

Rôle du pouvoir glaçogène dans le processus infectieux de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* et de *Pseudomonas viridiflava* sur Kiwi

J.L. GAIGNARD, J. LUISETTI*

The ice nucleation activity of phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and *Pseudomonas viridiflava* is involved in the bacterial infection on kiwiplants.

J.L. GAIGNARD, J. LUISETTI

Fruits, vol. 47, n°4, p. 495-501.

ABSTRACT - Different strains of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* either INA + or INA -, one INA + strain of *Pseudomonas viridiflava* and two INA + strains of *Erwinia herbicola* were used to demonstrate that negative temperatures are required for the development of bacterial symptoms on kiwi (*Actinidia chinensis* Planch.) grown in containers or in tubes (*in vitro*). Frost damaged were observed only when ice nucleation within the tissues was induced. In addition, for the phytopathogenic *Pseudomonads*, typical bacterial infection developed on the leaves and on the twigs of the plants. On *in vitro* plants, previously sprayed with an INA - pv. *syringae* strain, only few damages were observed. We concluded that the ice nucleation activity of phytopathogenic *Pseudomonads* as well as negative temperatures are required for their penetration into the hostplant and their multiplication in the tissues.

Rôle du pouvoir glaçogène dans le processus infectieux de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* et de *Pseudomonas viridiflava* sur Kiwi.

J.L. GAIGNARD, J. LUISETTI

Fruits, vol. 47, n°4, p. 495-501.

RESUME - Après installation épiphyte de différentes souches de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* glaçogènes et non glaçogènes, d'une souche de *Pseudomonas viridiflava* glaçogène et de souches d'*Erwinia herbicola* glaçogènes, l'action du gel a été vérifiée sur plants de kiwi (*Actinidia chinensis* Planch.) conduits en conteneur et *in vitro*. Des dégâts de gel et de bactériose n'ont été constatés que lorsqu'il y a eu rupture de surfusion du fait de la présence de noyaux glaçogènes (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* et *Pseudomonas viridiflava* glaçogènes ou cristaux de glace). Dans le cas d'*Erwinia herbicola* glaçogène il s'agit seulement de dégâts de gel. Sur les vitroplants préalablement pulvérisés avec une souche de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* non glaçogène, les dégâts sont limités. Il apparaît que la mise en oeuvre du pouvoir glaçogène de souches de *Pseudomonas*, associée à des températures négatives, est nécessaire à la pénétration de ces bactéries et à leur développement infectieux dans les tissus.

KEYWORDS: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas viridiflava*, *Actinidia chinensis*, pathogenicity, ice nucleating bacteria, frost.

MOTS CLÉS : *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas viridiflava*, *Actinidia chinensis*, pouvoir pathogène, bactérie glaçogène, gel.

Introduction

A partir d'observations faites en vergers de poiriers dans le Val de Loire, RIDE (1967), puis LUISETTI et PAULIN (1972) constatent que les développements graves de dessèchement bactérien interviennent toujours après les gels tardifs de printemps. Au cours d'expérimentations, PANAGOULOS et CROSSE (1964), puis DURAND *et al.* (1967), confirment que plusieurs types d'affections bactériennes sur poirier, au printemps, sont associés à un effet cumulé du gel et de la présence de

Pseudomonas syringae pv. *syringae* sur les jeunes organes en cours de développement. La mise en évidence de l'activité glaçogène de souches des espèces *Pseudomonas syringae* (FRESH, 1973; MAKI *et al.*, 1974; LINDOW *et al.*, 1978; PAULIN et LUISETTI, 1978) et *Pseudomonas viridiflava* (PAULIN et LUISETTI, 1978), rencontrées en abondance à la surface des organes aériens des arbres fruitiers (CROSSE, 1959; ENGLISH et DAVIS, 1960; PANAGOULOS, 1966; ERCOLANI, 1969; BILLING, 1970; CAMERON, 1970; LUISETTI et PAULIN, 1972; LUISETTI et GAIGNARD, 1987), a permis de réexaminer la relation entre gel et bactériose. En 1978, LUISETTI, s'appuyant sur les résultats concernant le pouvoir glaçogène de ces *Pseudomonas* épiphytes, estime que ces bactéries pourraient initier, sur poirier, une rupture de surfusion et pénétrer ainsi par les microlésions formées lors de la prise en glace de la plante. ZELLER et

* J. L. GAIGNARD et J. LUISETTI, INRA, Station de Pathologie végétale et Phytobactériologie, Centre d'Angers, 42, rue G.-Morel, BP 57, 49071 Beaucozéd Cedex.

