

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie de l'environnement



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Quantification des enzymes Pectate lyases et
des Phytoalexines à partir de pomme de
terre infectée par *Pectobacterium /Dickeya* .**

Présenté par :

OUAHRANI Houria & RACHEF Ouarda

Soutenu le : **14 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M^r : BELHADI.D

MAA

President

Mme : SAIDANI.K

MAA

Examineur

M^r : LADJOUZI.R

MAA

Encadreur

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciement



Nous louons Dieu pour nous avoir prêté vie, aide et patience tout au long de cette formation.

Nous remerciant par ces quelques lignes toutes personnes qui ont contribué à l'aboutissement de ce projet et qui nous ont toujours soutenus durant notre travail.

Tout d'abord nous remercions monsieur LADJOUZI Rachide encadreur de ce travail pour sa disponibilité, ses précieux conseils et sa mise à notre disposition.

Nous tenons à remercier et à exprimer tous ses qui ont aidé au sein du Laboratoire de Microbiologie Appliqué.

A monsieur BELHADI. je le remercie pour le grand honneur qu'il me fait en acceptant de présider ce jury, et aussi a M^{me} SRIDANI, d'avoir accepter d'examiner et de juger notre travail.

Sans oublier tous ceux qui ont contribués ou de loin dans ce travail

Houria et Ouarda

Merci encore et encore...



Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

À ma mère, A mon père

***...pour leurs sacrifices et leurs efforts consentis,
qu'ils Trouvent ici l'expression de ma profonde
affection.***

A mes Frères et sœurs

***...pour leurs compréhensions et leurs
encouragements,
qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère amitié.***

A les Petites:

Bouchra,Badreadinne,Hossame et Rayane

***Comme je le dédie également au terme de reconnaissance
à ma binôme Ouarda et sa famille.***

***A toute la promotion de Microbiologie
D'environnement 2014/2015.***

Houria





Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail avant toute
personne à ma mère après à cher père , à mes
sœurs adorée (fatîha , karîma , nawel) à mes
frères (mohamede, kamel , hasim , ryade) à
toute ma*

*famille à qui j'exprime tout mon amour,
mon marie (nabil) ainsi que ça famille, à
toute mais amie (asima, fayza , fahîma
, fouzya , sabah , siham, kahîna, lyza , chaba,
sabrîna, a belle bincume houria .)*

O U A R D A



Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Synthèse bibliographique

Introduction	1
I) Pomme de terre	3
II) Maladies de la pomme de terre	4
II-1) Pourriture molle et jambe noire	4
a) Pourriture molle des tubercules	4
b) Jambe noire	6
III) Pathogènes de la pomme de terre	6
III-1) Historique	6
III-2) Facteurs de virulence	7
III-2-1) Enzymes extracellulaires de dégradation des parois	7
a) Pectates-lyases	8
b) Pectines-lyases	8
c) Polygalacturonases	8
III-2-2) Enzymes non pectinolytiques	8
a) Cellulases	8
b) Protéases	8
III-3-3) Autres facteurs affectant la pathogénie	8
a) Mobilité	8
b) Chélation du fer	9
c) Lipopolysaccharides	9
d) Quorum sensing	9
IV) Mécanismes de défense végétale	10
IV-1) Barrières physiques et renforcement de la paroi cellulaire	10
IV-2) Stimulation de défense	10
IV-3) Réaction d'hypersensibilité	11
IV-4) Protéines PR	11
IV-5) Peptides antimicrobiens	12
IV-6) voies des métabolites secondaires	12
IV-6-1) Distribution des phytoalexines dans le monde végétal	13
IV-6-2) Elicitations et accumulation des phytoalexines	14
IV-6-3) Intérêts de l'étude des phytoalexines	14
Matériels et méthodes	
I) Matériel biologique	15
I-1) Souches bactériennes	15
I-2) Matériel végétal	15
II) Méthodes	16
II-1) Revivification des souches	16
II-2) Observation des caractères cultureux et morphologiques	16

Sommaire

II-3) Détermination de l'activité pectinolytique sur milieu de Sutton	16
II-4) Préparation de l'inoculum standard et dénombrement cellulaire	17
II-5) Test de pathogénicité	18
II-6) Extraction et dosage des enzymes pectate-lyases	19
a) Principe	19
b) Milieu réactionnel utilisé	19
c) Protocole de dosage	19
d) Calcul de l'activité spécifique	20
II-7) Extraction et dosage des phytoalexines	20
a) Principe	22
b) Protocole de dosage	22
II-7-1) Dosage	22
Résultats et discussion	
I) Caractérisation phénotypique	23
I-1) Observation culturelle	23
I-2) Détermination de l'activité pectinolytique sur le milieu de Sutton	23
II) Test d'infection sur pommes de terre	24
II-1) Mesure des paramètres de pathogénicité sur demi-tubercules	25
a) Facteurs poids et volume d'eau des tissus macérés	25
b) Facteurs longueur et profondeur des tissus macérés	26
II-2) Mesure des paramètres de pathogénicité sur tubercules	27
a) Facteur poids des tissus macérés	28
b) Paramètre des longueurs des zones macérées	28
II-3) Suivi de la progression des zones pourris	29
a) Sur variété blanche	29
b) Sur variété rouge	30
II-4) Calcul des différences de poids des tubercules et demi-tubercules de pomme de terre	30
II-4-1) Différence des poids des tubercules de pommes de terre	31
a) Variété blanche	31
b) Variété rouge	32
II-4-2) Différence des poids des demi-tubercules de pomme de terre	32
a) Variété blanche	32
b) Variété rouge	33
II-5) Dosage enzymatique des pectate-lyases	35
II-6) Dosage des phytoalexines	37
Conclusion	39
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

CFBP: Collection Française de batteries

Dd : Dickeya dadantii

DO: Densité Optique

Ds: Dickeya solani

LB: Luria Bertani

LP : Levure Peptone

LPA : Levure Peptone Agar

LPS : Lipopolysaccharide

Peh : polygalacturonase

PL: pectine lyases

QS: Quorum sensing

SAR: systemic acquired resistance

SDN : Stimulateurs de défense naturelle

IAR: induced systemic resistance

PRP: Protein Pathogenesis Related

UMR: Unite Mixte de Recherché

PAL:Phényllalanine –ammonialyase

UV: ultra violet

Liste des figures

Figure N° 1 : valeur nutritionnelle pour 100 g de pomme de terre.	03
Figure N° 2 : Localisation des principales maladies fongiques et bactériennes de pomme de terre.	04
Figure N° 3 : Cycle de développement de la pourriture molle.	05
Figure N° 4 : Aspect de quelques symptômes par <i>pectobacterium</i> sp.	05
Figure N° 5: tubercules de pomme de terre de deux variétés utilisés.	15
Figure N° 6: Préparation l'inoculum standard.	17
Figure N° 7 : Inoculation des tubercules et demi-tubercule de pomme de terre.	19
Figure 8 : Protocole de dosage de l'activité pectate lyases.	21
Figure N° 9 : Aspect des colonies isolées sur milieu King B.	23
Figure N° 10 : Activité pectinolytique sur milieu Sutton.	24
Figure N° 11: Symptômes de pourriture molle sur demi-tubercules de pommes de terre.	25
Figure N° 12: Poids et volume d'eau sur demi-tubercules à peau blanche.	26
Figure N° 13: Poids et volume d'eau sur demi-tubercules à peau rouge.	26
Figure N° 14: Longueur et profondeur des tissus macérés sur demi-tubercules.	27
Figure N° 15: Symptômes de pourriture molle sur tubercules de pomme de terre blanche.	27
Figure N° 16 : Symptômes de pourriture molle sur tubercules de pomme de terre rouge.	28
Figure N° 17: Poids des nécroses sur tubercules à peau blanche et rouge.	28
Figure N° 18: Longueurs des tissus macérés sur tubercules.	29
Figure N° 19 : Longueur des tissus macérés en fonction du temps sur cultivar blanc.	30
Figure N° 20: Longueur des tissus macérés en fonction du temps sur cultivar rouge.	30
Figure N° 21 : Mesure des poids des tubercules infectés en fonction du temps sur cultivar blanc.	31

Figure N° 22 : Mesure des poids des tubercules infectés en fonction du temps sur cultivar rouge.	32
Figure N° 23 : Mesure des poids des demi-tubercules infectés en fonction du temps sur cultivar blanc.	33
Figure N° 24 : Mesure des poids des tubercules infectés en fonction du temps sur cultivar rouge.	34
Figure N° 25 : Dosage de l'activité pectate lyases.	36
Figure N° 26 : Résultats du dosage des phytoalexines sur les deux variétés blanche et rouge.	37

Introduction

Introduction

INTRODUCTION

La pomme de terre est considérée comme l'une des principales ressources alimentaires et financières à l'échelle mondiale. En effet, la production mondiale est estimée à 368 096 362 tonnes réparties entre 152 pays producteurs sur une surface totale de 20 millions d'hectares (F.A.O, 2013).

En Algérie, la situation agroalimentaire du pays nécessite une meilleure prise en charge de l'amélioration de la production, en particulier, les cultures stratégiques à large consommation, comme c'est le cas pour la pomme de terre.

A l'instar des autres végétaux, la pomme de terre est la cible de nombreux ravageurs et maladies. Parmi les pathologies les plus répandues, on distingue la jambe noire et la pourriture molle dues aux bactéries appartenant aux genres *Pectobacterium* et *Dickeya*sp (anciennement nommés *Erwinia*epectinolytiques), dont les symptômes sont caractérisés par une forte macération tissulaire. Le développement massif de ces pourritures est à l'origine de préjudices économiques importants. A ce titre, on estime qu'environ 32% des refus d'importation de pommes de terre en Algérie sont dus aux pourritures molles (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

Au cours des dernières années, on constate une recrudescence de ces maladies, que ce soit au champ avant récolte ou durant le stockage. La propagation de ces pathogènes est principalement due à la production d'un large panel d'enzymes extracellulaires de dégradation, notamment les pectinases, qui liquéfient les tissus en détruisant les parois végétales (Priou et Jouan, 1990).

Parmi ces enzymes pectinolytiques, les pectate lyases (Pels) jouent un rôle majeur dans le catabolisme de la pectine et dans l'apparition des symptômes de macération (Pissavin et al.1996). En effet, des extraits purifiés des Pels peuvent à eux seuls induire une macération cellulaire (Basham et Bateman, 1975 ; Liao,1989).

Dans ce contexte, et vu les limites des moyens de lutte classiques, on assiste de plus en plus à l'apparition d'alternatives naturelles basées sur la physiopathologie des mécanismes de défense végétale induite et utilisant l'action des molécules bioactives.

Introduction

Les objectifs de ce travail sont d'abord de caractériser le pouvoir infectieux de ces microorganismes sur tissus vivants, ainsi que le degré de sensibilité des tubercules de différentes variétés de pommes de terre vis-à-vis des souches les plus virulentes.

Par ailleurs, on s'intéressé aux réactions survenant lors du processus d'infection, en particuliers, la production de métabolites secondaires (phytoalexines) dans le but de mettre en évidence le rôle joué par les substances bioactives dans l'induction de la résistance végétale.

Synthèse
Bibliographique

Synthèse bibliographique

I) Pomme de terre

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L) est une plante vivace appartenant à la famille des Solanacées et originaire de l'Amérique du Sud. La partie consommée est le tubercule. Ce dernier est un organe de stockage qui présente une valeur nutritive élevée, c'est une source majeure de glucides complexes, riche en fibres et minéraux (Fig,1) (Kettani -Halabi, 2012).

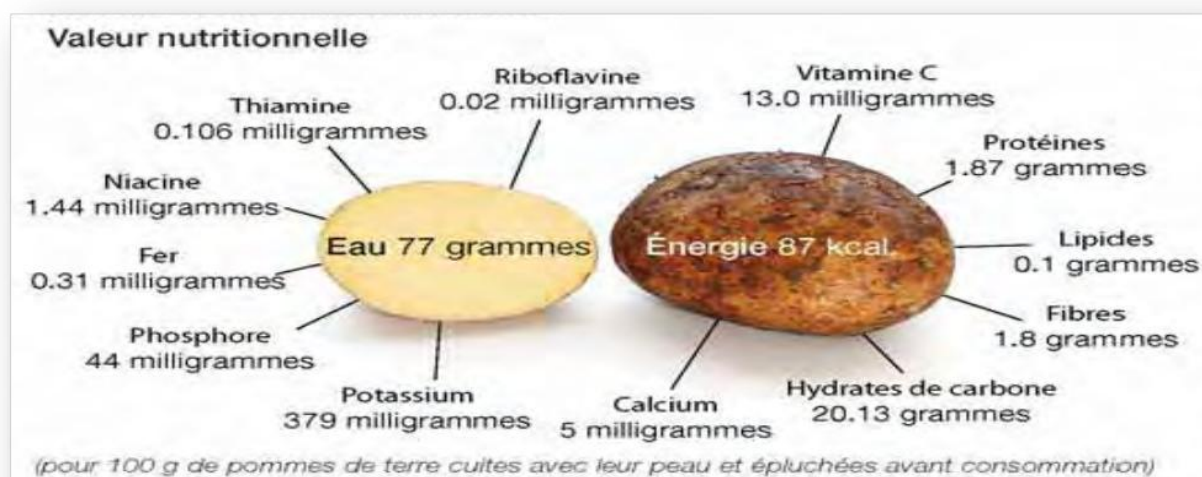


Figure N°1 : Valeur nutritionnelle pour 100 g de pomme de terre (Rousselle *et al*, 1996).

La pomme de terre est un élément essentiel à l'alimentation, elle occupe le rang de 4^{ème} production mondiale après le blé, le riz et le maïs. Cet aliment reste un produit de base pour le consommateur Algérien (60 Kg/habitant/an) (Besadat, 2014).

L'Algérie occupe la deuxième place en Afrique après l'Égypte, avec une production annuelle de 4 400 000 tonnes (F.A.O, 2013). 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 (Besadat, 2014).

II) Maladies de la pomme de terre

La pomme de terre est la cible d'un large cortège de maladies fongiques et bactériennes qui affectent à la fois la plante et les tubercules, durant la phase de végétation

Synthèse bibliographique

et/ou pendant la conservation (Fig.2). Ces maladies ont une forte incidence économique, elles sont particulièrement nuisibles au rendement et à la qualité de la pomme de terre (Schaeres et al. 2010).

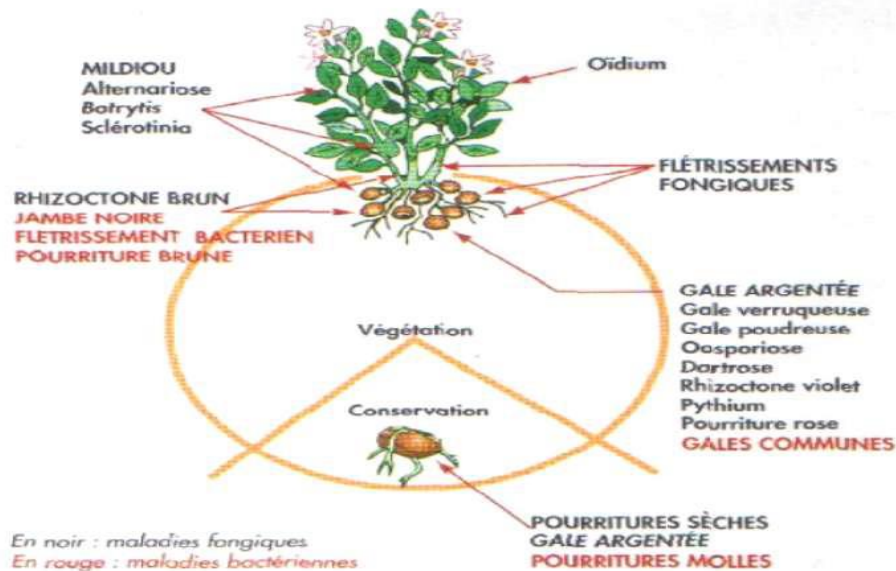


Figure N° 2 : Localisation des principales maladies fongiques et bactériennes de la pomme de terre (I.T.C.F, 1998).

Parmi les différentes pathologies, on dénombre une prédominance des maladies de jambe noire et pourriture molle dues aux espèces du genre *Pectobacterium*, ces derniers sont les agents pathogènes les plus virulents sur pommes de terre (Hélias, 2008). Ces pathologies sont caractérisées par une pourriture molle sur tubercules et un flétrissement sur tiges. Les symptômes peuvent se manifester différemment selon la variété, le temps, la période d'infection et l'agent pathogène (Pérombelon, 2002 ; Toth et al. 2003).

II-1) Pourriture molle et jambe noire

a) Pourriture molle des tubercules :

La pourriture molle est considérée comme la plus importante maladie bactérienne sur pomme de terre (De Boer, 1994). Les tubercules peuvent être infectés au champ ou durant le stockage (Corcuff et al, 2011). Les semences et les sols infectés sont les principales sources d'inoculum, la propagation de l'infection au champ est facilitée par les eaux d'irrigation et la pluie. La dissémination en entrepôt est de son côté assurée par le suintement des tubercules pourris, ainsi que par les insectes (fig.3) (Yaganza, 2005).

Synthèse bibliographique

Selon le mode de contamination, la pourriture débute au bout du stolon ou au niveau des lenticelles. Les parties atteintes montrent d'abord une décoloration légèrement brune, qui plus tard se creuse et s'accompagne d'une transformation de la chair en une pourriture molle typique (fig 4 A et B). Cette dernière devient rapidement rougeâtre à brun foncé au contact de l'air, et dégage une odeur de moisi due à l'acide butyrique (Howard et al. 1994).

