg on potatoes in South Africa. *European Journal of Plant Pathology* 126, 175-185.

Van der Wolf J, S peksnijder A, Velvis H, Van de H aar 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 Chan ging Climate. Jokionen, Finland: MTT Agrifood Research, Agrifood Research Working Papers no.142, 30.

Van der Wolf J.M., Nijhuis E.H., Kowalewska M.J., Saddler G.S., Parkinson N., Elphinstone J.G., Pritchard L., Toth I.K., Lojkowska E., Potrykus M., Waleron M., de Vos P, Cleenwerck I., Pirhonen M., Garland L., Hélias V., Pothier J. F., Pfluger V., Duffy B., Tsrör L. and Manulis S. (2014) : *Dickeya solani* sp. nov, a pectinolytic plant-pathogenic bacterium isolated from potato (*Solanum tuberosum*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (2014), 64, 768–774

Vreugdenhil, E, Kolk, SM, Boekhoorn, K, Fitzsimons, CP, Schaaf, M, Schouten, T, Sarabdjitsingh, A, Sibug, R, Lucassen, PJ. (2007) Doublecortin- like, a microtubule- associated protein expressed in radial glia, is crucial for neuronal precursor division and radial process stability. *Eur J Neurosci* 25: 635– 648.

Ward, L. J. and De Boer, S. H. (1994). Specific detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* with a digoxigenin-labeled DNA probe. *Phytopathology* 84: 180-186.

Winslow C E A, Broadhurst J, Buchanan R E, Krumwiede JrC, 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.

Winslow, C.E.A., Broaddhurst, J., Buchanan, R.E., Krumwiede, C., Rogers, L.A., Smith, G.H. (1920). The families and genera of the bacteria. Final report of the committee of society of american bacteriologists on characterisation and classification of bacterial types. 5:191-229.

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.

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 and 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*. 12p.

I. Annexes des milieux de culture :

La plupart des milieux de cultures sont stérilisés à l'autoclave, à une température de 120°C pendant 20 minutes.

1. Milieu d'isolement :

Milieu King A (pH ; 7.2)

Composition	Par litre
Peptone	20g
K ₂ HPO ₄	1.145g
MgSO ₄	1.5g
Glycérol	15ml
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

2. Eau physiologique

Pour la préparation des solutions bactériennes.

Composition	Par litre
NaCl	8.5g
Eau distillée	1000ml

3. Milieu de conservation :

Milieux Luria Bertani ; pH 7.2

Composition	Par litre
Tryptone	10g
Extrait de levure	5g
NaCl	10g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

4. Gélose nutritive :

composition	Par litre
Peptone	5g
Extrait de levure	2g
Extrait de bœuf	1g
NaCl	5g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

5. Réactifs de la révélation de l'activité nitrate réductase :

composition	Par litre
Réactif A	
Acide sulfanilique	8g
Acide acétique	1000ml
Réactif B	
Acide α -naphtylique	5g
Acide acétique 5N	1000ml

6. Milieu indole :

Composition	Par litre
Tryptone	10g
L-tryptophane	1g
Eau distillée	1000ml

7. Réactif de Kovac :

Composition	Par litre
Paradiméthylaminobenzaldehyde	50g
Alcool isoamylique	750ml
HCl concentré	250ml

II. Annexe des matériaux du laboratoire utilisés :

Matériel du laboratoire

- ✓ Eau distillée.
- ✓ Eau stérile.
- ✓ Boîtes de Pétri.
- ✓ Lame stérile.
- ✓ Alcool.
- ✓ para filme.
- ✓ Boîtes d'infection
- ✓ Autoclave.
- ✓ Four pasteur.
- ✓ Bain marie.
- ✓ Tubes à essais.
- ✓ Papier absorbant.
- ✓ Vortex.
- ✓ Milieu KING A.
- ✓ Milieu LB.
- ✓ Eau physiologique.
- ✓ Gélose nutritive.

Résumé

La pomme de terre constitue une denrée alimentaire de base et un légume très consommé. De fait de sa productivité importante et ses conditions de culture, la pomme de terre est la cible de nombreuses maladies bactériennes. Dans le but de caractériser ces pathogènes et dans une optique de prophylaxie, une galerie de tests biochimiques et physiologiques est réalisée pour procéder à une sélection ou criblage des isolats obtenus.

Après réalisation des tests d'inoculation sur demi-tubercules, 20 souches ont montré un potentiel de pathogénicité très élevé typique de la pourriture molle. Après réalisation d'une galerie de tests biochimiques les résultats ont révélés que les espèces mises en évidence appartiennent aux bactéries pectinolytiques du genre *Pectobacterium* et *Dickeya sp* dont 12 souches appartenant au genre *Pectobacterium* (8 apparentées à l'espèce *P. carotovorum*, et 6 affiliées à l'espèce *P. atrosepticum*). Le genre *Dickeya sp* est représenté par 6 souches. Par ailleurs, 2 isolats se sont avérés appartenir à l'espèce *Ralstonia solanacearum*, qui est aussi agent de pourriture molle sur les tubercules de pomme de terre.

Mots- clés : Isolement, identification, phytopathogènes, Bactériens, pomme de terre.

Abstract

The potato is a staple food and a highly consumed vegetable due to its high productivity and growing conditions the potato is the target of many bacterial diseases. In order to characterize these pathogens and in a perspective of prophylaxis, a gallery of biochemical and physiological tests is performed to a selection or screening of the isolates obtained.

After realization of inoculation on demi-tubercules, 20 stem tests showed very high typical of soft rot pathogenicity potential. After creating a gallery of biochemical tests results have revealed that the species highlighted belong to the bacteria pectinolytic of the *Pectobacterium* and *Dickeya sp* kind including 12 strains belonging to the genus *Pectobacterium* (8 apparentees to the species *P. carotovorum*, and 6 affiliates to the *P. atrosepticum* species). The genus *Dickeya sp* is represented by 6 strains. Also 2 isolates have proved to belong to the species *previously solanacearum*, who is also officer of soft rot on tubers of potato.

Keywords: Isolation, identification, phytopatogens , bacterial, potato.