SCHMIDLE (1979) pour le cerisier et GROSS *et al.* (1984) pour l'abricotier émettent la même hypothèse. SÛLE et SEEMÛLLER (1987) montrent, expérimentalement, que des bactéries présentes en surface des organes gelés sont aspirées dans les espaces intercellulaires lors de la fusion de cristaux de glace présents dans les tissus. A partir d'observations réalisées au printemps en vergers de kiwi, LUISETTI et GAIGNARD (1987) concluent que le gel est un élément intervenant dans le processus infectieux de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* et de *Pseudomonas viridiflava* sur cet hôte. Cette hypothèse a donc été vérifiée expérimentalement sur des kiwis conduits soit en conteneur, soit en tube.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Les plants de kiwi de la variété Hayward sont maintenus en conteneurs de 5 litres dans un mélange terreux (1/3 sable de Loire, 1/3 terreau NF-U-44551 ; 1/3 tourbe NF-U-44051). Ce sont des plants de 2 ans, issus de boutures. Ils mesurent 1 m \pm 0,20 et comptent 10 à 20 feuilles. Ils sont introduits, la veille du jour de l'apport des bactéries, dans une cellule climatisée maintenue à la température de 22° / 18°C et soumise à une photopériode de 16 / 8 h.

Les vitroplants ont été préparés par le laboratoire de Physiologie végétale de l'École Nationale des Ingénieurs des Techniques Horticoles et du Paysage (Angers). La composition du milieu de culture, pour des raisons de secret industriel, n'a pas pu être communiquée. Ils ont été élevés dans une cellule de vitroculture à 24° / 19°C, 16 / 8 h, sous une intensité lumineuse de 3000 lux. Les vitroplants ont six semaines et trois à cinq feuilles au moment de leur utilisation.

Matériel microbiologique

Les souches bactériennes sont présentées dans le tableau 1. Il s'agit soit de mutants spontanés résistants à la streptomycine

et issus de souches de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas viridiflava* et *Erwinia herbicola* isolées de lésions sur kiwi ou de la microflore épiphyte du pêcher ou de la vigne, soit de souches naturelles de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ou *Erwinia herbicola* isolées de vigne. Toutes ces souches sont multipliées sur milieu LPGA (Extrait de levure BioMérieux, 7 gl⁻¹ ; Biogélytone BioMérieux, 7 gl⁻¹ ; Glucose monohydrate Prolabo, 7 gl⁻¹ ; Agar Agar type A Labo Ind. Biol., 15 gl⁻¹ ; pH 7 avant stérilisation à 120°C durant 25 mn) et incubées pendant 60 h à 16°C.

Méthodes d'inoculation et traitements thermiques

L'inoculum est préparé par une mise en suspension des bactéries dans de l'eau distillée stérile, à la concentration de 10⁷ bactéries par millilitre pour les plants en conteneurs, et de 10⁸ bactéries par millilitre pour les vitroplants. L'inoculation des plants en conteneurs est faite, dans une cellule climatisée, par pulvérisation sur les feuilles à l'aide d'un pulvérisateur de jardin alors que pour les vitroplants, elle est réalisée en ambiance stérile (hotte à flux laminaire) par dépôt d'inoculum sur chacune des feuilles, à l'aide d'une micropipette (microgouttes de 20 μ l).

Différents traitements, portant chacun sur quinze plants en conteneurs, ont été réalisés :

- un premier lot de plants a reçu une pulvérisation bactérienne, sept jours avant la date prévue pour le traitement par le froid. Une partie des plants pollués a alors été placée en chambre froide, alors que le reste du lot ne subissait pas de gel ;

- un deuxième lot de plants n'a reçu une pulvérisation bactérienne qu'à l'issue d'un séjour en chambre froide pendant lequel des cristaux de glace ont été projetés sur les feuilles ;

- un troisième lot enfin, a reçu simultanément que le lot précédent une pulvérisation bactérienne mais n'a pas séjourné au froid.

Tableau 1. Liste et caractéristiques des bactéries expérimentées sur plants en conteneur et vitroplants de kiwi.
(P. s. : *Pseudomonas syringae* ; E. : *Erwinia*).