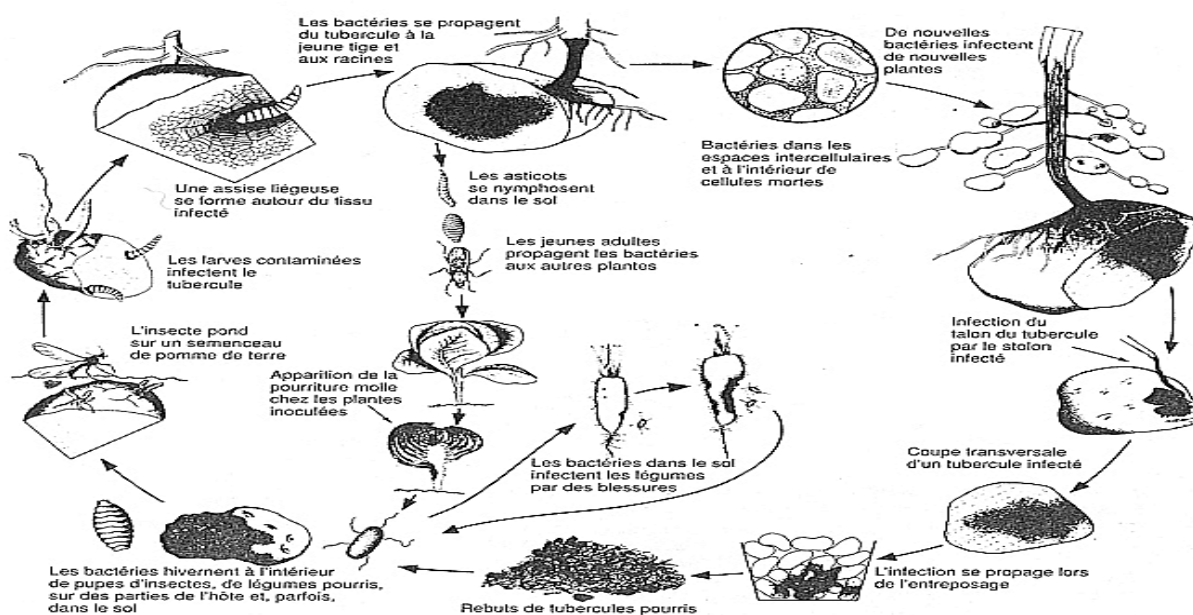


Figure N° 3 : Cycle de développement de la pourriture molle (Howard et al. 1994).

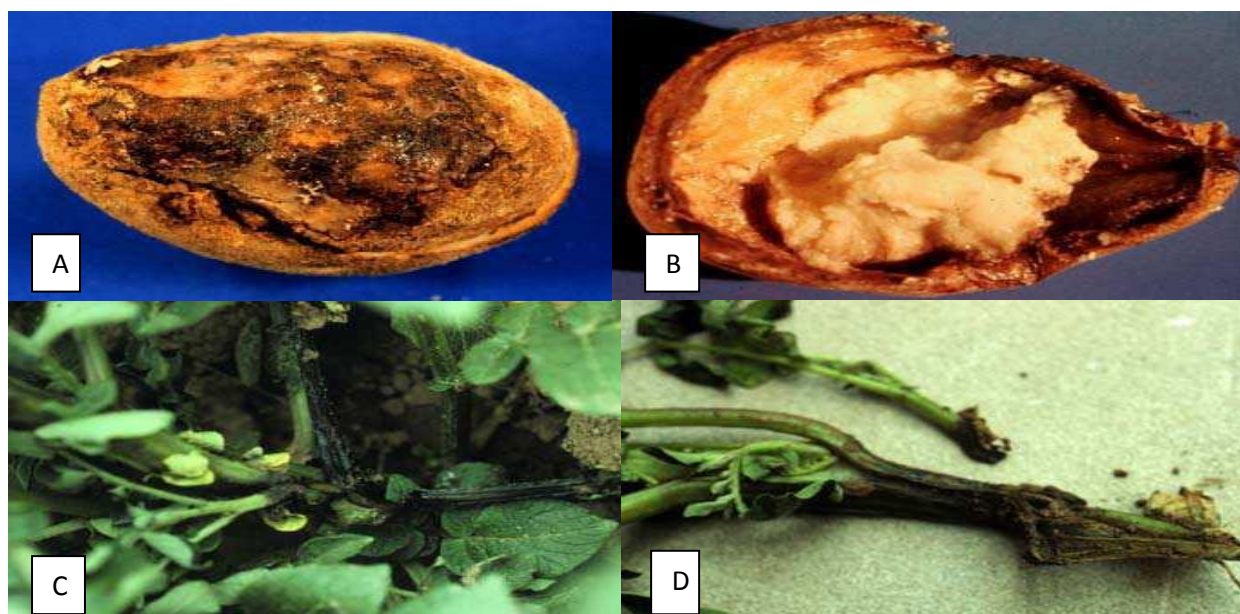


Figure N° 4 : Aspect de quelques symptômes causés par *Pectobacterium* sp (Christ et al. (1998).

A) Pourriture molle de l'extérieur de tubercule, (B) Pourriture molle de l'intérieur de tubercule,
(C et D) Jambe noire à la base des tiges.

b) Jambe noire

La jambe noire est caractérisée par des lésions noires, souvent visqueuses, se développant à la base des tiges (fig 4 C et D). Généralement la maladie débute par infection latente des tubercules-mère. Les feuilles s'enroulent, jaunissent pour finalement flétrir. La jambe noire est très répandue surtout en conditions climatiques humides. En conditions sèches et froides, l'attaque est moins violente. Cette maladie est principalement due à l'espèce *Pectobacterium atrosepticum* (ex *Erwinia carotovora atroseptica*) (Toth et al. 2003b; Czajkowski et al. 2011).

En absence de traitements bactéricides, la lutte contre cette maladie passe principalement par des mesures prophylactiques destinées à contenir sa prolifération (Schaeres et al. 2010).

III) Pathogènes de la pomme de terre

Les *Erwinia* pectinolytique sont des bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à Gram négatif, en bâtonnets droits, anaérobies facultatives, mobiles par des flagelles péritriches, oxydase négative et catalase positive (Dickey et al. 1984). Elles sont capables de réduire les nitrates, fermenter le glucose et de produire des acides à partir des hydrates de carbone (méliobiose, D-arabitol ou tréhalose). Leur température optimale de croissance est de 27°C (Perombelon et Kelman, 1980).

Les *Pectobacterium* sont caractérisés par la production de grandes quantités d'enzymes pectinolytiques qui en synergie avec d'autres enzymes provoquent la dégradation des tissus végétaux (Whitehead et al. 2001).

III-1) Historique

Ces bactéries pectinolytiques ont été isolées pour la première fois en 1901, à partir d'une pourriture humide de la carotte, sous le nom de *Bacillus carotovorus* (Skerman et al. 1980).

- En 1923, Winslow classa ces bactéries dans le genre *Erwinia* en honneur du phytopathologiste Erwin F. Smith. (Perombelon et Kelman, 1980; Toth et Birch, 2005).
- En 1945, Waldee proposa la création du genre *Pectobacterium* pour classer les *Erwinia* pectinolytiques séparément des autres *Erwinia*.
- En 1969, Dye proposa de diviser le genre *Erwinia* en quatre groupes (*Amylovora*, *Herbicola*, *Carotovora* et *Erwinia* atypiques).

Synthèse bibliographique

- En 1998, sur la base des comparaisons des séquences d'ADN et ARN 16S, Hauben proposa quatre genres : *Erwinia*, *Pectobacterium*, *Brenneria* et *Pantoea*.

III-2) Facteurs de virulence

Toute molécule présente à la surface cellulaire bactérienne ou excrétée dans le milieu extracellulaire peut agir comme déterminant de virulence, les structures de surface, (pili, flagelles, sidérophores, lipopolysaccharides et protéines membranaires), peuvent jouer un rôle dans la survie des cellules, leur adhérence et leur pénétration à l'intérieur des plantes (Pirhonen et Long, 1993).

III-2-1) Enzymes extracellulaires de dégradation des parois :

Ce sont les principaux facteurs responsables du développement des symptômes de la pourriture molle. Toutefois, d'autres facteurs affectent également l'installation et la progression de l'infection, ainsi que l'induction des mécanismes de défenses chez l'hôte (Salmond, 1992).

a) Enzymes pectinolytiques

D'une manière générale, les pectinases agissent de façon synergique et leurs effets sont additifs. Cependant, dans certains cas, la mutation d'une seule enzyme suffit à affecter significativement la capacité de macération de la bactérie (Shevchik *et al.* 1999).

b) Pectates-lyases (Pel)

Elles agissent préférentiellement sur une chaîne d'acide galacturonique mais aussi sur les pectines faiblement méthylées selon un mécanisme endo ou exo lytique. (Jurnak *et al.* 1996).

- Les endopectate-lyases (endo Pel, E.C. 4.2.2.2) attaquent au hasard à l'intérieur de la chaîne polygalacturonique. Leur substrat préférentiel est une pectine faiblement méthoxylée avec un degré de polymérisation plus élevé.

- Les exopectate-lyases (exo Pel, E.C. 4.2.2.9) ont une action récurrente à partir de l'extrémité réductrice de l'acide galacturonique en libérant des dimères insaturés (Jurnak *et al.* 1996).

b) Pectines-lyases (PL)

Les PL ont pour substrat préférentiel la pectine et agissent selon deux modes :

- Les endopectines-lyases (endo PL, E.C. 4.2.2.10) agissent par β -élimination, avec une préférence pour les pectines hautement méthylées. Leur affinité diminue avec le degré de méthylation du substrat et sont inactives sur l'acide polygalacturonique. Elles clivent la

Synthèse bibliographique

liaison soit entre deux acides polygalacturoniques méthoxylés, ou entre un résidu libre et un autre méthoxylé. (Lemberg *et al.* 2000a).

- Les exopectines-lyases agissent sur les pectines fortement estérifiées (Sutherland, 1995).

c) Polygalacturonases (pectate hydrolases ; Pehs)

Ces enzymes attaquent les liaisons α -1,4-glycosidiques générant ainsi des produits saturés. Deux polygalacturonases différentes ont été caractérisées ; l'exo et l'endo- Peh (Liu *et al.* 1994).

II-2-2) Enzymes non pectinolytiques :

a) Cellulases :

Ce sont des endohydrolysases des liaisons 1,4- β -D-glucosidiques du cellulose. Leur pH optimal est de 7, l'importance de ces enzymes dans la virulence des bactéries phytopathogènes varie selon les espèces. L'activité cellulastique chez les *Pectobacterium* reste restreinte. Cependant des mutants défectifs dans la production de cellulases montrent clairement une virulence réduite sur tabac et sur pommes de terre (Mae *et al.* 1995).

b) Protéases :

Les espèces et sous-espèces pectinolytiques sécrètent des quantités élevées de protéases qui facilitent la dégradation des parois cellulaires végétales, des membranes cytoplasmiques et des protéines cytosoliques. En outre, la libération d'acides aminés et de fractions peptidiques permet d'accroître le taux de croissance bactérienne, augmentant ainsi la capacité de colonisation du pathogène (Kyöstiö *et al.* 1991).

III-2-3) Autres facteurs de virulence

a) Mobilité

La mobilité joue un rôle non négligeable dans l'invasion et l'infection des plantes et tubercules de pomme de terre par les *Pectobacterium* (Mulholland *et al.* 1993 ; Lautier, 2007). La combinaison mobilité/chimiotactisme permet aux bactéries de détecter et rejoindre leurs niches écologiques (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

b) Chélation du fer

En tant que co-facteur dans de nombreux processus cellulaires, le fer contribue à l'adaptation des bactéries et a donc un rôle indirect sur le pouvoir pathogène (Ferguson et Deisenhofer, 2002). Pour capter le fer, les bactéries produisent des composés chimiques de faible poids moléculaire appelés sidérophores.

La production des sidérophores en cas de carence en fer, constitue un facteur majeur de virulence chez *Pectobacterium*. Une déficience en fer pour la plante provoquant une

Synthèse bibliographique

diminution de la synthèse de la chlorophylle, un arrêt du cycle de Calvin, et l'affaiblissement du système de défense végétal (Klaus, 2001; Boughammoura et *al.* 2007 ; Dellagi et *al.* 2009).

Chez *Dickeya dadantii*, des mutants non producteurs de deux sidérophores, (chrysobactine et achromobactine), présentent un pouvoir pathogène réduit. Par ailleurs, l'expression de gènes codant pour certaines pectate lyases qu'est induite lors d'une carence en fer, et réprimée en présence de fer dans le milieu (Franza et *al.* 2002 ; Franza et *al.* 2005).

c) Lipopolysaccharides

Les lipopolysaccharides (LPS) sont une macromolécule de surface majoritaire chez les bactéries à Gram négatif (Erbs et Newman, 2012). Ils pourraient fournir une protection contre les substances antimicrobiennes. Des mutants de *Pectobacterium atrosepticum* altérés dans la synthèse de LPS présentent une virulence diminuée (Toth et *al.* 1999b). Cependant, d'autres mutants LPS-défectueux de *Pectobacterium carotovorum* restent tout de même virulents (Perombelon, 2002 ; Toth et *al.* 1999b).

d) Quorum sensing

Le Quorum sensing est un mode de régulation qui couple chez les bactéries l'expression génique à la densité cellulaire. Il repose sur la synthèse et la perception de molécules signal (autoinducteurs), appartenant à la famille des N-acyl homosérine lactones (AHLs), permettant de coordonner plusieurs actions (Barnard et *al.* 2007). Des stratégies d'antivirulence ont été développées, avec pour vocation l'interruption de la signalisation quorum-sensing de *Pectobacterium* (Amy, 2009 ; Fan et *al.* 2011).

L'infection se déroule en deux phases distinctes ; une étape primo-invasive passive (pré-quorum), au cours de laquelle les bactéries se multiplient aux points d'infection (blessures, lenticelles, etc.) sans macérer les tissus de l'hôte. Ensuite, une phase lytique active (post-quorum) marquée par la production massive d'enzymes exocellulaires, et d'autres produits comme les antibiotiques qui jouent un rôle important dans la compétition avec les autres micro-organismes opportunistes pour coloniser les sites d'infection riches en nutriments (Byers et *al.*, 2002).

IV) Mécanismes de défense végétale

Les végétaux ont mis en place des réponses de défense efficaces leur permettant une meilleure adaptation à leur environnement (Zhang et Zhou, 2010). Ainsi, les plantes sont résistantes à la plupart des microorganismes potentiellement pathogènes avec lesquelles elles sont en contact. Elles disposent d'un éventail de défense, allant de barrières morphologiques constitutives à la mise en place de mécanismes cellulaires spécifiques (Tsuda et Katagiri, 2010).

IV-1) Barrières physiques et renforcement de la paroi cellulaire

Parmi les mécanismes de résistance végétale face aux agents pathogènes, les défenses constitutives sont la première ligne de défense, en particulier la cuticule et la paroi végétale. La cuticule, formée de cutine et de cires, protège la surface des parties aériennes de la plante (Chassot et Metraux, 2005).

Généralement, ces barrières physiques préformées empêchent l'entrée ou la progression de l'agent pathogène dans les tissus de la plante. Cependant, certains microorganismes parviennent parfois à dépasser ces barrières physiques, par les ouvertures naturelles (stomates, hydathodes ou blessures), ou encore *via* l'action d'enzymes hydrolytiques permettant la dégradation de la cuticule ou de la paroi cellulaire (Reina-Pinto et Yephremov, 2009).

La paroi cellulaire est une barrière physique naturelle très efficace face aux agresseurs. Lors d'une infection, cette paroi va être renforcée par des dépôts de composés phénoliques (lignines : polymère phénolique insoluble et très résistant aux enzymes de la dégradation) (Benhamou, 1996). Phénomène décrit chez diverses plantes (Lawton et Imb, 1987 ; Messner et Boll, 1993). D'autres macromolécules interviennent aussi dans le renforcement de la paroi : il s'agit des protéines riches en hydroxyproline, elles s'accumulent lors de l'infection, parallèlement à l'augmentation de la résistance (Benhamou, 1996). Ces des protéines empêchent la pénétration du pathogène, et possèdent aussi la propriété d'agglutiner les bactéries réduisant ainsi leur mobilité.

IV-2) Stimulation de défense

Différents types de molécules sont considérées comme des stimulateurs des défenses naturelles (SDN). D'une manière générale, lors d'une interaction plante-microorganisme, deux types de résistances systémiques peuvent être mis en place à savoir :

Synthèse bibliographique

La résistance systémique acquise (SAR, *systemic acquired resistance*) s'établit dans les cellules végétales saines par l'intermédiaire suite à la perception d'un signal éliciteur (Sticher et *al.* 1997). Une deuxième infection provoquait moins de dégâts (Ross, 1961). En effet, les plantes semblent donc être capables de mémoriser l'impact d'une première infection afin de se protéger face à une seconde attaque (Durrant et Dong, 2004). le niveau de protection atteint dépend de la plante et du type d'organisme utilisé (Sticher et *al.* 1997).

La résistance systémique induite (ISR, *induced systemic resistance*) confère une meilleure protection lors d'attaques ultérieures par des pathogènes (Pieterse et *al.*, 1996). L'ISR induit une modulation de l'expression de gènes de défenses au niveau des racines (Verhagen et *al.* 2004). Elle induit également une potentialisation systémique des défenses de la plante, caractérisées par une augmentation de l'expression génique et un dépôt de callose et de pectine au niveau des feuilles (Verhagen et *al.* 2004).

IV-3) Réaction d'hypersensibilité

La réaction d'hypersensibilité se traduit par l'apparition de nécroses des tissus autour du site d'infection, due à la mort des cellules infectées. Elle présente deux caractéristiques principales : apparition de lésions nécrotiques au niveau de chaque point d'infection et accumulation d'une multitude de molécules antimicrobiennes autour de la zone infectée. Les mécanismes moléculaires de cette mort hypersensible ne sont pas connus. Cependant, de nombreux travaux suggèrent que cette réaction est une mort cellulaire génétiquement programmée (Dietriche et *al.* 1994, Greenderg et *al.* 1994). Les espèces activées de l'oxygène (ROS) interviendraient dans le processus en initiant la mort cellulaire par peroxydation des lipides membranaires et en régulant des gènes de protection cellulaire (Levine et *al.*1994).

