

**1<sup>ère</sup> Année Master : Microbiologie Appliquée**

**Module : Microbiologie infectieuse et santé (MIS) S2**

**Responsable du module et chargée du tp : Bensemmane L.**

## **TP 1 : la phytopathologie**

**La phytopathologie** est aux plantes ce que la médecine est à l'homme et la médecine vétérinaire aux animaux. Chacune de ces disciplines étudie les causes, les mécanismes et le contrôle des maladies affectant les organismes auxquelles elles se rapportent.

### **1. ISOLEMENT DES BACTÉRIES PHYTOPATHOGÈNES**

L'isolement des bactéries phytopathogènes, sur des milieux de culture gélosés, demeure souvent l'étape de base pour le diagnostic des maladies bactériennes.

Par la suite, diverses techniques peuvent être utilisées afin d'identifier les bactéries isolées. Les milieux de culture utilisés au Laboratoire de diagnostic en phytoprotection sont de deux types :

#### **•milieu différentiel**

Différents genres et espèces bactériens peuvent y croître mais ce type de milieu permet facilement de reconnaître un genre ou une espèce grâce à son apparence unique et caractéristique.

#### **•milieu général**

Toutes les espèces bactériennes phytopathogènes peuvent y croître. Ces milieux de culture doivent contenir tous les éléments essentiels à la croissance d'une bactérie soit des sources de carbone et d'azote ainsi que des sels minéraux.

### **2. Les maladies des plantes sont dues à divers organismes.**

Lorsqu'une plante est atteinte d'une maladie, sa croissance, sa fertilité et sa productivité sont affectées. Des symptômes se développent et tout ou partie de l'organisme peut mourir. Les agents responsables des maladies de plantes peuvent être biologiques (microorganismes pathogènes : champignons, virus, nématodes, bactéries ; compétition avec d'autres plantes, attaque d'insectes) ou physiques (manque de substances nutritives, lumière, eau, présence de produits toxiques dans le sol ou l'air).

La distinction entre une maladie causée par un pathogène et une maladie physiologique n'est pas toujours facile à faire !

Les organismes phytopathogènes sont pour la plupart les champignons, les bactéries, les nématodes, et les virus (il y a aussi quelques plantes parasites). Les champignons et les nématodes peuvent entrer dans les plantes par les blessures ou les ouvertures naturelles, et aussi directement. Les bactéries et les virus peuvent entrer dans les plantes par les blessures ou les ouvertures naturelles, ou par vecteurs, mais jamais directement.

- Des plantes parasites :

Cuscute



Monotrope



Orobanches



Gui



Parmi les genres bactériens phytopathogènes les plus couramment identifiés au Laboratoire de diagnostic en phytoprotection, nous retrouvons : *Agrobacterium*, *Clavibacter*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* et *Xanthomonas*. Cependant, d'autres genres bactériens ont été également identifiés soit *Acidovorax*, *Rhodococcus*, *Burkholderia* et *Ralstonia*.

Depuis la mise en place d'un Laboratoire de diagnostic en phytoprotection (1986), les principales espèces bactériennes identifiées sur les plantes cultivées sont:

- *Acidovorax avenae* subsp. *Cattleyae* (phalaenopsis)
- *Agrobacterium tumefaciens* (framboisier, bleuet, plantes ornementales, pommier)
- *Burkholderia cepacia* (oignon)
- *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* (poivron, tomate)
- *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (pomme de terre)
- *Erwinia amylovora* (pommier, sorbier, poirier, framboisier)
- *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica* (pomme de terre)
- *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora* (plusieurs espèces végétales)
- *Erwinia tracheiphila* (concombre)
- *Pseudomonas corrugata* (tomate)
- *Pseudomonas fluorescens* IVb, *Pseudomonas marginalis* et *Pseudomonas viridiflava* (plusieurs espèces végétales)

Les symptômes sont souvent insuffisants pour identifier le pathogène car ils dépendent du milieu, de la variété de plante, et de la souche virale. En général, l'appel à des tests sérologiques et moléculaires est souvent nécessaire pour compléter les identifications biologiques sur plantes indicatrices.

Toutes les parties (organes) de la plante peuvent être attaquées par des pathogènes.

#### Les feuilles infectées

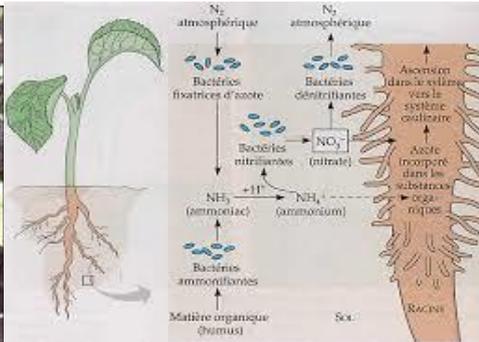




Les fruits infectés



## Les tiges infectées



## Les racines infectées



Agrobacterium tumefaciens

Galle



## PROTOCOLE POUR L'ISOLEMENT DES BACTÉRIES SUR DES MILIEUX DE CULTURE GÉLOSÉ (GN)

- Prendre le tissu végétal symptomatique, ensuite prélever des pièces du tissu infecté et les laver à l'eau du robinet



- Sectionner les pièces en deux et les mettre dans de l'eau physiologique stérile (NaCl 0,85%)
- Laisser tremper de 20 min à 2 heures selon le microbe recherché.
- À l'aide d'une anse à inoculer stérile, ensemercer par épaissement des milieux de culture gélosé (GN) afin d'obtenir des cultures.
- À la suite d'une incubation de 24 à 72 heures à 26° C, vérifier la croissance microbienne.
- Noter s'il y a présence de colonies caractéristiques et indiquer toutes les caractéristiques des microbes obtenus.