Type d'expérimentation	Souche bactérienne	Espèce - pathovar	Plante hôte d'origine	Température de rupture de surfusion (a)
Kiwi en conteneur	JA.1.Sm ^r	<i>P. s.</i> pv. <i>syringae</i> ice +	Kiwi (lésion)	- 3°C
	862.7.Sm ^r	<i>P. s.</i> pv. <i>syringae</i> ice +	Pêcher (épiphyte)	- 3°C
	JF.144.3.Sm ^r	<i>E. herbicola</i> ice +	Vigne (épiphyte)	- 4°C
vitroplant de Kiwi	JF.189.19.Sm ^r	<i>P. s.</i> pv. <i>syringae</i> ice +	Kiwi (lésion)	- 2°C
	JF.92.19.Sm ^r	<i>P. viridiflava</i> ice +	Kiwi (lésion)	- 2°C
	JF.76.8.4.Sm ^r	<i>P. s.</i> pv. <i>syringae</i> ice +	Vigne (épiphyte)	- 2°C
	JF.425	<i>P. s.</i> pv. <i>syringae</i> ice -	Vigne (épiphyte)	< -5°C
	E.H.362.84	<i>E. herbicola</i> ice +	Vigne (épiphyte)	- 3°C

(a) Température déterminée *in vitro*, selon la méthode décrite par PAULIN et LUISETTI (1978).

Sur vitroplant, l'inoculum, pour chacune des cinq souches, a été apporté à une date déterminée puis treize jours après. Le matériel correspondant à chacune des souches et au témoin est ensuite réparti en deux lots de quatorze vitroplants : l'un des lots sera exposé au froid et l'autre ne subira pas de refroidissement.

Les expérimentations sur plants et vitroplants ont été conduites séparément. Le gel artificiel, de type convectif, est réalisé dans une chambre froide de 17 m³, équipée de parois de 140 mm d'épaisseur, selon la technique décrite par FLURA *et al.* (1991). Cette chambre est refroidie par un groupe réfrigérant utilisant le fluide R502 et réchauffée au moyen d'une résistance chauffante blindée (norme NF C15.100). Le groupe est piloté par un régulateur programme algorithme PID de classe 01 (norme DIN 43 760) permettant une précision de température de $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$. La température est abaissée de 1°C par minute jusqu'à 0°C et maintenue à ce niveau durant 15 mn avant le refroidissement ultérieur. Le refroidissement est réalisé par un abaissement linéaire de 2°C par heure, et ceci jusqu'à -4°C pour les plants et -3°C pour les vitroplants avec un pallier d'une heure à cette température. La température minimale pour les vitroplants est limitée à -3°C pour éviter la prise en glace du milieu de culture. L'humidité relative de la chambre varie de 60 à 80 % au cours de l'opération et le refroidissement est opéré dans l'obscurité. Les vitroplants sont maintenus dans leur tube, fermé.

Afin de suivre l'abaissement de la température et de s'assurer de la rupture de surfusion, la température est captée à l'aide d'un thermocouple piqué dans la tige de chacun des plants. Ce thermocouple, composé de deux fils, l'un de cuivre et l'autre de constantan, de 0,25 mm de diamètre (type HF/D-30 TT, Thermo Electric, Limeil Brevannes) et soudés finement à l'étain. On dispose de trente thermocouples reliés à un enregistreur / éditeur multipoint (modèle 4001, Chessel, Les Ulis), permettant la mesure de la température toutes les deux secondes.

Après le séjour d'une heure à cette température négative, les plants et vitroplants sont réinstallés, les premiers, dans la cellule climatisée et les seconds, dans la cellule de vitroculture.

Observations et analyses microbiologiques

Les observations de dégâts ont été réalisées 11 jours après le séjour au froid pour les plants en conteneurs et 5 jours après pour les vitroplants. Les feuilles des plants en conteneurs s'enroulent quand il s'agit de gel, du fait du dessèchement cellulaire. Les résultats sont alors exprimés en pourcentage de feuilles gelées. Les dégâts bactériens peuvent être assimilés à des "mosaïques" de taches (2 à 4 mm de diamètre) apparaissant à la surface de certaines feuilles gelées. Ces dégâts sont aussi exprimés en pourcentage de feuilles révélant ces symptômes. Les feuilles de vitroplant deviennent translucides quand elles sont gelées. Quand il y a développement infectieux, les tiges sont nécrosées (brunissement) (cas des souches de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) ou pourrissent (cas de la souche de *Pseudomonas viridiflava*).

Des isolements bactériens sont réalisés à partir des dégâts observés sur plants en conteneur, et incubés sur milieu LPGA

additionné de 50 µg l⁻¹ de Streptomycine (Sygma) et de 50 µg l⁻¹ de Cycloheximide (Sygma). La population bactérienne épiphyte des vitroplants a été déterminée par broyage dans de l'eau stérile avec un broyeur homogénéiseur (durée 10 s), de lots de vitroplants prélevés 2 h et 4 jours après l'inoculation. Cinq jours après le séjour au froid, des isolements bactériens, à partir de dégâts observés, ont été également réalisés. L'isolement et le dénombrement (étalement du broyat et de ses dilutions) sont faits sur milieu LPGA, additionné de Streptomycine pour les souches résistantes à cet antibiotique.