IV-4) Protéines PR (PRP)

Les protéines PR « Pathogenesis Related » représentent un ensemble de protéines dont la production et l'accumulation sont fortement induites après infection par différents pathogènes mais aussi dans d'autres situations de stress (Stintzi et *al.* 1993a ; Eckeykaltenbach et *al.* 1997 ; Fritig et *al.* 1998). Les protéines PR se divisent en 11 familles qui ont en commun des propriétés physico-chimiques particulières (stabilité à pH acide, résistance à l'action des protéases produites par la plante ou par les microorganismes). Ces deux propriétés confèrent aux protéines une grande stabilité dans les conditions défavorables. Ces protéines sont supposées interagir directement avec des composés

Synthèse bibliographique

structuraux ou des enzymes impliquées dans le pouvoir pathogènes de l'agresseur (Heitz et *al.* 1994 ; Legrand et *al.* 1987 ; Ponstein et *al.* 19940 ; Stintzi et *al.*1993b).

IV-5) Peptides antimicrobiens (thionines et défensines)

Ces peptides sont fortement synthétisés par la plantes en réponse à une agression (Epple et *al.* 1997). Les thionines forment une famille multi génique dont l'expression est spécifique du tissu, ils sont supposés agir sur le pathogène après mort des cellules végétales et libération du contenu vacuolaire. Leur mode d'action est particulier : ils modifient la perméabilité membranaire par influx de calcium et efflux de potassium et protons suivis d'un relargage du contenu cellulaire (Thvissen et *al.* 1996).

IV-6) voies des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés synthétisés par la plante pour inhiber ou bloquer la propagation des pathogènes. Différentes voies de biosynthèse de ces métabolites sont impliquées dans la mise en place des processus de défense végétale, les enzymes impliquées sont induites lors de l'interaction avec l'agent pathogène (Mccue et Conn, 1989) Keith et *al.* 19991).

L'acide cinnamique permet la synthèse de l'acide salicylique et autre métabolite comme la lignine, les phytoalaxines, les coumarinesetc (Katz et al, 1998). En effet, les phytoalaxines sont fortement induites en réponse à des agressions ou à des éliciteurs chez de nombreuses plantes, Alor l'étude de ces phytoalexines dans le monde végétalle est nécessaire (Milat et *al.* 1990).

Les phytoalexines sont des métabolites secondaires à activité antimicrobienne, de faible masse moléculaire, se déposant rapidement autour du site d'infection (Ahl-Goy et *al.* 1993). L'accumulation de phytoalexines a été largement décrite dans le cas de la résistance systémique acquise chez beaucoup d'espèces végétales. Elles sont définies comme étant des composés antifongiques et/ou antibiotiques, synthétisés lors de stress biotiques ou abiotiques (Li et Ouyang 1990).

Ces composés s'accumulent dans les tissus végétaux à l'emplacement d'infection ou de pénétration d'un agent pathogène, permettant ainsi de réduire ou de stopper sa progression en désorganisant et en tuant ses cellules. Dans certains cas, la rapidité de l'accumulation des phytoalexines est associée avec la résistance de la plante (Kuc 1995a; Hammerschmidt 1999).

Synthèse bibliographique

Après un deuxième traitement (ou stimulation) par le pathogène, les plantes résistantes produisent des phytoalexines plus rapidement (McNally *et al.* 2003b).

Selon Hildenbrand et Ninneman (1994), les classes de phytoalexines (rishitine, solavétine, phytubérine, hydroxysolavativone, hydroxyphytobérol, phytobérol, solanascone et lubinine) sont détectées dans des extraits de tissus pourris de pomme de terre. Leur production rapide et spécifique par les tissus pourrait contribuer à leur résistance aux infections bactériennes et fongiques (Yahiaoui-Zaidi, 2004).

IV-6-1) Distribution des phytoalexines dans le monde végétal

Les phytoalexines appartiennent à des familles chimiques différentes selon les plantes, par exemple, des isoflavonoïdes chez les légumineuses, des sesquiterpènes chez les Solanacées, des coumarines chez les Euphorbiacées et des diterpènes chez les Ulmacées (Dumas *et al.* 1983 ; Giesemann *et al.* 1986 ; Harborne, 1999). Généralement, les phytoalexines sont présentes sous forme libre et active mais aussi sous forme de précurseurs, conjuguées à des sucres (aglycones FIII) (Higgins *et al.* 1995 ; Daayf *et al.* 2000). Dans ce cas, l'activation consiste en une déglycosylation catalysée par une enzyme qui peut provenir soit de la plante, soit du pathogène (Higgins *et al.* 1995 ; Morandi 1996). Les différents types de phytoalexines produites sont donc fonction de l'activation de certaines enzymes appartenant à des voies métaboliques distinctes. Les études biochimiques examinant les plantes résistantes ont indiqué dans certains cas, des activités accrues pour les principales enzymes impliquées dans la production des composés phénoliques comme la phénylalanine ammonialyase, la phénol- β -glucosidase, la chalcone synthase et la chalcone isomérase (Politycka 1998 ; Cools et Ishii 2002 ; Fofana *et al.* 2002).

La phénylalanine amonialyase (PAL), une enzyme permettant la dégradation de la phénylalanine en acide cinnamique, est également induite en réponse à la présence d'agresseurs (Pelligrini *et al.* 1994 ; Smith-Becker *et al.* 1998 ; Durner *et al.* 1998 ; Katz *et al.* 1998 ; Dorey *et al.* 1999). Ainsi, certaines formes de PAL pourraient avoir des fonctions différentes dans la plante, selon les tissus et dans le temps: La PAL 2 interviendrait dans la lignification du xylème alors que la PAL 3 serait mise en place en réponse aux blessures et participerait aux réponses de défense. Le niveau d'expression d'activité pourrait réguler quantitativement l'accumulation des composés phénolique (Macheix *et al.* 2005). L'inhibition de la PAL induit une diminution importante de la

Synthèse bibliographique

synthèse de l'acide salicylique et autres composés de la voie des phénylpropanoïdes (Maher *et al.* 1994 ; Felton *et al.* 1999).

IV-6-2) Elicitations et accumulation des phytoalexines

Les phytoalexines résultent d'un métabolisme actif nécessitant une activation génique spécifique et une synthèse de novo d'ADN et de protéines (Yoshikawa *et al.* 1978b).

Elles sont, en générale, absentes chez des plantes saines (Keen, 1971 ; Darvill et Albersheim, 1984). Il s'agit de composés de stress synthétisés et s'accumulant en réponse à des pathogènes ou à de nombreux stimuli abiotiques (éthylène, froid, UV, fongicides, sels métalliques, détergents) ou à des élicitation biotiques (composantes de parois bactériennes, fongiques ou végétales, enzymes microbiennes, etc), en revanche, une blessure ne semble pas toujours suffisante pour induire cette synthèse (Kuc, 1976 ; Lisker et Kuc , 1977) .

IV-6-3) Intérêts de l'étude des phytoalexines :

L'étude de phytoalexines permet, tout d'abord, une meilleure connaissance de la relation hôte-pathogène. Leur accumulation en grandes quantités étant généralement associée à une réaction hypersensible, Les phytoalexines sont surtout utilisées afin de quantifier cette réaction. Leurs caractéristiques résultent en effet de nombreux mécanismes biochimiques conduisant à la nécrose, dont on ne peut estimer l'importance que «visuellement » (nombre de cellules touchées, rapidité de la réponse, etc). Pour une meilleure compréhension des phénomènes de reconnaissance et de spécificité parasitaire, Cette quantification trouve une application dans l'étude des éliciteurs isolés des parois microbiennes ou d'un filtrat de culture.

Ils peuvent aussi être utilisés comme modèles structuraux pour l'obtention de nouveaux fongicides. L'étude des phytoalexines permet aussi une meilleure connaissance de la physiologie et de la biochimie de la plante (Bailey, 1982a).

Grisebach et Ebel (1978) insistent sur l'apport de l'étude de la biosynthèse des phytoalexines pour une compréhension du contrôle de l'expression des gènes de cellules végétales. Par ailleurs, une action physiologique de certaines phytoalexines (ghycélline, pisatine, rishiyine et phaséolline) est décrite par Yoshikaw *et al* (1987).

Des techniques précises de dosage permettent de différencier la capacité d'accumulation des plantes sensibles de celle des plantes résistantes.

I. Matériel et méthodes

I) Matériel biologique

I-1) Souches bactériennes

Cinq souches de références sont utilisées dans cette étude :

- *Dickeyadadantii*(3937), issue de l'UMR Microorganismes, Adaptation et Pathogénie (MAP) -Université Claude Bernard, Lyon-France ;
- *Dickeyasolani* (123), provenant du Laboratoire de Protection végétale de Biotechnologie-Université de Gdansk, Pologne ;
- Les souches *Pectobacteriumatrosepticum* (53.84), *Pectobacterium atrosepticum* (86.22) et *Pectobacterium carotovorum* (88.21) issues de la Collection Française de Bactéries Phytopathogènes(CFBP)-INRA de Rennes, France.

I-2) Matériel végétal

Les échantillons utilisés sont composés de deux variétés de tubercules de pomme de terre de consommation, une variété à peau et à chair blanche, et une autre variété à peau rouge, chaire jaune. Les prélèvements sont réalisés à partir du marché hebdomadaire de Bejaia (Edimco) ainsi qu'au niveau de la willaya de Sétif, durant le moins d'avril 2015.

Les tubercules de pommes de terre sélectionnés sont de taille moyenne, plus au mois uniformes, et dépourvus de blessures (**fig,5**).



Figure N° 5 : Tubercules de pomme de terre des deux variétés utilisés.

II) Méthodes

II-1) Revivification des souches

Les souches sont d'abord enrichies par ensemencement sur du bouillon nutritif (BN) en tubes à essai. Après incubation à 27°C pendant 24 à 72 h dans un bain-marie avec agitation, elles sont ensuite repiquées à plusieurs reprises sur milieu semi sélectif King B en boîtes de Pétri. Par ailleurs, les souches sont conservées dans les milieux Luria Bertali (LB) et Levure Peptone Agar (LPA) en gélose inclinée. Ces opérations sont réalisées afin d'isoler des colonies bactériennes pures caractéristiques des genres *Pectobacterium-Dickeya* et afin d'éviter ainsi tout risque de contamination ou de perte d'activités.

La composition de tous les milieux de culture et réactifs chimiques utilisés pour la caractérisation biochimique est donnée en annexes 1.

II-2) Observation des caractères cultureux et morphologiques

L'observation des colonies bactériennes se fait à l'œil nu, en tenant compte de certains critères. En effet, sur le milieu King B les colonies de *Pectobacterium-Dickeya* sont de types S (de l'anglais Smooth - Lisse) : colonies à surface lisse et bords réguliers, bombées, de consistance blanche crémeuse et donnant des suspensions homogènes.

II-3) Détermination de l'activité pectinolytique sur milieu de Sutton

Dans le but de mettre en évidence l'activité pectinolytique des souches, ces dernières sont ensemencées par piqure centrale sur 3 ml de milieu semi-solide Sutton en tubes à essai avec de la pectine comme seule source de carbone. Le milieu est tamponné à pH 7,2, puis incubé à 27°C pendant 24 à 48 h.

La présence d'une activité pectinolytique se traduit, après 24h, par le virage de l'indicateur de couleur (Bleu de Bromothymol) du bleu-vert vers le jaune, ce qui signifie une acidification du milieu. Après 48 h, la liquéfaction du milieu indique la dégradation de la source de pectine (Hélais, 1999).

II-4) Préparation de l'inoculum standard

La technique du dénombrement consiste d'abord à préparer un inoculum standard à partir d'une colonie bactérienne inoculée dans 5 ml de bouillon Levure Peptone (LP), et incubée à 27°C pendant 24h. Une série de dilutions est réalisée par la suite dans 9 ml d'eau physiologique.

La densité optique (D.O) est mesurée par spectrophotomètre à 600 nm est de 0,1 correspondant à un inoculum de 10^8 UFC/ml.

La standardisation de l'inoculum de départ est réalisée selon le protocole modifié d'Hélias *et al.* (2005) comme suit (**Fig. 6**).

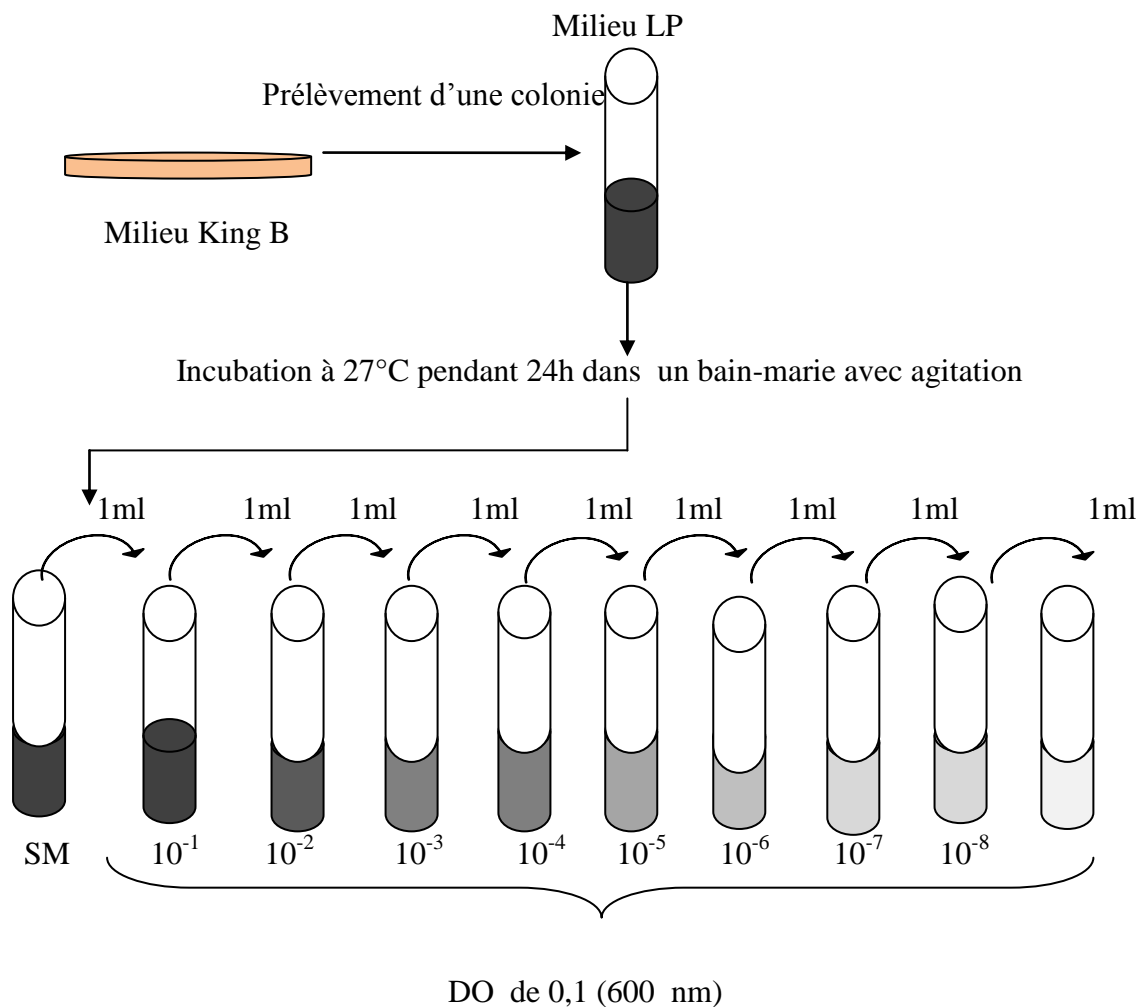


Figure N° 6: Préparation l'inoculum standard.

II-5) Test de pathogénicité

Le protocole utilisé pour réaliser les essais d'infection est inspiré de la méthode d'Ibrahim *et al.* (1978).

Les tubercules de pomme de terre sont d'abord lavés sous un courant d'eau de robinet, puis stérilisés en surface par trempage dans l'éthanol à 10% pendant 5 minutes afin de les désinfecter de toute contamination. Ensuite ils sont rincés à l'eau et laissés pour sécher à température ambiante.

Par la suite, les tubercules sont coupés longitudinalement en deux parties identiques, l'inoculation est aussi réalisée sur des tubercules complets, puis placée dans des boîtes en plastique contenant de papier absorbant humidifié avec de l'eau stérile.

Des puits de diamètres similaires (5mm /5mm de longueur) sont réalisés sur les demi-tubercules. Chaque puits est rempli par 50µl de suspension bactérienne standardisé, correspondant à une DO de 00.1 à 600 nm.

Pour les tubercules entiers, deux embouts contenant la suspension sont implantés dans la peau du tubercule et laissés sur place.

L'incubation se fait à température ambiante et à l'abri de la lumière afin de créer une atmosphère humide et confinée pour une période de 4 jours, Cinq répétitions sont réalisées pour les essais sur demi-tubercules et trois répétitions pour les tubercules entiers (fig 7).



Figure N 7 : Inoculation des tubercules et demi-tubercule de pomme de terre.

Matériel et méthodes

Le développement de la maladie est suivi visuellement, et les différences de pathogénicité entre les souches utilisées sont estimées en fonction des quantités de tissus macérés et des poids des tubercules et demi-tubercules. Par ailleurs, les échantillons infectés sont quotidiennement pesés durant l'incubation. Les différences de poids enregistrées correspondent aux volumes d'eau libérés suite à la macération tissulaire.

Les tissus symptomatiques sont prélevés dans le dut de dosage de l'activité pectate lyase, par contre les couches de tissus se trouvant au-dessous de ces derniers (entre les tissus malades et sains) sont excisées afin de procéder à l'extraction des phytoalexines.

La lecture est réalisée en mesurant cinq différents paramètres :

- ❖ Prélèvement et pesée des tissus pourris (gr);
- ❖ Mesure du volume d'eau nécessaire pour remplir les puits par une pipette graduée, correspondant à la quantité de tissus macérés (ml) ;
- ❖ Calcul de la longueur de la zone macérée (cm) ;
- ❖ Estimation de la profondeur de la dépression créée par la pourriture (cm) ;
- ❖ Prélèvement et pesée des tissus au-dessous de la pourriture (gr).

II-6) Extraction et dosage des enzymes pectate-lyases

a) Principe

La technique de dosage de l'activité pectate lyase est basée sur le principe suivant : la pectine est dégradée sous l'action des pectate lyase par β -élimination. Cette réaction libère des composés contenant une double liaison entre les carbones N° 4 et 5, cette double liaison et le groupe carboxyle C₅ entraînent une absorbance maximale à 235nm. Les dosages sont réalisés sur des cultures bactériennes ayant atteint le début de la phase stationnaire, soit sur les surnageants de culture (Moran et *al* 1969 ; Tardy et *al* 1997).

b) Milieu réactionnel utilisé

La réaction enzymatique se fait dans le milieu réactionnel suivant : Tris-HCl 0,1 M pH 8,5 ; CaCl₂ 0,1 mM ; PGA 0,5 g/L.

Soit pour 100 ml :

- 10 ml Tris HCl 1M pH 8,5 ;
- 50 μ l CaCl₂ 0,2 M ;
- 2 ml PGA à 2,5% (peser 2,5 g de PGA dans 100 ml tris HCl 0,1M pH 8,5).

Matériel et méthodes

Ajouter environ 0,8 ml de soude 1N puis ajusté à pH 7 toujours avec NaOH. Diluer le CaCl_2 dans l'eau et le Tris : ajouter le PGA à la fin.

c) Protocole de dosage

- Préparation des cultures fraîches de *Pectobactérium* et *Dickya* sur le milieu King B incubées 24 h dans un bain-marie agité à 27°C ;
- Préparation des premières précultures bactériennes sur milieu LP (5ml) et incubées 24 h dans un bain-marie agité à 27°C ;
- Les tubes de la seconde préculture sontensemencés avec 0,5 g de tissus macérés dans les suspensions de 5ml de LP et inoculés par 0,1 ml de la première préculture, suivi d'une incubation sous agitation à 30°C pendant 24h ;
- Après incubation, 0,1 ml de seconde culture sont additionnés à 0,9 ml de LP, et la densité optique est mesurée à 600 nm afin d'estimer la concentration bactérienne ;
- Pour doser les enzymes extracellulaires, il est préférable d'éliminer les cellules par centrifugation de 1 ml de seconde culture à 12000 rpm pendant 3 min ;
- Le surnageant riche en enzymes extracellulaires est récupéré, 50 μl de ce dernier sont additionnés à 950 μl de tampon PL ;
- La lecture est réalisée par balayage au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 230 nm.

d) Calcul de l'activité spécifique :

Ce calcul est basé sur la formule : $\Delta\text{DO} = \epsilon_{\text{uGAn}} l c$

Où ϵ_{uGAn} est le coefficient d'extinction molaire, l est la longueur de la cuve (1cm) et c la concentration en mole par litre.

Le coefficient d'extinction molaire pour ce dosage est $\epsilon_{\text{uGAn}} = 5200$. Sachant que 0,28 mg de poids sec bactérien (PSB) correspondent à une DO_{600} de 0,6, on déduit l'activité spécifique pectate lyase (en μmol d'oligomères insaturés formés par min et par mg de PSB) : on peut calculer l'activité spécifique,

$$\text{AS} = C_{\text{uGAn}} / m_{\text{psB}} = 0,412 \times \Delta\text{DO} / \Delta t \times \text{dilutions} \times 1/\text{DO}_{600}$$

Matériel et méthodes

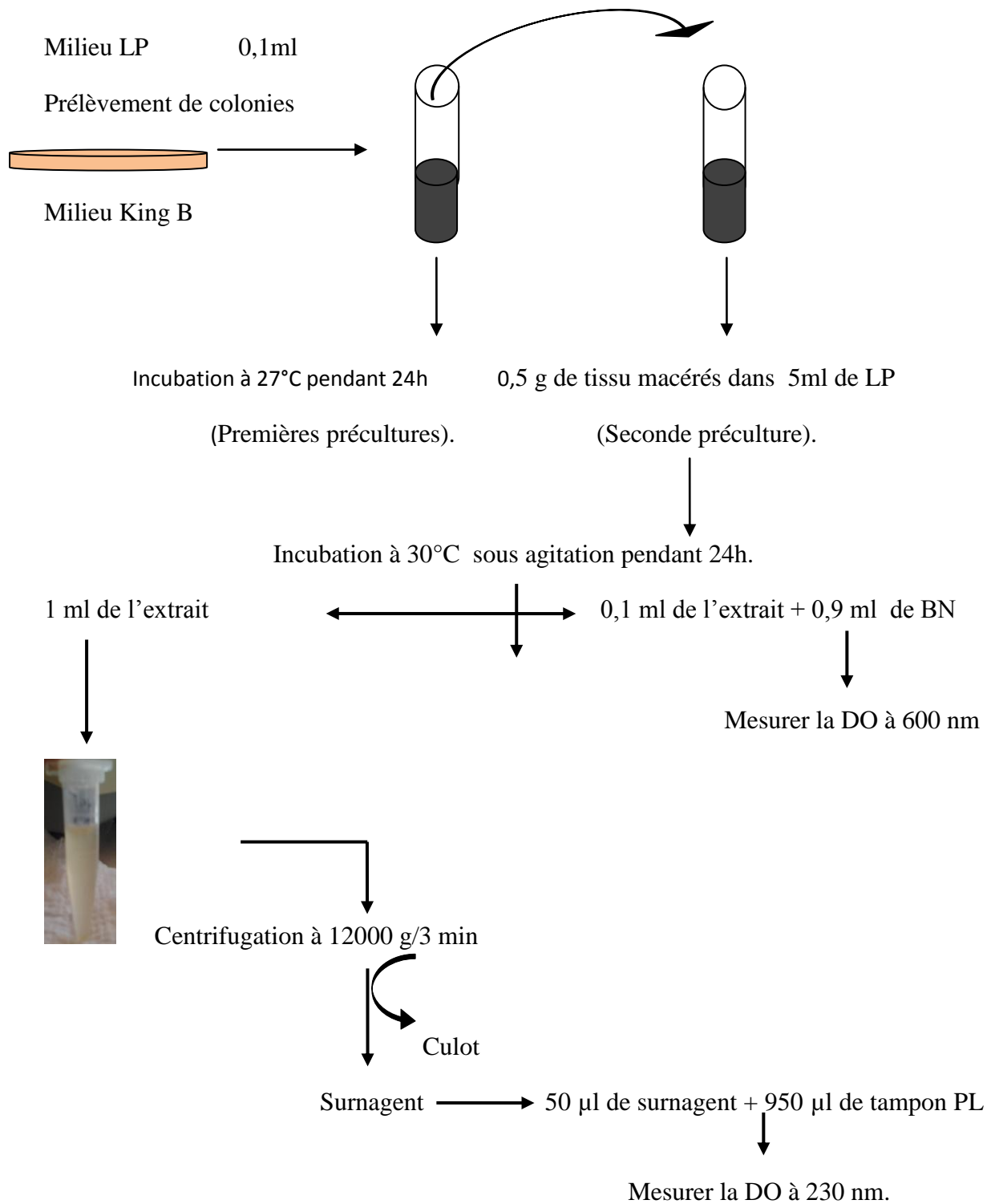


Figure N° 8 : Protocole de dosage de l'activité pectate lyase.

II-7) Extraction et dosage des phytoalexines

II-7-1) Extraction

a) Principe

L'extraction solide-liquide met en jeu des mécanismes complexes et moins bien connus. Le solvant doit franchir la barrière de l'interaction solide-liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et le soluté doit ressortir du solide (Ribereau-Gayon, 1968 ; Mompon et al. 1996). Le solvant organique utilisé dans cette expérience est un mélange binaire méthanol/chloroforme selon le protocole modifié de Henfling et Kuc. (1979).

b) Protocole de dosage

Broyage des tissus : 0,5 g des tissus prélevés sont hachés et broyés à l'aide d'un pilon en verre.

1^{er} macération : ajout de 5ml d'un mélange de solvants organiques (chloroforme/méthanol : 2/1) aux tissus macérer pendant 1 heure sous agitation, et à l'abri de la lumière.

2^{ème} macération : 25ml du même mélange de solvants sont ajoutés et laissés macérer sous agitation pendant 5 minutes.

Centrifugation : la solution préparée est répartie dans des tubes pour être ensuite centrifugée à 5000 rpm pendant 5 minutes.

Évaporation : après récupération du surnageant dans des béchers, le chloroforme est évaporé sous hôte à flux laminaire, et les résidus (riches en phytoalexines) sont resuspendus dans du méthanol. L'évaporation est réalisée pendant 1 à 4 heures selon le type de tissus.

II-7-2/ Dosage

Les extraits sont conservés à une température de 4°C, et à l'obscurité, puis ensuite quantifiés spectrophotométriquement, en mesurant leur absorbance à 270 nm (spectre UV).

II .Résultats et discussion

I) Caractérisation phénotypique

I-1) Observation culturelle

Après de multiples repiquages des souches bactériennes de *Pectobacterium/Dickeya* sp sur milieu King B, les colonies observées ont présenté les caractéristiques morphologiques suivantes :

- Couleur blanchâtre avec une consistance crémeuse ;
- Surface lisse avec bords réguliers ;
- Forme bombées à semi-bombée ;
- Aspect irisé et translucide ;
- Suspensions homogènes ;
- Colonies de même taille, avec des dimensions plus réduite pour les espèces *dickeya* ;
- Présence d'une odeur de pourri sur certaines cultures.

Ainsi, à l'issue de ces observations, on peut conclure que ces colonies correspondent au type S (Smooth ou lisses).

L'aspect externe des colonies est illustré dans la figure suivante (fig.9).



Figure N° 9 : Aspect des colonies isolées sur milieu King B

I-2) Détermination de l'activité pectinolytique sur le milieu de Sutton

La mise en évidence de la dégradation de la pectine sur milieu Sutton a donné des résultats positifs pour les cinq souches utilisées. Ce qui se traduit par un changement de couleur de bleu en jaune et une liquéfaction du milieu au bout de 48h d'incubation, indiquant ainsi la dégradation de la pectine (Fig. 10).

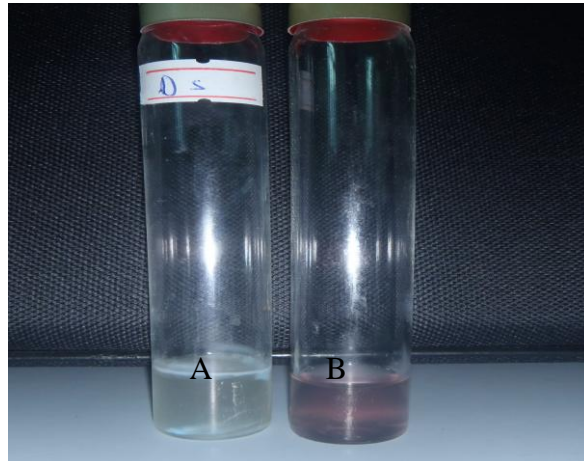


Figure N° 10 : Activité pectinolytique sur milieu Sutton.

A : réponse Positive **B :** réponse négative

II) Test d'infection sur pommes de terre

Les résultats obtenus ont montré, d'une manière générale un net effet pathogène des souches utilisées. Ce potentiel infectieux varie d'une souche à l'autre, de par la nature des symptômes observés et l'étendue des pourritures formées sur tissus et aussi par rapport à la variété de pomme de terre testée. Notons que les symptômes de pourriture observés sur les tubercules et demi-tubercules des deux variétés de pommes de terre sont typiques de chaque sous-espèce (Fig 11).

Résultats et discussion

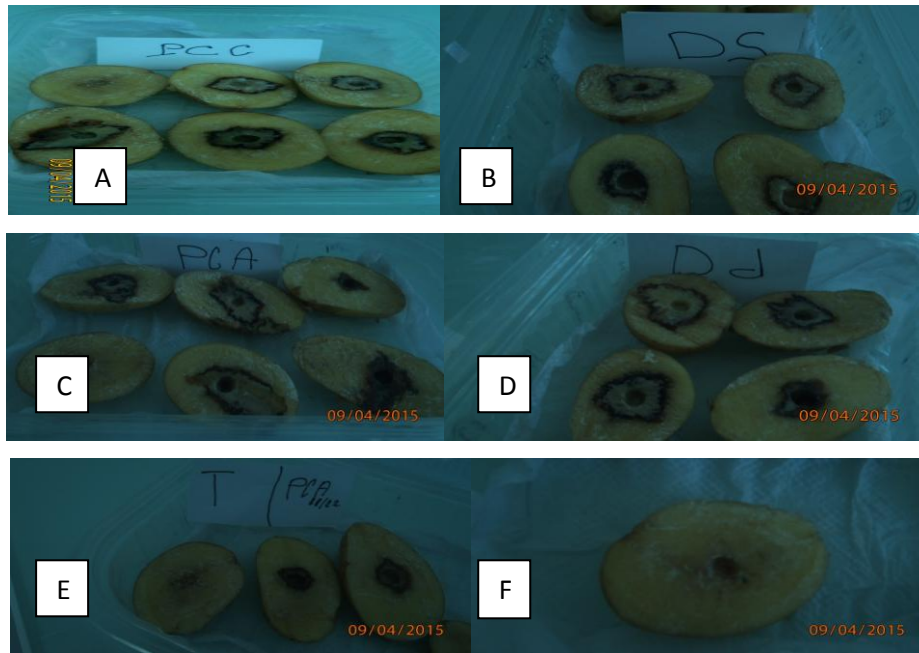


Figure N° 11 : Symptômes de pourriture molle sur demi-tubercules de pommes de terre
A: *Pcc8821*, B: *Ds123*, C: *Pca5384*, D: *Dd3937*, E: *Pca 86, 22* F: Temoin

II-1) Mesure des paramètres de pathogénicité sur demi-tubercules

a)-Facteurs poids et volume d'eau des tissus macérés

- Sur variété blanche :

Le calcul des poids des pourritures engendrées sur les variétés de pommes de terre à peau blanche après cinq jours d'incubation a permis de mettre en évidence les différences de virulence entre les souches utilisées. Ainsi, il semblerait que les souches *Pca 5384*, *Dickeya dadantii* et *D. solani* soient les plus virulentes au regard des poids de pourriture, ainsi que des volumes d'eau enregistrés (Fig 12). Notons, que dans l'ensemble, la totalité des souches ont engendré des valeurs assez élevées concernant les mesures des poids et des volumes d'eau. On peut noter pour le paramètre poids des pourritures un rapport de 2,5 entre la souche la plus virulente et celle la moins active, tandis que pour le facteur volume d'eau le rapport est plus restreint (1,5).

Résultats et discussion

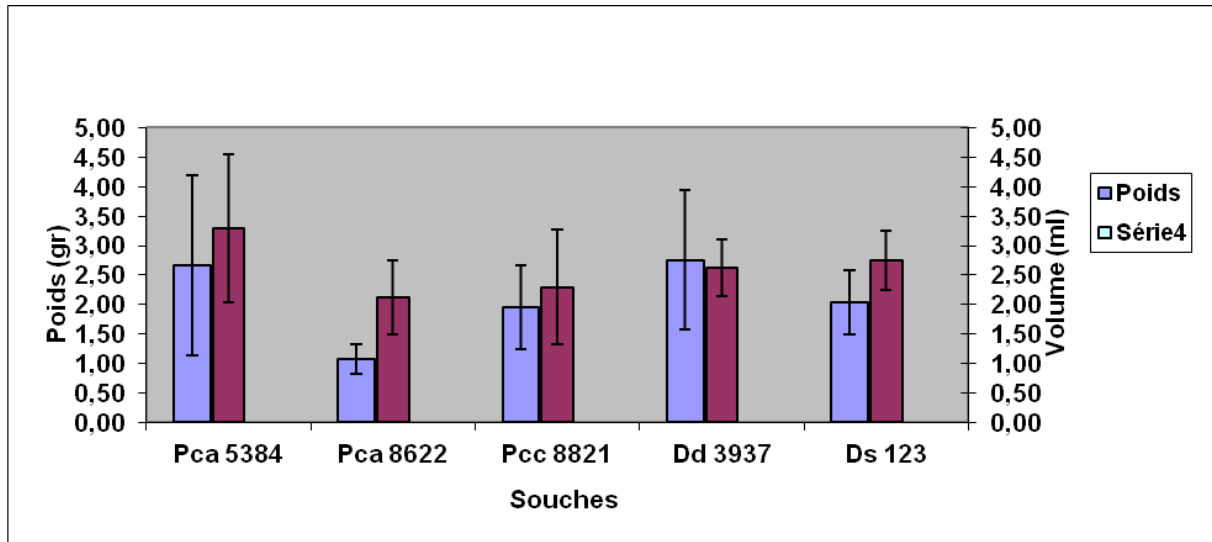


Figure N° 12 : Poids et volume d'eau sur demi-tubercules à peau blanche.