Résultats

Sur plants en conteneurs

Le passage en chambre de refroidissement des plants pollués artificiellement avec l'une ou l'autre des bactéries glaçogènes (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ou *Erwinia herbicola*) conduit au développement de dégâts de gel ; ces symptômes correspondent à un dessèchement cellulaire total ; on n'observera même, dans le cas des *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, aucune lésion infectieuse. La fréquence des organes gelés est toujours supérieure à 95 %. Dans le cas des plants témoins correspondants, c'est-à-dire pollués artificiellement avec l'un ou l'autre des *Pseudomonas*, dès le début de l'expérimentation, et non soumis par la suite à un refroidissement, ils ne montrent bien évidemment aucun dégât de gel mais un faible pourcentage de feuilles (6 à 7 %) présente un faciès infectieux typique (tableau 2).

Lorsque la bactérie glaçogène est apportée au niveau des plants venant de subir une rupture de surfusion, obtenue par projection de cristaux de glace au cours du séjour au froid et constatée au travers de l'enregistrement des températures, on observe des dégâts de gel avec une fréquence élevée dans le cas des *Pseudomonas* (92 et 93 %), et faible pour *Erwinia herbicola* mais aussi un faciès infectieux dans le cas d'un apport de *Pseudomonas*. La fréquence des symptômes bactériens, qui sont évolutifs, et à partir desquels l'isolement met en évidence des populations abondantes, est plus élevée dans le cas du *Pseudomonas* homologue (42 %) que dans le cas de l'hétérologue (29 %). Les plants témoins correspondants, c'est à dire pollués avec les mêmes bactéries en fin d'expérimentation mais n'ayant pas séjourné au froid, n'expriment aucun symptôme de bactériose.

Sur vitroplants

Cinq jours après le choc thermique d'une heure à -3°C, les vitroplants témoins ne présentent aucun symptôme ; en revanche, la plupart des vitroplants inoculés avec les 2 souches de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (12 et 14 sur 14) et la souche de *Pseudomonas viridiflava* (13 sur 14) glaçogènes et provenant de kiwi, sont gelés, montrant des feuilles plus ou moins translucides du fait du dessèchement cellulaire. Ces vitroplants présentent également des dégâts de type bactérien, en particulier au niveau des tiges, y compris pour la souche hétérologue du pathovar *syringae* provenant de vigne. Les vitroplants inoculés avec une souche glaçogène de *Erwinia herbicola* sont également gelés (organes translucides et desséchés mais ne présentant aucune lésion de type bactérien). En

Tableau 2. Influence de la qualité (pathogène / non pathogène) et du moment d'installation des populations bactériennes (avant / après le refroidissement) sur le développement de dégâts (de gel / de type bactérien) sur plants de kiwi élevés en conteneurs et soumis à un refroidissement (-4°C pendant 1 heure). (P. s. : *Pseudomonas syringae* ; E. : *Erwinia*).

Souche bactérienne	Traitement 1 (a)	Traitement 2 (b)	Traitement 3 (c)	Traitement 4 (d)
JA.1.Sm ^f <i>P. s. pv. syringae</i> ice +	95 % gel 0 % bactériose	0 % gel 7 % bactériose	92 % gel 42 % bactériose	0 % gel 0 % bactériose
862.7.Sm ^f <i>P. s. pv. syringae</i> ice +	100 % gel 0 % bactériose	0 % gel 6 % bactériose	93 % gel 29 % bactériose	10 % gel 0 % bactériose
JF.144.3.Sm ^f <i>E. herbicola</i> ice +	96 % gel	0 % gel	50 % gel	0 % gel

(a) Apport de la suspension bactérienne J -7 avant séjour au froid.
 (b) Apport de la suspension bactérienne J -7 sans séjour au froid.
 (c) Projection de cristaux de glace durant le séjour au froid et apport de la suspension bactérienne à la fin de celui-ci.
 (d) Apport de la suspension bactérienne au même moment que (c), sans séjour au froid.

revanche, 2 des 14 vitroplants inoculés avec la souche non glaçogène de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* montrent quelques dessèchements avec nécrose. Des vitroplants témoins, ayant été bactérisés en parallèle avec les mêmes souches, mais n'ayant pas séjourné au froid, sont restés indemnes de tout dégât (tableau 3).