- Sur variété rouge

Pour les variétés à peau rouge, c'est les 2 souches de *P. atrosepticum* et *D. dadantii* qui induisent les poids de nécrose les plus élevés, tandis que pour le facteur volume d'eau, c'est les souches *Pca 8622* et *Pcc 8821* qui ont montré les taux les plus importants. Notons que la souche *Ds 123* a affiché les valeurs poids/volume les plus faibles (Fig13). Les différences entre souches sont de 1,5 pour les poids et 1,2 pour les volumes d'eau.

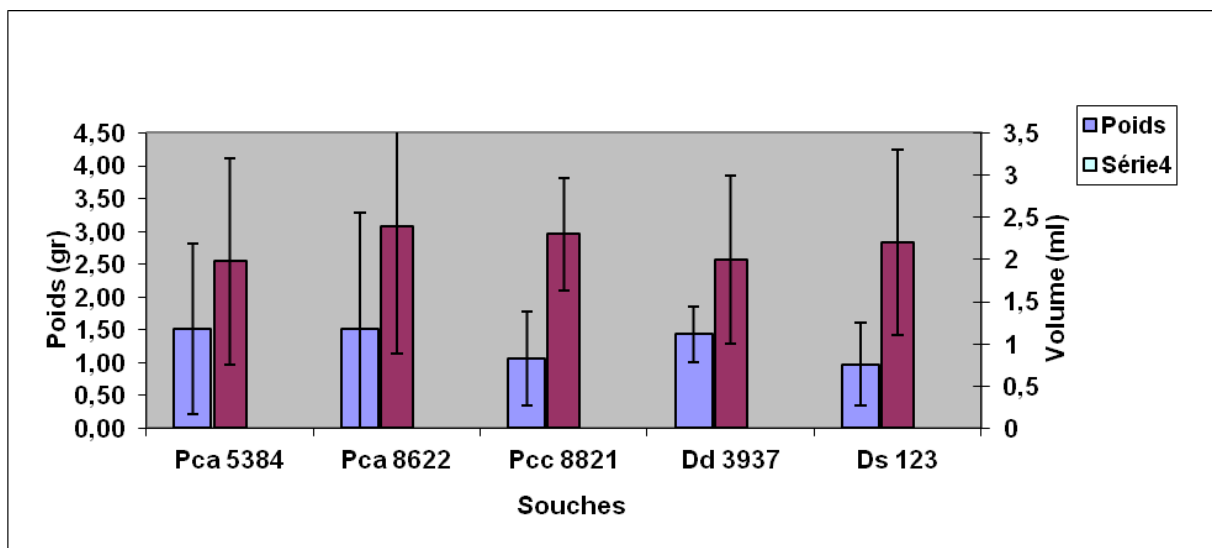


Figure N° 13: Poids et volume d'eau sur demi-tubercules à peau rouge

b)-Facteurs longueur et profondeur des tissus macéré

L'analyse des deux paramètres longueur et profondeur des tissus macérés sur demi-tubercules des deux variétés (Fig14), a montré que *Pca 5384*, *Pcc 8821* et à moindre mesure

Résultats et discussion

Dd 3937 et *Ds 123* sont les plus actives en engendrant les valeurs les plus élevées sur les deux types de pommes de terre, avec un rapport de 1,5 pour la longueur et 1,2 pour la profondeur des tissus pourris pour les tubercules blancs et 1,1 pour la longueur contre 1,3 pour la profondeur des nécroses sur variété rouge.

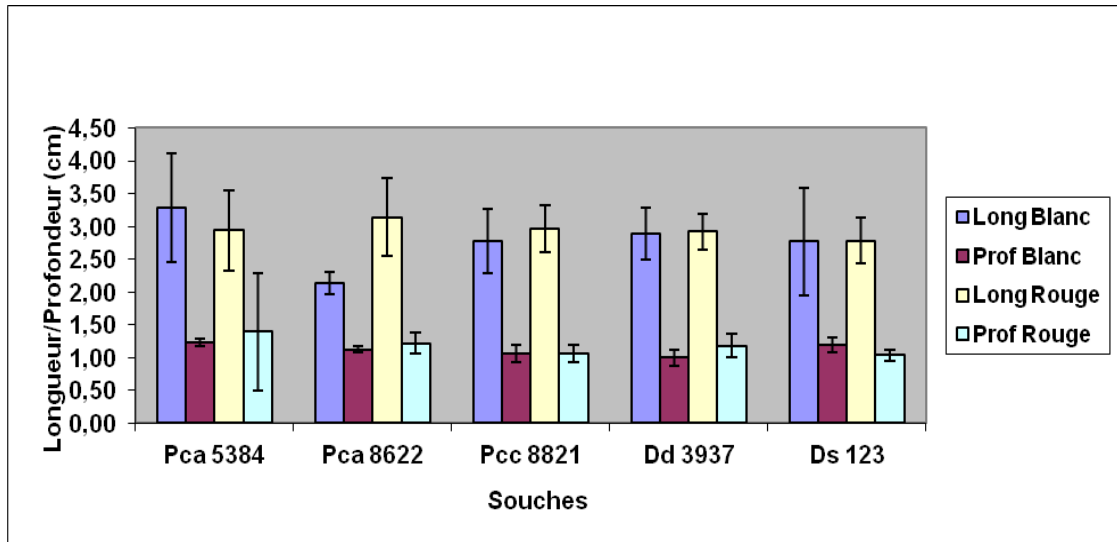


Figure N° 14: Longueur et profondeur des tissus macérés sur demi-tubercules.

On constate que, par rapport aux demi-tubercules ce sont les espèces *atrosepticum* et le genre *Dickeya* qui sont les plus virulents sur les deux variétés

II-2) Mesure des paramètres de pathogénicité sur tubercules :

L'inoculation des tubercules des deux variétés de pommes de terre par insertion des cônes ou embouts par micropipettes à la surface de la peau a permis d'engendrer des zones de macération qui se propagent l'intérieur des tubercules (Fig 15 et 16). Les symptômes sont similaires pour l'ensemble de notre collection de souches.

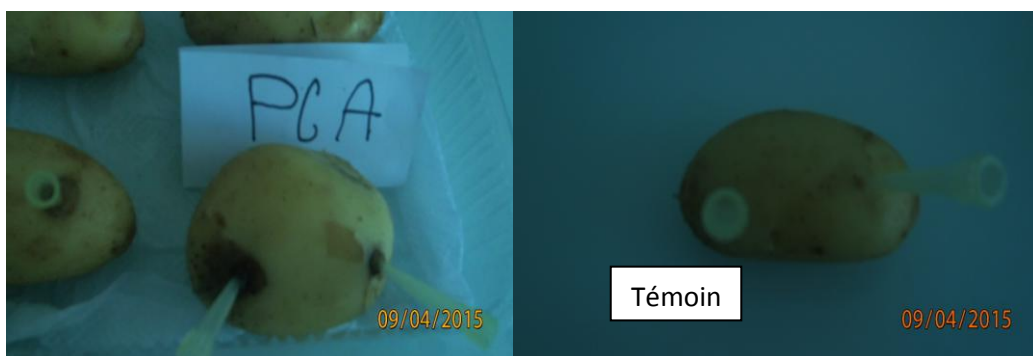


Figure N° 15: Symptômes de pourriture molle sur tubercules de pomme de terre blanche

Résultats et discussion

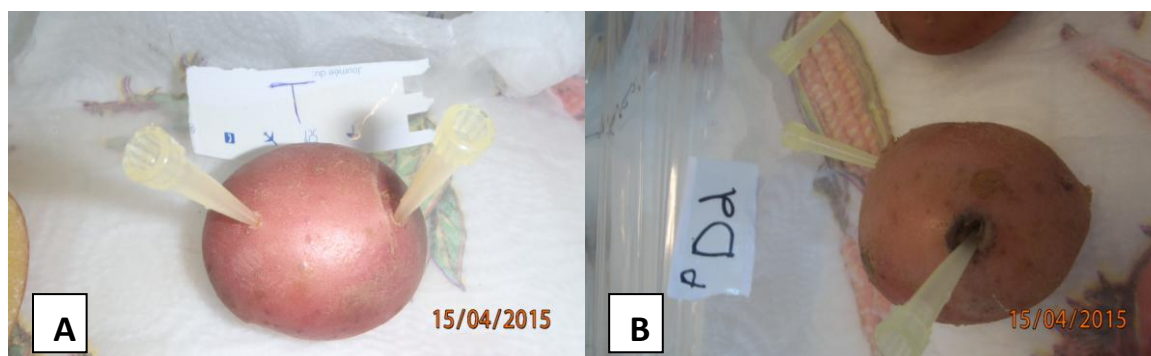


Figure N° 16 : Symptômes de pourriture molle sur tubercules de pomme de terre Rouge.

A : témoin, B : tubercule pourri.

a)-Facteur poids des tissus macérés

Les résultats du calcul des poids des zones pourries sur cultivars à peau blanche et rouge ont montré une prédominance des souches atrosepticum, suivi des souches du genre Dickeya, tandis que l'espèce carotovorum est la moins active (Fig 17). Les rapports entre les valeurs les plus élevées et les plus faibles sont de 3,65 pour les cultivars blancs et 3,1 sur les rouges.

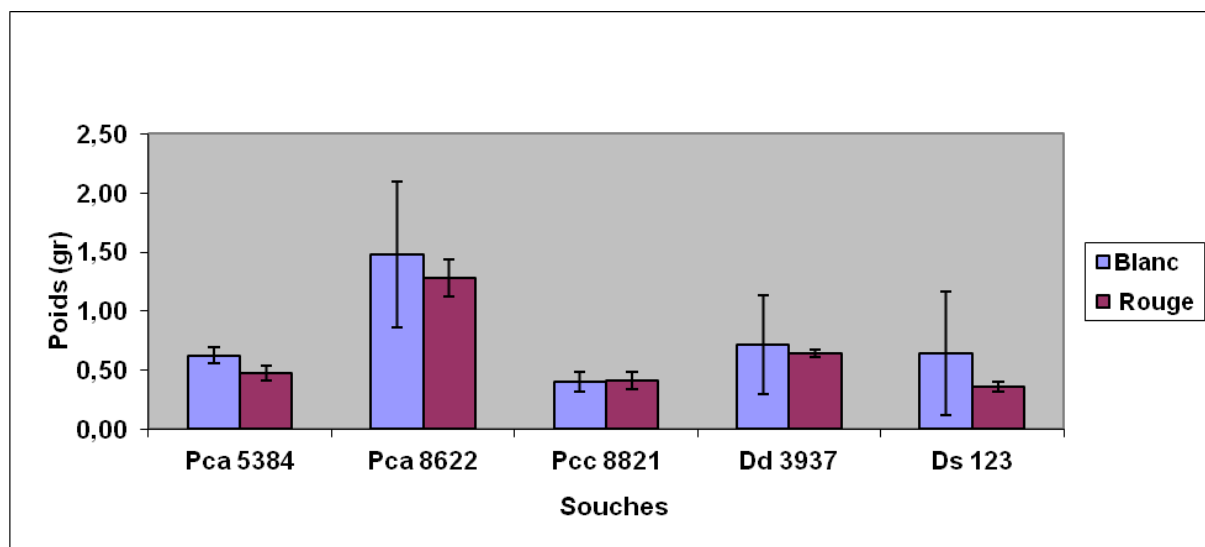


Figure N° 17: Mesure des poids des nécroses sur tubercules à peau blanche et rouge

b)- Paramètre longueur des zones macérées

Les mesures des longueurs des zones nécrosées sur tubercules ont permis de constater la prédominance des souches de Dickeya (dadantii et solani), suivi de l'espèce atrosepticum (8622 puis 5384). La souche Pcc 8821 présente les valeurs les plus réduites. Les différences de valeurs étant de 1,7 pour les tubercules blancs et 1,5 pour les tubercules rouges (Fig 18).

Résultats et discussion

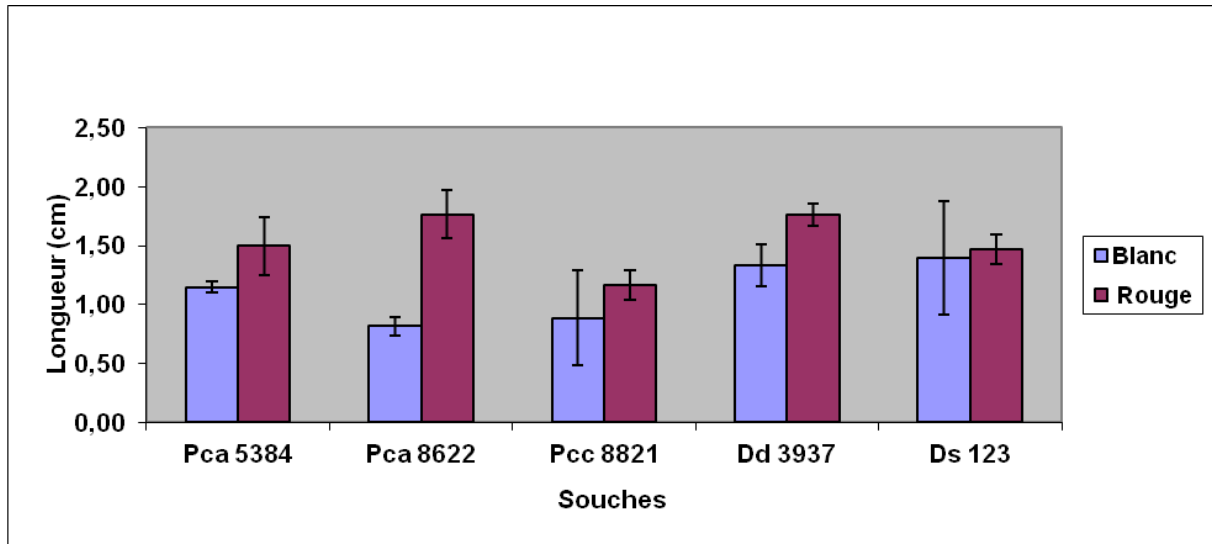


Figure N° 18: Longueurs des tissus macérés sur tubercules

II-3) Suivi de la progression des zones pourris

a)-Sur variété blanche

La propagation de l'étendue des pourritures sur demi-tubercules a été notée au cours du temps, on constate une progression ascendante pour toutes les souches, notamment du 2^{ème} au 3^{ème} jour. Ainsi, sur variété blanche on remarque une augmentation des nécroses de l'ordre de 68,38% pour *Pca 5384* et 62,58% pour *Pcc 8821*. D'une manière générale la propagation de la pourriture après 5 jours d'incubation est comprise entre 53 et 68% sur variété blanche (Fig 19).

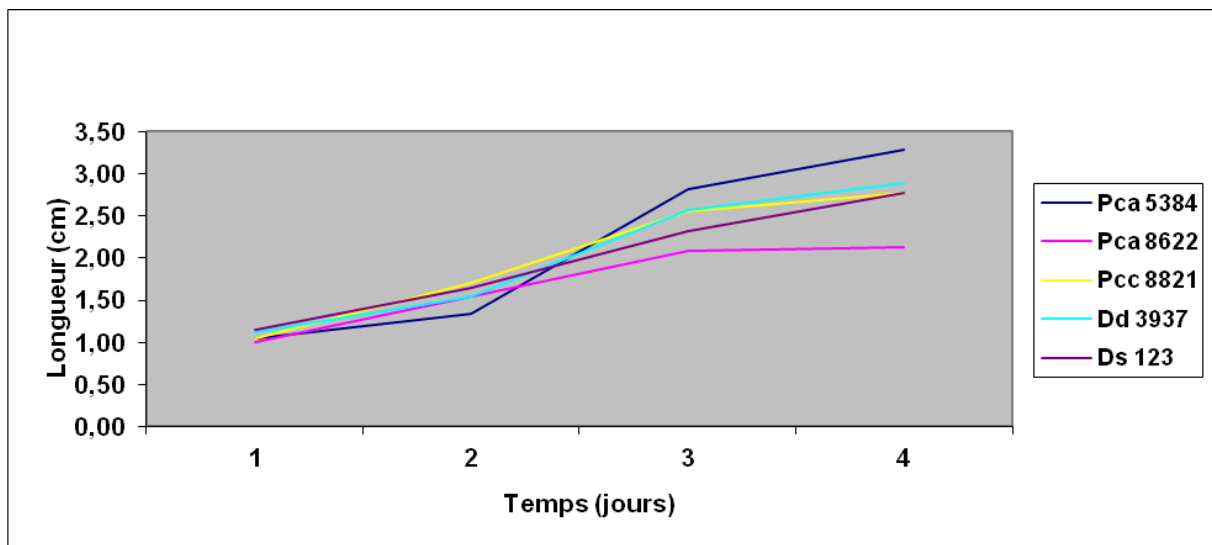


Figure N° 19 : Longueur des tissus macérés en fonction du temps sur cultivar blanc (Courbes)

Résultats et discussion

b)-Sur variété rouge

Sur les demi-tubercules à peau, on constate que ce sont les espèces solani et carotovorum qui se sont propagées les plus rapidement et sur une plus grande distance (58,27 et 58,10 % respectivement), tandis que *Pca* 5384 a enregistré le plus faible taux (50,34 %), suivie de *Dd* 3937 (51,36 %) (Fig 20).

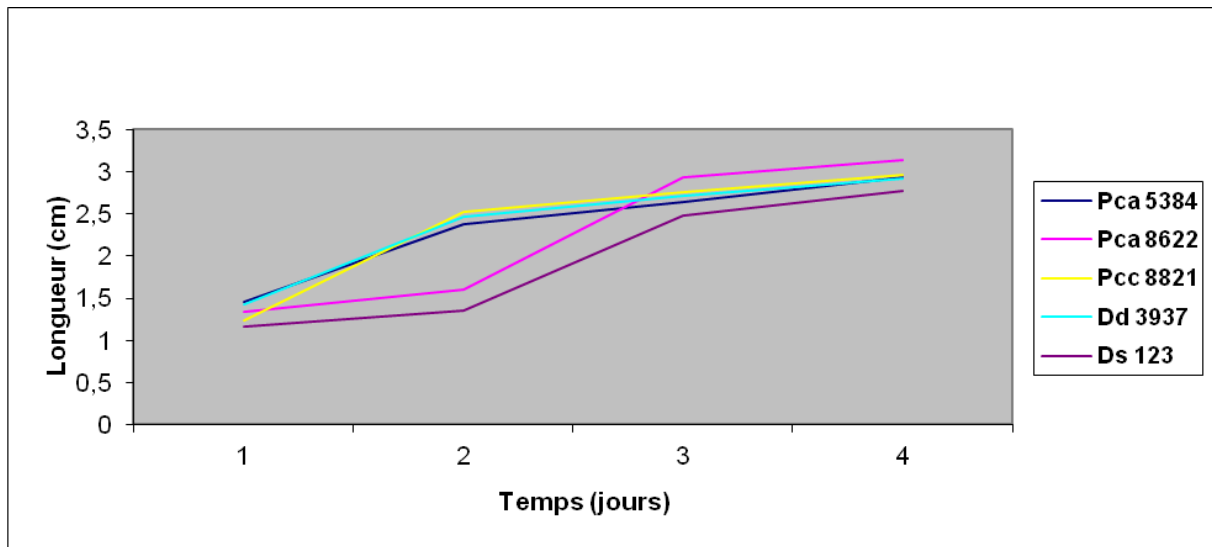


Figure N° 20 : Longueur des tissus macérés en fonction du temps sur cultivar rouge (Courbes)

II-4) Calcul des différences de poids des tubercules et demi-tubercules de pommes de terre

La mesure des poids des tubercules infectés en fonction du temps d'incubation permet de mettre en évidence l'effet du pouvoir de macération sur la masse totale des échantillons inoculés. La variation des poids des tubercules et demi-tubercules symptomatiques étant considéré comme un indicateur de pathogénicité, dans la mesure où une réduction de masse volumique, due à la perte de molécules d'eau, est une conséquence indirecte de l'activité de dégradation des souches bactériennes. Ces constats sont confirmés par d'autres études comme celles de Corbaz (1990) et Laurier (2007) qui ont souligné le grand potentiel virulent de l'espèce *atrosepticum*, ainsi que du genre *Dickeya* sp.

Résultats et discussion

II-4-1) Différence des poids des tubercules de pommes de terre

a)-Variété blanche

Le suivi des poids des tubercules macérés en fonction du temps, a permis de noter que pour toutes les souches utilisées, les poids ont augmenté après 24h d'incubation pour atteindre un pic maximal. Après 48h (3^{ème} jour), on constate une diminution de poids pour toutes les souches pour se stabiliser aux 4 et 5^{ème} jour (voir Fig 21). Le changement de poids du témoin traduit, quant à lui, les fluctuations du microenvironnement immédiat des tubercules.

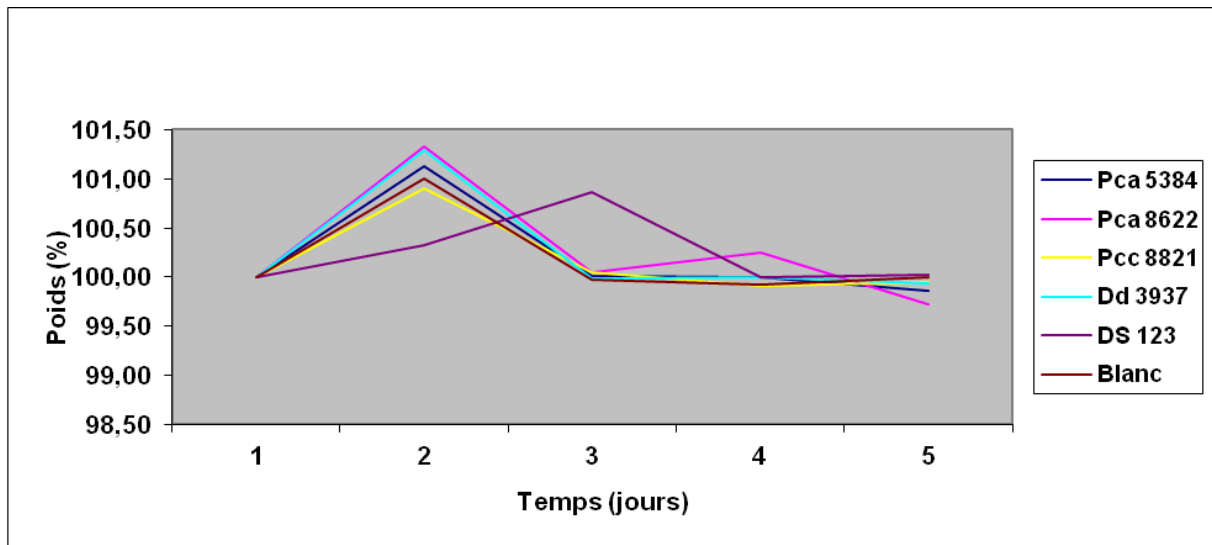


Figure N° 21 : Mesure des poids des tubercules infectés en fonction du temps sur cultivar blanc

Concernant l'effet des souches bactériennes, on note que ce sont les espèces *atrosepticum* (8622 puis 5384) et *dadantii* 3937 qui ont induit les variations de poids les plus importantes. Par ailleurs, l'espèce *Pcc* 8821 affiche les poids les moins élevés.

Résultats et discussion

b)-Variété rouge

Les différences de poids des tubercules à peau rouge ont montré le même schéma que pour les variétés blanches, à savoir un pic au 2^{ème} jour (sauf pour la souche 8622 et le témoin), suivi d'un retour au poids initial aux derniers jours (Fig 22).

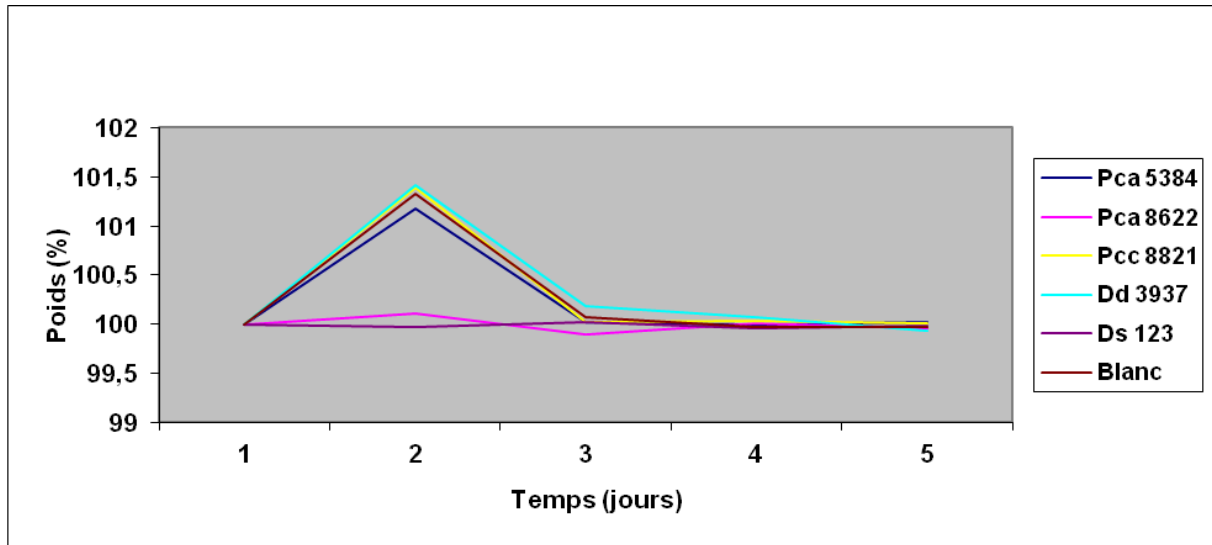


Figure N° 22 : Mesure des poids des tubercules infectés en fonction du temps sur cultivar rouge

Les valeurs de poids les plus élevées sont affichées par les souches *dadantii*, *Pcc* et *Pca 5384* (, tandis que le souches 8622 et *Ds 123* ont donné les poids les plus bas.

II-4-2) Différence des poids des demi-tubercules de pommes de terre

a)-Variété blanche

Le calcul des poids des demi-tubercules à peau blanche inoculés au cours du temps a donné une augmentation aux 2^{ème} jour pour les souches 5384 et *Pcc* et 3^{ème} jour pour les espèces du genre *Dickeya* (*dadantii* et *solani*) (Fig 23).

Résultats et discussion

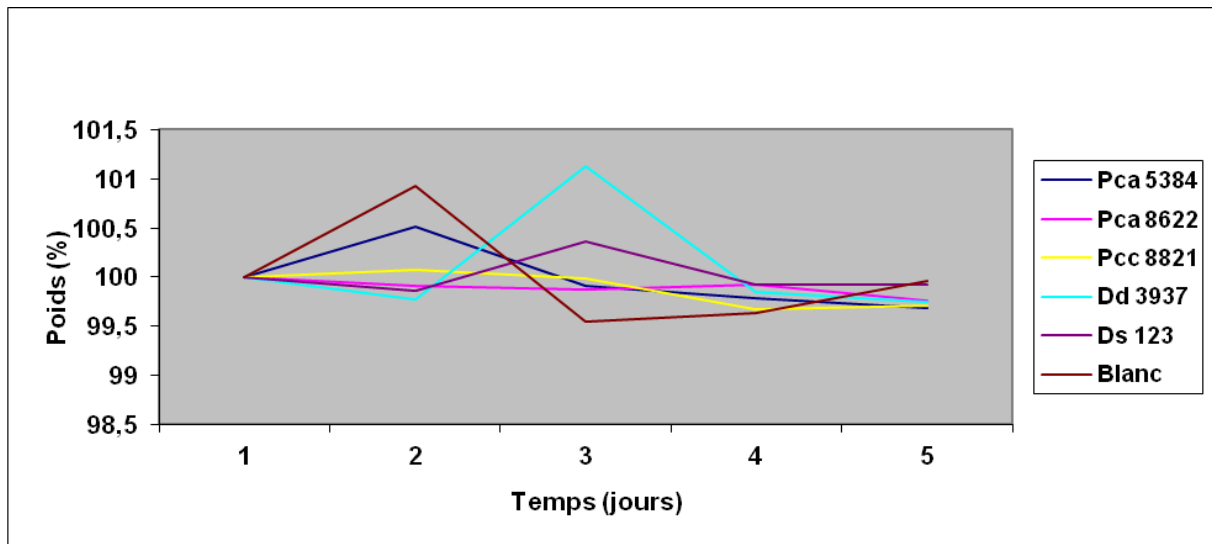


Figure N° 23 : Mesure des poids des demi-tubercules infectés en fonction du temps sur cultivar blanc

Comme indiqué dans les figures 23, les souches 3937, 5384 ont donné les variations de poids les plus importantes, tandis que Pcc 8821 et Pca 8622 n'ont pas eu d'effet direct sur les poids des tissus infectés.

b)-Variété rouge

Sur les demi-tubercules de la variété rouge, on peut noter la même réponse, en observant une augmentation des poids de tous les demi-tubercules infectés après 24h d'inoculation pour diminuer ensuite et atteindre les valeurs les plus basses au dernier jour . En outre, on constate que pour les demi-tubercules rouges, c'est la souche *Pca 5384* qui affiche les valeurs de poids les plus élevées, suivi de *Pcc 8821*, puis de *dadantii 3937*. Les bactéries *Pca 8622* et *solani* ont montré les plus faibles différences de poids (Fig 24).

Résultats et discussion

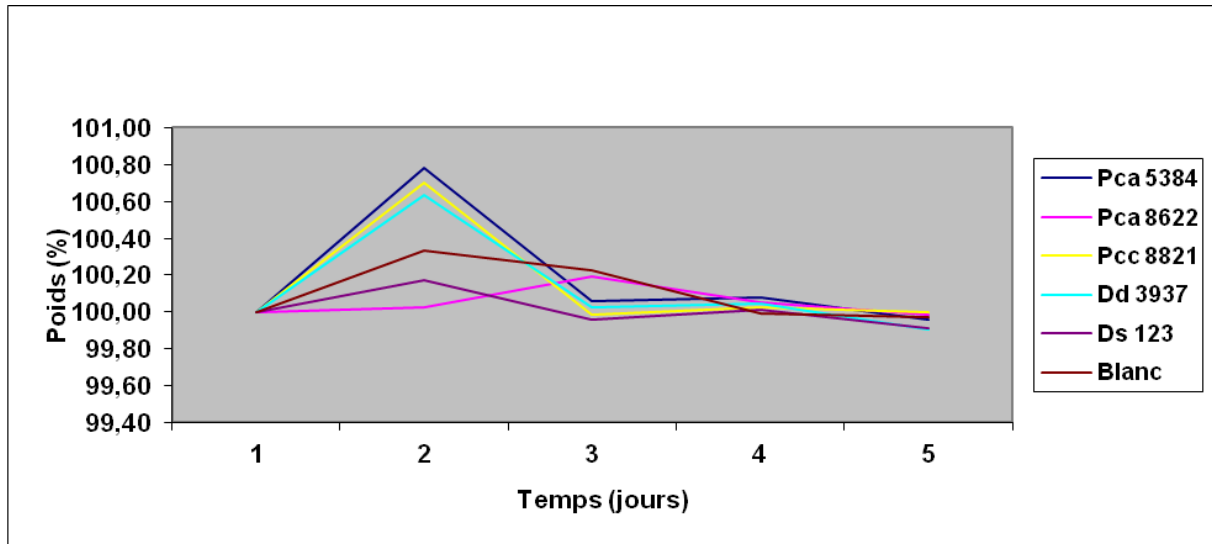


Figure N° 24 : Mesure des poids des tubercules infectés en fonction du temps sur cultivar rouge

Les différentes mesures des poids des tubercules et demi-tubercules au cours du temps nous ont permis de déduire que toutes les échantillons empreintes le même schéma à savoir une augmentation du poids après 24 à 48h d'incubation suivi d'une réduction les derniers jours. Ceci peut être probablement expliqué par le phénomène du Quorum Sensing, en effet au cours des premières 24h d'incubation, correspondant au pré-quorum, il y'a uniquement multiplication cellulaire avec un début de macération dans le but d'atteindre un seuil, au delà duquel divers mécanismes de pathogénicité vont se mettre en marche parmi lesquels, la synthèse d'enzymes et la macération qui auront pour résultats la diminution du poids, dû à la libération des molécules d'eau durant le processus de β -élimination. La perte des poids des tissus végétaux a fait l'objet de plusieurs études parmi lesquels les travaux de Gerardin et al (2013) qui sont arrivés aux mêmes conclusions. Ainsi que Crespo et al (2007) qui ont travaillé sur carottes.

Résultats et discussion

II-5) Dosage enzymatique des pectate-lyases

Le dosage et la quantification de l'activité pectate lyase nous a permis d'évaluer l'activité enzymatique des espèces de *Pectobacterium* et *Dickeya* de notre collection de souches bactériennes, activité qui joue un rôle clef dans l'expression des symptômes sur tubercules de pommes de terre. La méthode de dosage, basée sur la quantification des oligouronides insaturés produits lors de la réaction de β -élimination, est analysée par spectrophotométrie UV à 230 nm.

La figure 25 montre que les résultats du calcul de l'activité spécifique des enzymes varient dans un intervalle compris entre 4 et 50 unités internationales/mg. On constate que c'est la souche *Pca* 8622 qui a montré la plus grande activité enzymatique aussi bien sur cultivar blanc (50,9 UI) que sur variété à chair rouge (20,6 UI).

Les autres espèces ont donné des valeurs plus au moins similaires. La prédominance de la souche 8622 peut être expliquée en partie par le potentiel hautement pathogène de l'espèce *atrosepticum* décrit dans de nombreuses références bibliographique et aussi par la période de réalisation des manipulations au laboratoire (Mars-Avril 2015), climat propice favorisant la croissance et les activités des espèces *atrosepticum* avec des températures au dessous de 25°C. Par ailleurs, les espèces du genre *Dickeya* ce sont avérées plus actives sur les tubercules à peau blanche (*dadantii* : 13,47 UI ; *solani* : 11,98 UI). La souche *Pcc* étant la moins pectinolytique. Les mesures des activités spécifiques enzymatiques sur la variété à peau rouge ont montré, qu'en plus de *Pca* 8622, c'est *solani* et *Pca* 5384 qui ont manifesté plus d'activité.

Concernant le facteur variétal, on constate que, d'une manière générale, c'est sur les tubercules à peau rouge qu'on a noté les activités enzymatiques les moins élevées. Donc, par conséquent, c'est la variété la moins sensible à l'action des souches pectinolytiques par rapport aux tubercules à peau blanche.

Ces données sont confirmées par des travaux antérieurs, ainsi une étude réalisée par Lapwood *et al.* (1984) en 1982 et 1983 sur l'évaluation de la résistance de 22 cultivars de pommes de terre vis-à-vis de souches *carotovorum* et *atrosepticum* a conclue que les variétés rouges comme Désirée sont potentiellement plus résistantes.

Résultats et discussion

Ces résultats sont corroborés par les travaux de Rabot *et al.* (1994) réalisés sur 8 variétés de pommes de terre, il a ainsi démontré que certains cultivars à peau rouges présentent une faible sensibilité à la maladie de la jambe noire.

La résistance de certains cultivars à la pourriture molle est probablement expliquée par le fait qu'ils contiennent des grandes quantités de pectines méthylées. Ces dernières sont très difficiles à dégrader par les pectinases (Dorel *et al.*, 1996). L'âge des tubercules constitue également un facteur de sensibilité des cultivars, (les variétés à maturation tardives comme Désirée et Kondor étant plus résistantes que celles à maturation précoce) (Rabot *et al.*, 1994).