Il est parfois difficile de faire la différence au niveau de l'observation entre un dessèchement consécutif à un gel et un brunissement résultant d'un développement infectieux ; c'est la raison pour laquelle des isolements ont été réalisés pour confirmer la nature des dégâts sur vitroplants, les bactéries n'étant réobtenues en quantité importante que lorsqu'il y a eu phase d'infection. Toutes les souches bactériennes ont été à nouveau isolées des vitroplants ayant subi un choc thermique. Les isolements réalisés à partir des symptômes sur feuilles et sur tiges provenant de dégâts de type bactérien fournissent des populations denses ; en revanche ceux réalisés à partir de dégâts de type gel (dessèchement) montrent des populations faibles.

Discussion

Des dégâts de type bactérien n'ont été obtenus, expérimentalement, que lorsque les plants et vitroplants ont subi un gel, justifié par une rupture de surfusion de l'eau des tissus, et qu'il y a une présence concomitante d'un *Pseudomonas* pathogène. Dans le cas d'une installation précoce de la bactérie sur plants en conteneur, celle-ci se multiplie et colonise l'ensemble de la feuille, ces populations sont à l'origine d'une rupture de surfusion et donc d'un gel généralisé et irréversible des plants ; c'est ce que l'on observe toujours dans ces conditions et ce qui a été décrit par divers auteurs (LINDOW *et al.*, 1978 ; PAULIN et LUISETTI, 1978). Dans le cas d'une pollution des plants à la sortie de la chambre froide, les bactéries pourront pénétrer par des microlésions formées précédemment lors de la cristallisation de l'eau dans les espaces intercellulaires et

permettre le développement d'une infection autour des points d'impact de gel. Les dégâts ainsi observés sont identiques à ceux décrits par OPGENORTH et LAI (1983), par LUISETTI et GAINARD (1987) et à partir desquels *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* est isolé et par WILKIE *et al.* (1973), par YOUNG (1986 et 1987), par LUISETTI et GAINARD (1987) et par VARVARO *et al.* (1990) dans lesquels *Pseudomonas viridiflava* a été mis en évidence. Il s'agit de brunissements pour les plants inoculés avec *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* et de pourriture pour ceux inoculés avec *Pseudomonas viridiflava*. La pourriture s'expliquerait par l'activité pectinolytique de cette espèce bactérienne comme l'ont démontrée LELLIOTT *et al.* (1966) et comme l'ont reproduite sur plante WILKIE *et al.* (1973).

Les résultats observés sur plants conduits en conteneurs et sur vitroplants sont en totale concordance. Il n'y a de développement infectieux que s'il y a eu rupture de surfusion *in vivo*, provoquée par la bactérie elle-même ou par des cristaux de glace, et présence d'une bactérie potentiellement pathogène (*Pseudomonas*). Dans le cas d'une bactérie glaçogène non pathogène (*Erwinia herbicola*), on n'observe que des dégâts de gel. Les deux aptitudes, glaçogène et pathogène, mises en œuvre sous conditions de température négative apparaissent donc complémentaires pour le développement des infections dues à *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* et *Pseudomonas viridiflava* sur kiwi. Ces observations concordent avec celles faites en vergers par LUISETTI et GAINARD (1987) qui constatent des dégâts de bactériose essentiellement sur des arbres ayant subi un gel. Un pourcentage certes faible (6 à 7 %) de nécroses d'origine infectieuse a été observé sur plants en conteneurs n'ayant pas séjourné en chambre froide, mais ayant reçu une pollution par *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 18 jours auparavant ; LUISETTI et GAINARD (1987) avaient également constaté, dans des parcelles particulièrement humides des dégâts sur kiwi, sans que leur apparition soit reliée à une quelconque période de températures négatives.

Tableau 3. Influence de la qualité et de la quantité des populations bactériennes apportées sur le développement des dégâts sur vitroplants de kiwi soumis à un refroidissement (-3°C pendant 1 h). (P. s. : *Pseudomonas syringae* ; E. : *Erwinia*).

Souche bactérienne	Population de surface (a)			Observations sur les vitroplants exposés au gel (b)	
	2 heures	4 jours	17 jours (c)	Dégâts 5 jours après gel	Réisolement des bactéries dans les tissus
Témoin eau	0	0	0	Pas de dégât	Pas de bactérie
JF.189.19 Sm ^r <i>P. s. pv. syringae</i> ice +	7,10	6,25	6,55	12 vitroplants gelés avec quelques brunissements/faciès bactérien 2 vitroplants sans dégât	Population dense
JF.92.19.Sm ^r <i>P. viridiflava</i> ice +	6,54	6,04	6,76	13 vitroplants gelés avec quelques brunissements et pourriture/faciès bactérien 1 vitroplant sans dégât	Population dense
JF.76.8.4.Sm ^r <i>P. s. pv. syringae</i> ice +	6,87	6,11	6,80	14 vitroplants gelés avec nécroses/faciès bactérien	Population dense
JF.425 <i>P. s. pv. syringae</i> ice -	7,25	7,15	6,61	2 vitroplants avec des feuilles desséchées 12 vitroplants sans dégât	Population faible
E.H. 362.84 <i>E. herbicola</i> ice +	7,81	7,91	7,75	14 vitroplants gelés, tige et feuilles desséchées	Population faible

(a) Logarithme du nombre moyen de bactéries par vitroplant.
 (b) Pour chaque lot, 14 vitroplants ont subi un gel d'une heure à -3°C, 13 jours après l'inoculation.
 (c) Population sur les vitroplants n'ayant pas séjourné au froid, ils ne présentent aucun dégât.

Ces résultats vont dans le sens de l'hypothèse émise, dès 1978, par LUISETTI qui constatait que les symptômes dus à *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* n'apparaissent sur poirier qu'après les coups de gel de printemps. Il reprenait alors le concept énoncé par GENEVEES en 1955 selon lequel l'accumulation de l'eau dans les tissus et sa cristallisation provoqueraient des décollements et des microlésions. Les cristaux de glace aussi bien que les suspensions de bactéries glaçogènes apportés sur les plants lors de la phase de refroidissement ont, en favorisant une rupture de surfusion de l'eau intercellulaire, provoqué la formation de cristaux dans les tissus et donc de microlésions utilisées par les bactéries de surface pour pénétrer dans les plants.

Il faut noter cependant qu'en règle générale, dans les vergers, les dégâts apparaissent souvent à des températures négatives plus proches de 0°C (HEWETT et YOUNG, 1981 ; LUISETTI et GAINARD, 1987). Cette différence de température pourrait s'expliquer soit par l'action concomitante de noyaux glaçogènes non bactériens et non encore identifiés ou de divers éléments liés à la plante intervenant dans la formation de la glace, comme le suspectent ASWORTH *et al.* (1985) et ANDERSON *et al.* (1987) sur le pêcher, soit par l'action d'une importante quantité d'eau dans les tissus comme l'ont montré

HEWETT *et al.* (1978), sur des bourgeons d'arbres fruitiers, et LUISETTI *et al.* (1991) sur des bourgeons de vigne. Le vitroplant de kiwi est un bon matériel végétal pour entreprendre des études de comportement au gel car il permet de modifier finement des paramètres pouvant influencer la rupture de surfusion (apport d'éléments nutritifs, de bactéries glaçogènes et de tout autre élément soupçonné d'avoir un rôle dans l'initialisation du gel). Le plant en conteneur pourrait alors être plus aisément utilisé pour déterminer le rôle de l'eau dans la rupture de surfusion de la plante dé-endurcie.

Les souches hétérologues de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, provenant soit de pêcher, soit de vigne, se sont bien installées sur les kiwis ; elles ont aussi provoqué une rupture de surfusion et engendré des dégâts bactériens sur kiwi, tout comme les souches homologues, mais avec des fréquences plus faibles. Ces résultats montrent qu'il n'y a pas une spécificité d'hôte stricte des souches de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* dans l'aptitude épiphyte et dans le pouvoir pathogène ; SEEMÜLLER et ARNOLD (1978), LATORRE et JONES (1979), GROSS *et al.* (1984), ENDERT et RITCHIE (1984), MALVICK et MOORE (1988) avaient d'ailleurs montré que certaines souches présentes sur un hôte pouvaient être pathogènes d'autres hôtes.

Conclusion

Les résultats présentés confirment le rôle du pouvoir glaciogène dans le processus infectieux initié par *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* et *Pseudomonas viridiflava* comme le suspectaient LUISETTI (1978), GROSS *et al.* (1984) et ZELLER et SCHMIDLE (1979); ils permettent aussi de lier le déclenchement du processus infectieux au printemps essentiellement à des refroidissements tardifs, comme l'avaient d'ailleurs constaté très tôt RIDE (1967), LUISETTI et PAULIN (1972) sur poirier et plus récemment LUISETTI et GAIGNARD (1987) sur kiwi. Ils confirment la nécessité de mener à la fois une lutte

antibactérienne contre *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* et *Pseudomonas viridiflava*, souvent associés dans la phase épiphyte (BILLING, 1970; YOUNG, 1987; LUISETTI et GAIGNARD, 1987) afin de réduire l'inoculum potentiel et une lutte antigel visant à limiter le refroidissement et la rupture de surfusion de l'eau à l'origine de microlésions, voies de pénétration essentielles pour ces microorganismes pathogènes.

Remerciements : Les auteurs remercient Gilles Forestier, étudiant à l'UFR Sciences de l'Environnement, Université d'Angers, pour sa participation à ce travail lors d'un stage de maîtrise.