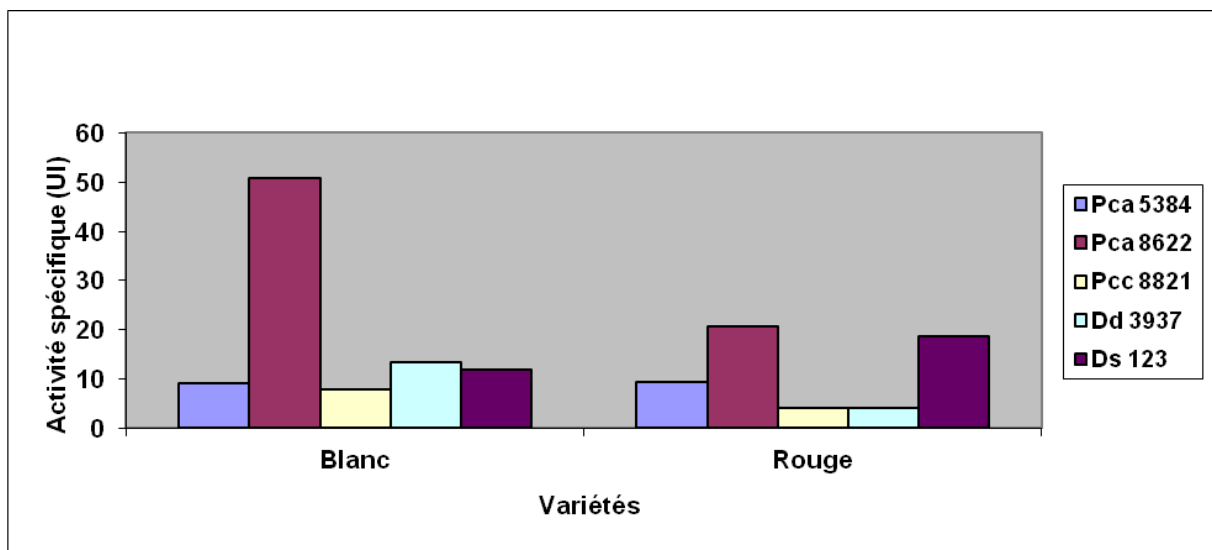


Figure N° 25 : Dosage de l'activité pectate lyases.

En ce qui concerne, l'activité enzymatique des souches de notre collection, la prédominance des espèces *atrosepticum*, suivi des souches du genre *Dickeya* est expliqué par le grand pouvoir virulent de ces dernières.

Ainsi, à l'issue d'une étude entreprise par Zimnoch-Guzawska *et al.* (1999) sur la résistance de 44 hybrides diploïdes de pomme de terre vis-à-vis des maladies de jambe noire et de pourriture molle. ils a été constaté que les souches d'*atrosepticum* sont les plus virulentes et produisent des quantités de pourritures généralement plus importantes que les souches de *Dickeya*.

De plus, la corrélation entre intensité de la maladie de pourriture molle et production de Pels a été établie par de nombreux auteurs à l'instar de Tsrer *et al.* (2013), Waleron *et al.* (2013) et Kettani Halabi (2014).

Résultats et discussion

II-6) Dosage des phytoalexines

Les résultats du dosage des métabolites secondaires phytoalexines à une longueur d'onde de 270 nm, nous ont permis de constater des teneurs élevées chez les tubercules infectés par les espèces *carotovorum* 8821 et les deux espèces *atrosepticum* sur variété blanche, alors que pour les tubercules de couleur rouge ce sont les souches Pcc, Ds et Dd qui ont induit des valeurs plus importantes (Fig26).

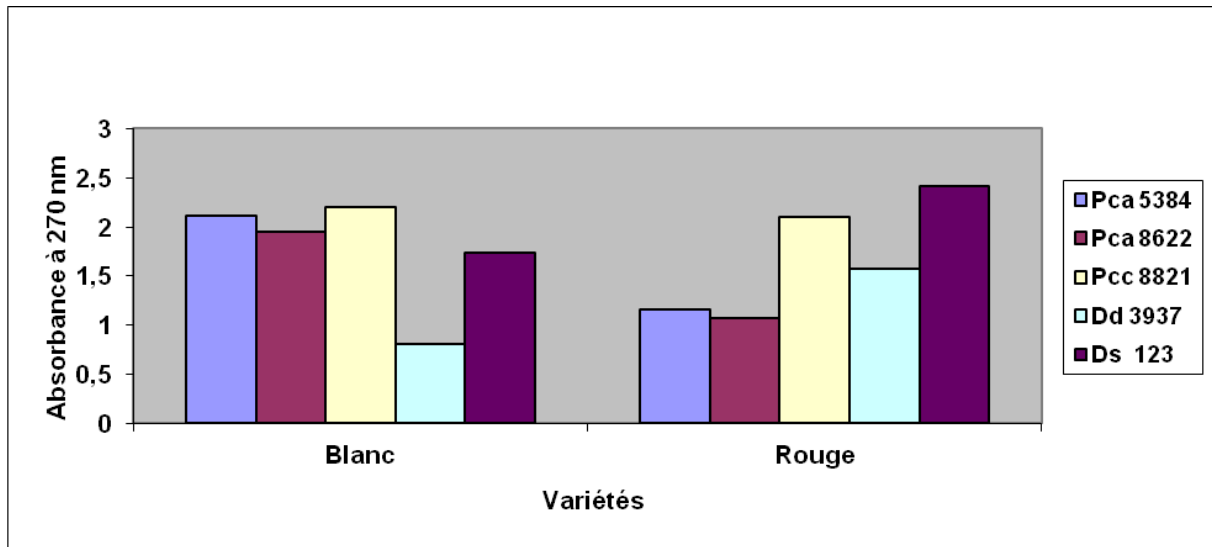


Figure N° 26 : Résultats du dosage des phytoalexines sur les deux variétés blanche et rouge.

L'observation de valeurs élevées en phytoalexines se traduit par un enclenchement des réactions de défense végétale, ainsi on constate que d'une manière générale, et en additionnant sommairement la somme des densités optiques obtenues que les deux variétés ont des degrés de réaction presque identiques, avec un léger avantage pour le cultivar rouge qui semble plus résistant aux souches les plus pathogènes.

Par ailleurs, il existe une corrélation positive entre taux de Pels et niveaux de phytoalexines, ainsi on constate que ce sont les tubercules des variétés les plus touchés par les souches virulentes qui ont donné les valeurs les plus élevées en phytoalexines, d'où l'existence d'une proportionnalité entre les deux paramètres Pels/Phytoalexines.

On constate aussi une certaine efficacité des phytoalexines dans la mesure où les échantillons infectés par la souche *carotovorum* ont produits des taux considérables de phytoalexines sur les deux variétés, et ont contribué ainsi à la résistance de ces dernières.

Résultats et discussion

L'implication des phytoalexines dans la résistance de la pomme de terre et autres hôtes végétaux vis-à-vis de des champignons et bactéries phytopathogènes a été démontrée dans de nombreuses études.

Ainsi, en 1970 Jim et collaborateurs ont isolé des phytoalexines à partir d'un blé résistant à l'espèce *Helmenthospirium turcicum*. Plus récemment, Mostafa et Gado (2007) ont établi une relation entre résistance de la pomme de terre au Mildiou et élicitation des phytoalexines.

Et pour finir, Mazid et al (2010) ont mis en évidence le rôle des métabolites secondaires, parmi lesquelles figurent les phytoalexines dans les mécanismes de défense végétale.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

A l'issue de notre travail, on a, dans un premier temps, pu mettre en évidence le potentiel hautement pectinolytique de notre collection de souches pathogènes sur tubercules et demi-tubercules de deux variétés locales de pommes de terre. Les données générées grâce aux différents tests d'inoculation ont permis d'évaluer et de quantifier l'intensité et l'étendue des symptômes de macération tout en diversifiant les approches et les paramètres de mesure, de même ça nous a aussi permis d'entrevoir la différence de réaction entre tubercules et demi-tubercules vis-à-vis de ces agents biotiques.

A la lumière des résultats obtenus, il s'est avéré que les souches de *Pectobacterium atrosepticum*, et les espèces du genre *Dickeya* sp (*dadantii* et *solani*) sont de loin les plus actives et virulentes sur tissus vivants à la fois sur tubercules et demi-tubercules, ceci au regard des taux de macération enregistrés, que ça soit en termes de poids, volume ou étendue des nécroses.

De même, on a noté des différences de réaction entre les deux cultivars utilisés, ce qui nous a permis de conclure que les échantillons de pommes de terre à peau rouge sont légèrement moins sensibles que ceux à peau blanche. Par ailleurs, le suivi du poids des tissus végétaux infectés au cours du temps, nous a renseignés sur le phénomène des pertes de poids et sa relation avec la pathogénicité.

Les résultats des dosages des activités pectinolytiques sont en parfaite corrélation avec les symptômes développés sur tubercules et demi-tubercules. Par ailleurs, la quantification des taux de phytoalexines produits durant l'infection nous ont confirmé la relation proportionnelle qui existe entre induction par le biais des pectinases, notamment les pectate-lyases et la stimulation de la synthèse de métabolites secondaires.

Pour finir, notre étude nécessite d'être complétée et approfondie par la caractérisation d'autres enzymes de dégradation, ainsi que son élargissement sur d'autres cibles végétales d'intérêt économique.

Références bibliographiques

Référence bibliographiques

Référence bibliographiques

A

Amy .O, C. (2009). Decaying signals: will understanding bacterial–plant communications lead to control of soft rot? *Current Opinion in Biotechnology* 20:178-184.

Anonyme. (2001) :Variétés. Le jardin naturel. Festival des variétés de pomme de terre:
www.elboura .ma.

B

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

Baron, et Thibault, J.F. (1985) : Les enzymes pectinolytiques. Dans: Hydrolases et dépolymérasés, enzymes d'intérêt industriel. Mouranche A., Costes C., pp : 143-164, Gauthier-Villars.

Basham, H-G et Bateman,D.F. (1975): Relationship of cell death in plant treated with a homogeneous endopectate lyase to cell wall degradation. *Physiological Plant Pathology* .5, 249-262.

Benhamou, N. (1996). Elicitor-Induced plant defence pathways. *Trends Plant Sci.*1, 233-240.

Bessadat, N.(2014) .Isolement ,identification et caracterisation des *Alternaria*sp. responsable de la détérioration des plantes maricharespar des systèmes enzymatiques et moléculaires.Université d'ORAN ES-SENIA,Faculté des Science de la Nature et de la Vie .213p.

Boughammoura, A., Franza, T., Dellagi, A., Roux, C., Matzanke-Markstein, B., et Expert, D. (2007). Ferritins, bacterial virulence and plant defence. *Biometals* 20:347-353.

Brooks, C.J.W, et Watson, D.G. (1985). Phytoalexins. *Nat.Prod. Rep* .427-439.

Byers, J.T., Lucas,C ., Salmond, G . P.C. et Welch, M. (2002). Nonenzymatic turnover of an *Erwinia carotovora* quorum-sensing signaling molecule. *Journal of Bacteriology* 184; 1163-1171.

C

Chen, C., Bélanger, R., Benhamou, N. and Paulitz, T. (2000). Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **56**(1):13-23.

Choi,D.,Ward.,B-L.,et Bostoch,R-M.(1902): Differential induction and suppression of potato 3-hydroxy-3-methylglutary coenzyme A reductase genes in response to *Phytophthora infestans* and to its elecitor arachidonc acid.Plant celle 4,1333-1344.

Référence bibliographiques

Christ, B.C., Christ, B., et Schultz, O.E. (1998). Identifying potato diseases in pennsylvania. PENNSTATE, The Pennsylvania State University, Book: 1-26.

Cools, H.J. et Ishii, H. (2002). Pre-treatment of cucumber plants with acibenzolar-S-methyl systemically primes a phenylalanine ammonia lyase gene (*PAL1*) for enhanced expression upon attack with a pathogenic fungus. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **61**(5):273-80.

Corbaz, J. (1991) : Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses phytotechnique et universitaires, Romands, p224-205.

Dorel, C., Lojkowska, E., et Rodert-Baudouy, J.(1992). Reduced activity of *Erwinia chrysanthemi* pectinases after inoculation of potato plants resistant to soft rot. *Plant Pathogenic Bacteri*, Verasailles (France), Ed. INRE, Paris (Les Colloques, n066), pp 627-632.

Corcuff, R., Mercier, J., Tweddell, R., et Arul, J. (2011). Effect of water activity on the production of volatile organic compounds by *Muscodor albus* and their effect on three pathogens in stored potato. *Fungal Biology* 115:220-227.

Czajkowski, R., Perombelon, 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 *Dickey* species: a review. *Plant Pathology* 60:999-1013.

D

Daayf, F., Ongena, M., Boulanger, R., El Hadrami, I. et Belanger, R.R. (2000). Induction of phenolic compounds in two cultivars of cucumber by treatment of healthy and powdery mildewinfected plants with extracts of *Reynoutria sachalinensis*. *J. Chem. Ecol.* **26**(7):1579-1593.

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.

Dellagi, A., Segond, D., Rigault, M., Fagard, M., Simon, C., Saindrenan, P., et Expert, D. (2009). Microbial Siderophores Exert a Subtle Role in *Arabidopsis* during Infection by Manipulating the Immune Response and the Iron Status. *Plant Physiology* 150:1687-1696.

Dickey, R.S., H.Z., C., et K.U., J. (1984). *Erwinia chrysanthemi*: Serological relationships among strain from several hosts. *Phytopathology*, 11-1388-1394.

Dierich, R.A., Delamey, T.P., Ukmes, S.T., Ward, E.R., Ryals, J.A., et Dang, J.L. (1994). *Arabidopsis* mutants simulating disease resistances response. *Celle* 77, 565-577.

Dumas, M.T., Strunz, G.M., Hubbes, M. et Jeng, R.S. (1983). Isolation and identification of six mansonones from *Ulmus americana* infected with *Ceratocystis ulmi*. *Experientia.* **39**(10):1089.

Durrant, W.E., et Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* 42:185-209.

Dye, D.W. (1969). A taxonomic study of the genus *Erwinia*. II. The "*Carotovora*" group. , *N.Z.J.o.A. Research*, 12:81-97.

Référence bibliographiques

E

Epple, P., Apel, K., et Bohlman, H. (1997). Overexpression of an endogenous thionin enhances resistance of *Arabidopsis* against *Fusarium oxysporum*. *Plant Cell* 9:509-520.

Erbs, G., et Newman, M, A. (2012). The role of lipopolysaccharide and peptidoglycan, two glycosylated bacterial microbe-associated molecular patterns (MAMPs), in plant innate immunity. *Molecular Plant Pathology* 13:95-104

F

Fan, J., Qian, G., Yang, X., Gu, C., Kang, Y., Ma, Y., Hu, B., et Liu, F. (2011). Biocontrol of bacterial soft rot of calla lily by elicitor HarpinXoo and N-acyl homoserine lactonase (AttM). *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27:401-410.

F.A.O. (2013). FaoStat Database. Available from <http://faostat.fao.org>.

Ferguson, A.D., et Deisenhofer, J. (2002). TonB-dependent receptors – structural perspectives. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 1565:318-332.

Fofana, B., McNally, D.J., Labbé, C., Boulanger, R., Benhamou, N., Séguin, A. et Bélanger, R.R. (2002). Milsana-induced resistance in powdery mildew-infected cucumber plants correlates with the induction of chalcone synthase and chalcone isomerase. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 61:121-132.

Friting, B.H., Hetiz, T., et Legrand, M. (1998). Antimicrobial proteins in induced plant defense. *Cum. Opin. Immunol.* 10, 16-22.

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.

Giesemann, A., Biehl, B. and Lieberii, R. (1986). Identification of scopoletin as a phytoalexin of the rubber tree *Hevea brasiliensis*. *J. Phytopathol.* 117(4):373-376.

González, J.E., et Keshavan, N.D. (2006). Messing with Bacterial Quorum Sensing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 70:859-875.

Goossens, J.F., Stabe, A., et Vendirig, J.C. (1987). Relationship between Kievitone and phaseollin accumulation in different tissues of *Phaseolus Vulgaris* in response to treatment with mercuric chloride, a fungal cell wall elicitor and abscisic acid. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 30,1-12.

Greenberg, J.T., GUO, A., Klessing, D.F., et Ausubel, F.M. (1994). Programmed cell death in plants: a pathogen-triggered response activated coordinately with multiple defense function. *Cell* 77,551-563.

Référence bibliographiques

H

Hammerschmidt, R. (1999). Phytoalexins: What have we learned after 60 years? *Annu. Rev. Phytopathol.* **37**:285-306.

Harborne, J.B. (1999). The comparative biochemistry of phytoalexin induction in plants. *Biochem. Syst. Ecol.* **27**(4):335-367.

Hauben, L., Moore, E.R.B., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonck, L., et Swings, J. (1998). Phylogenetic position of phytopathogens within the Enterobacteriaceae. *Syst. Appl. Microbiol.* **21**:384-397.

Heitz, T., Bergey, D., et Ryan, G.A. (1997). A gene encoding a chloroplast lipoxygenase is transiently induced by wounding, systemin, and methyl jasmonate in tomato leaves. *Plant Physiol.* **114**, 1805-1809.

Hélais, 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 fils en cours de culture. Thèse de Doctorat en Biologie et Agronomie. Rennes, France, 190p.

Hélias, V. (2008). *Pectobacterium* spp. et *Dikeya* spp. de la pomme de terre: Nouvelle nomenclature pour *Erwinia* spp., symptomatologie, épidémiologie et prophylaxie. Cahiers Agricultures vol. 17, N°4, P 353,

Hélias, V., Criza, F., et Montford, F. (2005). Evaluation of a new pectate formulation for isolation of rot *pectobacterium* on CVP medium. European Association for Potato Research, Bilbao. 17-22.

Herman, K.-M. (1995a): The shikimate pathway as an entry to aromatic secondary metabolism. *Plant Physiol.* **107**, 7-12.