Références

- ANDERSON (J.A.), ASWORTH (E.N.), DAVIS (G.A.). 1987.
Nonbacterial ice nucleation in Peach shoots.
J. Amer. Soc. Hort. Sci., 112, 215-218.
- ASWORTH (E.N.), ANDERSON (J.A.), DAVIS (G.A.). 1985.
Properties of ice nuclei associated with peach trees.
J. Amer. Soc. Hort. Sci., 110, 287-291.
- CAMERON (H.R.). 1970.
Pseudomonas content of cherry trees.
Phytopathology, 60, 1343-1346.
- CROSSE (J.E.). 1959.
Bacterial canker of stone-fruits. Investigation of a method for measuring the inoculum potential of cherry trees.
Ann. appl. Biol., 47, 306-317.
- DURAND (R.), LUISETTI (J.), MEYNIER (M.), RIDE (M.). 1967.
Infektion durch *Pseudomonas syringae* nach leichtem Frost.
X. Agrarmeteorologisches Dreiländertreffen Bavendorf, 3.
- ENDERT (E.), RITCHIE (D.F.). 1984.
Overwintering and survival of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and symptom development in peach trees.
Plant Dis., 68, 468-470.
- ENGLISH (H.), DAVIS (J.R.). 1960.
The source of inoculum for bacterial canker and blast of stone fruit trees.
Phytopathology, 50, 634 (Abstr.).
- ERCOLANI (G.L.). 1969.
Sopravvivenza epitifca di popolazioni di *Pseudomonas morsprunorum* Wormald da Ciliegi e di *Pseudomonas syringae* Van Hall da Pero sulla pianta ospite di provenienza e sull'altra pianta.
Phytopathol. Medit., 8 (3), 197-206.
- FLURA (D.), ITIER (B.), BRUN (O.), DURAND (B.), MASSON (S.). 1991.
Mise au point de chambres de refroidissement pour l'étude de la gélivité des bourgeons. Application au cas de la vigne.
Agronomie, 11, 383-386.
- FRESH (R.W.). 1973.
Microbiological production of freezing nuclei from decomposing tree leaves.
U.S.A. : Univers. Wyoming, Larami, Dept Atmos. Res., 15 p. Pep. AR. 106.
- GENEVES (L.). 1955.
Recherches sur les effets cytologiques du froid.
Rev. Cytol. Biol., 16 (1), 1-207.
- GROSS (D.C.), CODY (Y.S.), Proebsting (E.L.), Rademaker (G.), Spotts (R.A.). 1984.
Ecotypes and pathogenicity of ice-nucleation-active *Pseudomonas syringae* isolated from deciduous fruit tree orchards.
Appl. environ. Microbiol., 46, 1370-1379.
- HEWETT (E.W.), YOUNG (K.). 1981.
Critical freeze damage temperatures of flower buds of kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch.).
N. Z. Agric. Res., 24, 73-75.
- HEWETT (E.W.), YOUNG (K.), Proebsting (E.L.), Mills (H.H.). 1978.
Modification of critical freezing temperatures in fruit buds by elevated tissue water content.
HortScience, 13, 247-249.
- LATORRE (B.A.), JONES (A.L.). 1979.
Pseudomonas morsprunorum, the cause of bacterial canker of sour cherry in Michigan, and its epiphytic association with *Pseudomonas syringae*.
Phytopathology, 69, 335-339.
- LELLIOTT (R.A.), BILLING (E.), Hayward (A.C.). 1966.
A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic *Pseudomonads*.
J. appl. Bacteriol., 29, 470-489.
- LINDOW (S.E.), ARNY (D.C.), BARCHET (W.R.), UPPER (C.D.). 1978.
The role of bacterial ice nuclei in frost injury to sensitive plants.
In: *Plant cold hardiness and freezing stress*. New York : Li P.H., Sakai A. (ed.), 249-261. Acad. Press Inc.
- LUISETTI (J.). 1978.
L'influence du gel sur le développement des phytobactéries.
In: *Lutte contre les gelées*. Angers: Journées nationales d'information INVUFLEC, 1978, 89-98.
- LUISETTI (J.), PAULIN (J.P.). 1972.
Etudes sur les bactérioses des arbres fruitiers. III. Recherche de *Pseudomonas syringae* à la surface des organes aériens du poirier et étude de ses variations quantitatives.
Ann. Phytopathol., 4, 215-227.
- LUISETTI (J.), GAIGNARD (J.L.). 1987.
Deux maladies bactériennes du kiwi en France.
Phytoma, 391, 42-45.
- LUISETTI (J.), GAIGNARD (J.L.), DEVAUX (M.). 1991.
Pseudomonas syringae pv. *syringae* as one factor affecting the ice nucleation of grapevine buds in controlled conditions.
J. Phytopathol., 133, 334-344.

- MAKI (L.R.), Gaylan (E.L.), CHANG-CHIEN (M.M.), CADWELL (D.R.). 1974.
Ice nucleation induced by *Pseudomonas syringae*.
Appl. Microbiol., 28, 456-459.
- MALVICK (D.K.), MOORE (L.W.). 1988.
Population dynamics and diversity of *Pseudomonas syringae* on maple and pear trees and associated grasses.
Phytopathology, 78, 1366-1370.
- OPGENORTH (D.C.), LAI (M.). 1983.
Pseudomonas canker of kiwifruit.
Plant Dis., 67, 1183-1184.
- PANAGOPOULOS (C.G.). 1966.
Studies on the source of inoculum for blast and black pit of *Citrus*.
Proc. 1rst Cong. Mediterr. Phytopathol. Union, 340-345.
- PANAGOPOULOS (C.G.), CROSSE (J.E.). 1964.
Frost injury as a predisposing factor in blossom blight of pear caused by *Pseudomonas syringae* Van Hall.
Nature, 202, 1352.
- PAULIN (J.P.), LUISETTI (J.). 1978.
Ice nucleation activity among phytopathogenic bacteria.
Proc. 4th Int. Conf. plant Path. Bact., 725-731. Angers 1978.
- RIDE (M.). 1967.
Quelques problèmes d'actualité concernant l'étude des maladies bactériennes des végétaux.
Phytiat. -Phytoph., 16, 127-139.
- SEEMÜLLER (E.), ARNOLD (M.). 1978.
Pathogenicity, syringomycin production and other characteristics of *Pseudomonad* strains isolated from deciduous fruit trees.
Proc. 4th Int. Conf. Plant Path. Bact., 703-710. Angers 1978.
- SÛLE (S.), SEEMÜLLER (E.). 1987.
The role of ice formation of sour cherry leaves by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.
Phytopathology, 77, 173-177.
- VARVARO (L.), MAGRO (P.), MAINOLFI (P.). 1990.
Comparsa di *Pseudomonas viridiflava* su *Actinidia deliciosa* in Italia.
Inform. Fitopatol. 6, 49-53.
- WILKIE (J.P.), DYE (D.W.), WATSON (D.R.W.). 1973.
Further hosts of *Pseudomonas viridiflava*.
N. Z. J. Agric. Res., 16, 315-323.
- YOUNG (J.M.). 1986.
A variant of *Pseudomonas viridiflava* causing bacterial blight of kiwifruit.
Proc. EPPO Conf. Plant Dis., Angers, 21.
- YOUNG (J.M.). 1987.
Ice-nucleation on kiwifruit.
Ann. appl. biol., 111, 697-704.
- ZELLER (V.W.), SCHMIDLE (A.). 1979.
The effect of frost on the infection by *Pseudomonas syringae* Van Hall on leaves of sour cherries (*Prunus cerasus*).
Nachrichtenbl. dtsh. Pflanzenschutzdienst (Berlin), 31, 97-99

Rol del poder de formación de hielo en el proceso infeccioso de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y *Pseudomonas viridiflava* sobre el Kiwi.

J.L. GAIGNARD, J. LUISETTI

Fruits, vol. 47, n°4, p. 495-501.

RESUMEN - Después de la instalación de la epifiticia de diferentes cepas de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* formadoras y no formadoras de hielo, y de una cepa de *Pseudomonas viridiflava* formadora de hielo y de cepas de *Erwinia herbicola* igualmente formadoras de hielo, la acción del hielo fue verificada en plantas de Kiwi (*Actinidia chinensis* Planch.) mantenidas en contenedor e *in vitro*. Los daños del hielo y de la bacteriosis fueron constatados solamente cuando hubo ruptura de sobrefusión debida a la presencia de núcleos formadores de hielo (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y *Pseudomonas viridiflava* formadoras de hielo o cristales de hielo). En el caso de *Erwinia herbicola* formadora de hielo se trata únicamente de daños del hielo. Sobre vitropiantas previamente pulverizadas con una cepa de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* no formadora de hielo los daños son limitados. Parecería que la disposición del poder de formación de hielo de cepas de *Pseudomonas* asociado con temperaturas negativas, es necesario para la penetración de esas bacterias y de su desarrollo infeccioso en los tejidos.

PALABRAS CLAVES : *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas viridiflava*, *Actinidia chinensis*, poder patógeno, bacteria generadora de hielo, gelada.