Higgins, V., Hollands, J. and Bates, D. (1995). Phytoalexins in forage legumes: studies on detoxification by pathogens and the role of glycosidic precursors in roots. In *Handbook of phytoalexin Metabolism and Action.*, edited by P. R. Daniel M, eds.: New York, USA: Marcel Dekker.

Howard, R.J., Garland, J.A., et Seaman, W.L. (1994). Diseases and pests of vegetable crops in Canada. An illustrated compendium. The Canadian Phytopathological Society and Entomological Society of Canada, Ottawa. e-book, 1994:1-554.

I

Ibrahim, M., Jouan, B., Poutier, F., et Saily M. (1978). Prospect of pathogenicity test concerning *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* and *Erwinia carotovora subsp. carotovora* on half tubers. Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Angers pp. 591-602.

Référence bibliographiques

Ishii,S.(1976) . Enzymatic Maceration of Plant Tissues by Endo-Pectin Lyase and Endo-Polygalacturonase from *Aspergillus japonicus*. *Phytopathology*. 66,281-289.

I.T.C.F. (1998). Maladies de la pomme de terre.

J

Jurnak, F., Kita, N., Garrett, M., Heffron, S.E., Scaveta, R., Boyd, C.et Keen, N., (1996). Functional implications of the three-dimensional structures of pectate lyase. Dans: *Pectins and Pectinases*. Visser J., Voragen A. G. J., Eds. *Progress in Biotechnology* 14, pp 295-308. Elsevier Science.

K

Katz ,V-A.,Thulke ,O-U.,et Comrath,U.(1998): A benzothiadiazole primes parsley cells for augmented elicitation of defense responses. *Plant physiol.*117,1333-1339.

Kettani-Halabi, M. (2012). Etude de la diversité de *Pectobacteriu spp* et des effets induits par les lipopolysaccharides chez les plantes .Thèse de Doctorat en Biologie. Université paris-sud – ufr des sciences école doctorale sciences du végétal ED 145, 219p.

Klaus, H. (2001). Iron and metal regulation in bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 4:172-177.

Kombrint,E.,et Somssich,I.E.(1995). Defense response of plants to pathogens.*Adv.Bot, Res.*21,1-34.

Kuc, J. (1995a). Phytoalexins, stress metabolism and disease resistance in plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 33:275-297.

Kyöstiö,S.R.M .,Cramer,C.L.et Lacy, G.H.(1991). *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* extracellular protease; caracteization and nucleotide sequence of the gene. *Journal of Bacteriology* 173 :6537-6546.

L

Ladjouzi R. (2007). Recherche et identification des *Pectobacterium*, agent de la pourriture molle sur différentes plantes hôte : 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,74p.

Lapwood, D. H., Rea,P.J, et Spokes, J .(1984). Methods for assessing the susceptibility of potato tuber of diffedent cultivars to rotting by *Erwinia carotovora subsecies atroroseptlca* and *carotovorz*. *Plant Pathology* 33:13-20.

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.

Référence bibliographiques

Lawton ,K.A .,Friedrich ,L .,Hunt,M.,Weymann,K.,Delamey,T.,Kessmann,H.,Staub,TetRyals ,J. (1996). Benzothiadiazole induces disease resistance in Arabidopsis, by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. *Plant J.* 10:71-80.

Lemberg ,G .,Korner, R., Christensen , T M I E .,Roepstorff ,P et Mikkelsen ,j.D.(2000a): Analysis of pectin structure. I. Analysis of different deesterification mechanisms by enzymatic fingerprinting using endo-pectin lyase and endopolygalacturonase II from *A. niger* . *Carbohydrate Research*, 327,p: 293-307.

Levine,A.T.,Tenhaken,R.,Dixon,R.,etLamb,C.(1994). H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79,583-593.

Liao ,C.H. (1989): Analysis of pectate lyases produced by soft rot bacteria associated with spoilage of vegetables. *Application and Environment Microbiology.* 55, 1677-1683.

Li, G. et Ouyang, G.C. (1990). Plant induced disease resistance. *Plant Physiol. Commun.* 6:1-4.

Liu, Y., Chatterjee, A., et Chatterjee, A.K. (1994): Nucleotide sequence, organization and expression of *rdgA* and *rdgB* genes that regulate pectin lyase production in the plant pathogenic bacterium *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* in response to DNA damaging agents. *Molecular Microbiology* 14:999-1010.

M

Mae, A., Heikinheimo, R., et Palva ,T.(1995) . Structure and regulation of the *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora* SCC3193S cellulose gene *celVI* and the role of cellulose in phytopathogenicity. *Molecular and Genetics* 247:17-26.

Maher,E-A.,Bate,N-J.,Ni,W.,Elkind,Y .,Dixon ,R-A.,et Lamb.,C-J.(1994) : Increased disease susceptibility of transgenic tobacco plants with suppressed levels of preformed phenyl propanoid products. *Nath. Acad. Sci. USA* 91,7802-7806.

Mahmoudi,E., Tabatabaei, B.E.S., et Venturi, V. (2011a). Virulence Attenuation of *Pectobacterium carotovorum* Using N-Acyl-homoserine Lactone Degrading Bacteria Isolated from Potato Rhizosphere. *Plant Pathol. J.* 27:242-248.

Mansfield, J.W. (2000). Antimicrobial compounds and resistance: the role of phytoalexins and phytoanticipins. In *Mechanisms of Resistance to Plant Diseases*, edited by A. J. Slusarenko, R. S.S. Fraser and L. C. Van Loon. Dordrecht: Kluwer.

Mattila P., Hellström J. (2007). Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis.* Vol. 20, 152-160.

McNally, D.J., Wurms, K.V., Labbe, C. and Belanger, R.R. (2003b). Synthesis of C-glycosyl flavonoid phytoalexins as a site-specific response to fungal penetration in cucumber. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 63(6):293-303.

McCue,K-F., et Conn,E-E.(1989):Induction of 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate synthase activity by fungal elicitor in cultures of *Petroselinum crispum*. *Proc.Nath.Acad.Sci.USA* 86,7374-7377.

Référence bibliographiques

Messer, R., et Boll, M. (1993). Elicitor-mediated induction of enzymes of lignin like material in a cell suspension culture of spruce (*Picea abies*). *Plant Cell Tissue Org. Cult.* 34:261-269.

Milat, M.-L., Ricci, P., Bonnet, P., et Blein, J.-P. (1991). Capsidial and ethylene production by tobacco cells in response to cryptogein, an elicitor from *Phytophthora cryptoea*. *Phytochen.* 30:2171-2173.

Moran, F., Nasuno, S. et Starr, M. (1968). Extracellular and intracellular polygalacturonic acid transeliminase of *Erwinia carotovora*. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 123:298-306.

Mulholland, V., Hinton, J.C.D., Sidebotham, J., Toth, I.K., Hyman, L.J., Perombelon, M.C.M., Reeves, P.J., et Salmond, G.P.C. (1993). A pleiotropic reduced virulence (Rvi-) mutant of *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica* is defective in flagella assembly proteins that are conserved in plant and animal bacterial pathogens. *Molecular Microbiology* 9:343-356.

N

Nandakumar, R., Babu, S., Viswanathan, R., Raguchander, T. and Samiyappan, R. (2001). Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol. Biochem.* 33(4-5):603-612.

P

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

Perombelon, M.C.M., et Kelman, A. (1980). Ecology of the Soft Rot Erwinias. *Annual Review of Phytopathology* 18:361-387.

Pieterse, C.M.J., vanWees, S.C.M., Hoffland, E., vanPelt, J.A., et vanLoon, L.C. (1996). Systemic resistance in Arabidopsis induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. *Plant Cell* 8:1225-1237.

Pissavin, C., Robert-Baudouy, J. et Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. (1996): Regulation of *pelZ*, a gene of the *pelB-pelC* cluster encoding a new pectate lyase of *Erwinia chrysanthemi* 3937. *J Bacteriol.* 178: 7187-7196.

Pirhonen, M., et Long, R. (1993). Secretion of extracellular virulence factors by plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology.* 32:181-200.

Politycka, B. (1998). Phenolics and the activities of phenylalanine ammonia lyase, phenol-b glucosyltransferase and b-glucosidase in cucumber root as affected by phenolic allelochemicals. *Acta Physiol. Plant.* 20:405-410.

Potter, A. L., et McComb, A. (1957). Carbohydrate composition of potatoes. Pectin content. *American Journal of Potato Research* 34, 342-6.

Référence bibliographiques

Priou,S ., et Jouan,B. (1990): Introduction des maladies de la pomme de terre provoquées par les bactéries pathogènes du genre *Erwinia* .La pomme de Terre française . N°456 P57-60.

R

Rabot, B., Pasco, C. et Schmidt,J.(1994). Assessing six Australian potato cultivars for resistance to *Erwinia corotovorae subsp.atroseprica*. Potato Research 37:197-203.

Reina-Pinto, J.J., et Yephremov, A. (2009). Surface lipids and plant defenses. Plant Physiology and Biochemistry 47:540-549.

Rexov-Benkov ,A ., et Markovic, O. (1976) : Pectic enzymes. *Advances Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, **33**, pp: 323-385.

Ross, A.F. (1961). Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants.Virology 14:340-358.

Rousselle, P., Robert, Y., et Crosnier, J.-C. (1996) . La pomme de terre. coll. « Mieux comprendre » Paris, ebook, INRA, ISBN 2-7380-0676-0.

S

Salmond, G.P.C.(1992) . Bacterial diseases of potatoes ; from classical phytobacteriology to molecular pathogenicity .Netherlands Journal of Pathology .2 :115-126.

Sambrook, J., Fritsch , E.F., et Maniatis, T. (1989) . Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring, New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory.

Samson, R., Legendre, J.B., Christen, R., Saux, M.F.L., Achouak, W.,et Gardan, L. (2005). Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 55:1415-1427.

Schaerer,S.,Dupuis,B .(2010). Nouvelles pratiques pour contrer la jambe noire.Production Vegetale. Revue UFA .p 29.

Shevchik, V.E., Kester, H.C.M., Benen, J.A.E., Visser, J., Robert-Baudouy, J., et Hugouvieux-Cotte-Pattat, M. (1999): Characterization of the exopolysaccharide lyase PelX of *Erwinia chrysanthemi* 3937. Journal of Bacteriology 181:1652-1663.

Skerman, V.B.D., McGowan, V., et Sneath, P.H.A. (1980). Approved Lists of Bacterial Names. International journal of systematic bacteriology 30:225-420.

Référence bibliographiques

Snaiki,J .,Nadif,A .,et Ouhssine,M. (2006) . détection biochimique d'*erwinia carotovora* subsp. *carotovora* de tubercules de betterave sucrière atteints de pourriture molle *bull. soc. pharm. bordeaux*, 2006, 145, 53-60.

Sticher, L., MauchMani, B., et Metraux, J.P. (1997). Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology 35:235-270.

Stintzi,A.,Heitz,T.,Prasad,V.,Wiedemann-Merdinglu,S.,Legrand.,M.,et Fritig,B.(1993a). Plant “Pathogeneses- Related”proteins and their role in defense againt pathogens. *Biochimie* 75,687-706.

Sutherland, J.W. (1995). Polysaccharides lyases. *FEMS Microbiology Reviews*, **16**, pp: 223-347.
Chassot, C., and Metraux, J.P. 2005. The cuticle as source of signals for plant defense. *Plant Biosystems* 139:28-31.

Sutton, D.C, et Deverale,B.J.(1984). Phytoalexin accumulation during infection of bean and soybean by ascospores and mycelium of *Sclerotinia sclererotioum*. *Plant Pathol.* 33, 377-383.

T

Tajner-Czopek A., (2003). Changes of pectic substances concentration in potatoes and French fries and the effect of these substances on the texture of the final product. *Nahrung-Food* **47**, 228–31.

Tajner-Czopek ,A., et Figiel, A. (2003). Effect of the content of potato nonstarch polysaccharides (NSP) and lignin on the mechanical properties of french fries. *Polish journal of food and nutrition sciences* **12/53**, 136–40.

Tardy, F., Nasser, W., Robert-Baudouy, J. et Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. (1997).Comparative analysis of the five major *Erwinia chrysanthemi* pectate lyases : enzyme characteristics and potential inhibitors. *J Bacteriol.* 179: 2503-2511.

Thvissen ,K.,Ghazi ,A .,De Samblanx,G-W .,et Broekeart,W-F .(1996) : Fungalmembrane responses induced by plant defensins andthionins *J.Biol.Chen.*271,15018615025.

Toth, I.K., Thorpe, C.J., Bentley, S.D., Mulholland, V., Hyman, L.J., Perombelon, M.C.M.,et Salmond, G.P.C. (1999b). Mutation in a Gene Required for Lipopolysaccharide and Enterobacterial Common Antigen Biosynthesis Affects Virulence in the Plant Pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12:499-507.

Toth, I.K., et Birch, P.R.J. (2005). Rotting softly and stealthily. *Current Opinion in Plant Biology* 8:424-429.

Toth, I.K., Bell, K.S., Holeva, M.C.,et Birch, P.R.J. (2003b). Soft rot erwiniae: from genes to genomes. *Molecular Plant Pathology* 4:17-30.

Référence bibliographiques

Toth, I.K., Sullivan, L., Brierley, J.L., Avrova, A.O., Hyman, L.J., Holeva, M., Broadfoot, L., Perombelon, M.C.M., et McNicol, J. (2003b):Relationship between potato seed tuber contamination by *Erwinia carotovora* ssp *atroseptica*, blackleg disease development and progeny tuber contamination. *Plant Pathology* 52:119-126.

Tsuda, K., et Katagiri, F. (2010). Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 13:459-465.

V

Verhagen, B.W.M., Glazebrook, J., Zhu, T., Chang, H.S., van Loon, L.C., Pieterse, C.M.J. (2004). The transcriptome of rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17:895-908.

Van-Peer, R., Niemann, G.J. et Schippers, B. (1991). Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology*. **81**(9):728-734.

W

Weber, J., Olsen, O., Wegener, C. et Von Wettstein, D., (1996). Digalacturonates from pectin degradation induce tissue responses against potato soft rot. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **48**, 389–401.

Whitehead, N.A., Barnard, A.M.L., Slater, H., Simpson, N.J.L., and Salmond, G.P.C. (2001): Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 25:365-404.

Y

Yaganza, E.S. (2005). Utilisation post-récolte de sels organiques et inorganiques pour lutter contre la pourriture molle de la pomme de terre : base physico-chimique, F. Université Laval, 3:56-63.

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

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

Z

Zhang, J., et Zhou, J.-M. (2010). Plant Immunity Triggered by Microbial Molecular Signatures. *Molecular Plant* 3:783-793.

Référence bibliographiques

Zimnoch-Guzowska, E., Lebecka ,R, et Pietrak, J .(1999) . Soft rot and blackleg reaction in diploid hybrids inoculated with *Erwinia* spp.

Annexes

Annexe

I) Milieux gélosés pour la culture et la conservation des *Erwinia* pectinolytiques

Milieu King B (King et al 1954) .

Composition	Par litre
Peptone	20 g
Phosphate de K dibasique (K ₂ HPO ₄)	1,145 g 1,5 g
Sulfate de Mg (MgSO ₄ , 7H ₂ O)	15 ml
Glycérol	15 g
Agar	1000 ml
Eau distillée	

Milieu Gélose nutritive (pH 7,2)

Composition	Par litre
Peptone	5 g
Extrait de levure	2 g
Extrait de boeuf	1 g
Na Cl	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Milieu LB (Luria Bertani) (Sambrook et al 1989)

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

Milieu LP (Levure Peptone)

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

II) Milieu utilisés pour l'identification biochimique des *Erwinia pectinolytiques*

Milieu Sutton (pH7, 2) (Bonnet 1973)

Composition	Par litre
NaOH 1N	6 à 10 ml
CaCl₂, 2H₂O(10%)	6 à 21 ml
Bleu de bromothymol(0,5%)	6 ml
Extrait de levure	5 g
Polypectate de sodium	15 g
Eau distillée	1000 ml

Résumé

Les espèces de *Pectobacterium* et *Dickeya* sont responsables des maladies de pourriture molle, qui provoquent des dégâts considérables sur cultures de pomme de terre. Une collection de 5 souches type est inoculée sur tubercules et demi-tubercule de 2 variétés de pommes de terre (peau blanche et peau rouge). La lecture est réalisée en mesurant différents paramètres (poids, volume d'eau, longueur et profondeur des tissus macérés), ainsi que les fluctuations des poids des échantillons infectés. Par ailleurs, des dosages d'enzymes pectate-layases et de phytoalexines sont réalisés par spectrophotométrie. Les résultats obtenus ont montré une nette prédominance des espèces *atrosepticum* et de *Dickeya dadantii* et *solani*, ainsi qu'une sensibilité potentielle des pommes de terre blanches. Les dosages ont permis d'établir une corrélation entre activité enzymatique et stimulation de la production de métabolites secondaires.

Mots clefs : pommes de terre, pathogénicité, *Pectobacterium*, pectate-lyases, phytoalexines.

Abstract

Pectobacterium and *Dickeya* Species are responsible for soft rot diseases, which cause considerable damage to potato crops. A collection of 5 type strains are inoculated on potato tubers and half-tubers of two varieties (white skin and red skin). Reading is performed by measuring various parameters (weight, water volume, length and depth of the macerated tissues), as well as fluctuations in weight of the infected samples. Furthermore, pectate layases enzymes and phytoalexins assays are performed spectrophotometrically. Results showed a clear predominance of *atrosepticum* species and *Dickeya dadantii* and *solani*, with a potential sensitivity of white potatoes. Assays have established a correlation between enzymatic activity and stimulation of production of secondary metabolites

Key words: potatoes, pathogenicity, *Pectobacterium*, pectate-lyases, phytoalexines.