

**CONTRIBUTION A LA CONNAISSANCE SEROLOGIQUE
DE PSEUDOMONAS SYRINGAE pv PORRI ET A L'ETUDE DE LA
PROTECTION QU'IL INDUIT CHEZ LE TABAC**

Abdelhadi BENJAMA *

R E S U M E

Pseudomonas syringae pv *porri* provoque, comme tous les *Pseudomonas* phytopathogènes, une réaction d'hypersensibilité sur le tabac qui se traduit par un collapsus rapide du parenchyme suivi de la mort des cellules bactériennes. Quelques caractéristiques de cette réaction hypersensible bactérienne sont étudiées, en particulier par comparaison avec la réaction hypersensible virale.

Elle peut être inhibée par une préinfection des tabacs (*Nicotiana tabacum* var. « Xanthi nc » et « Samsun NN ») avec le virus de la Mosaïque du Tabac. Les nécroses locales virales réduisent ou suppriment la nécrose hypersensible provoquée par *P. s.* pv *porri*. Inversement, ces tabacs préinfectés avec la bactérie, manifestent des nécroses locales dues au TMV réduites en nombre et en taille.

L'acide polyacrylique, injecté en prétraitement, entraîne également une protection du tabac « Xanthi nc » vis-à-vis de la réaction hypersensible bactérienne. A forte dose de bactéries introduites, le collapsus est retardé. A dose moyenne, il inhibé : les cellules du parenchyme foliaire ne meurent pas. Des comptages de la population bactérienne dans les feuilles de tabac montrent alors que les bactéries infiltrées ne meurent pas non plus.

Cette protection du tabac contre une surinfection, tant après une première réaction hypersensible bactérienne, qu'après un pré-traitement à l'acide polyacrylique, s'accompagne, de l'apparition des « protéines b ». Ces protéines corespondent à celles décrites dans la littérature et qui apparaissent après réaction hypersensible virale ou fongique.

Les propriété antigéniques de *P. s. pv porri* sont ensuite étudiées. Cette bactérie (41 souches) est comparée à 60 souches de la même espèce *P. syringae* : *pv glycinea*, *pv lachrymans*, *pv mori*, *pv morsprunorum*, *pv persicae*, *pv phaseolicola*, *pv pisi*, *pv syringae* (plusieurs hôtes) et *pv tomato*.

Le *pv porri* est homogène sérologiquement, tant en agglutination, qu'en immunofluorescence et en immunodiffusion.

Le *pv porri* possède des antigènes communs avec d'autres pathovars qui sont facilement mis en évidence par microagglutination. L'absorption des anticorps communs montre que le *pv porri* possède également des antigènes spécifiques.

En immunofluorescence, les réactions croisées avec les autres pathovars sont moins fortes ; néanmoins, l'utilisation de cette technique pour la détection nécessitera d'absorber les sérums.

En immunodiffusion, une ligne de précipité apparait avec d'autres pathovars : *pv persicae*, *pv syringae* (oignon, haricot, saule, blé, maïs) et *pv tomato*. Mais les lignes relatives au *pv porri* révèlent toujours la présence d'antigènes spécifiques par une figure en éperon. Les sérums à protocoles court préparés avec des bactéries entières, intactes ou chauffées, donnent des résultats plus tranchés que ceux obtenus avec des extraits bactériens.

Le traitement des bactéries au formol, le chauffage au bain-marie et l'autoclavage n'améliorent pas la spécificité des réactions sérologiques de *Ps. s. pv porri*.

L'espèce *Ps. syringae* montre de nombreux antigènes communs entre les pathovars. Il est néanmoins possible d'identifier avec certitude *Ps. s. pv porri* par la technique d'immunodiffusion en utilisant des bactéries entières et un protocole d'immunisation court. La présence d'éperons et d'une ligne propre assurent en effet cette spécificité.

A B S T R A C T

Title : Contribution to the serology of *Pseudomonas syringae* pv *porri* and to the induced protection phenomena in *Nicotiana tabacum*.

Pseudomonas syringae pv *porri* induced, like other phytopathogenic Pseudomonads, a hypersensitive reaction of tobacco : the parenchyma cells collapsed rapidly followed by death of bacterial cells. Some characteristics of bacterial hypersensitivity were studied, particularly comparing to viral hypersensitivity.

Bacterial hypersensitivity was prevented preinfection of tobacco plants (*Nicotiana tabacum* var. « Xanthi nc » and « Samsun NN ») with Tobacco Mosaic Virus. Viral local necrosis reduced or suppressed hypersensitivity necrosis due to *P. s.* pv *porri*. Reciprocally, when tobacco plants were preinfected with bacteria, they had fewer and smaller TMV local lesions.

Pretreatment with polyacrylic acid induced a similar protection of tobacco plant « Xanthi nc » against bacterial hypersensitivity. With heavy bacterial doses (4×10^7 b/ml) tobacco collapse was delayed. With smaller doses (2×10^6 b/ml), collapse was inhibited : leaf parenchyma cells did not die. Enumeration of bacterial population extracted from leaf showed that infiltrated bacteria did not die either.

That tobacco cross protection, following either a bacterial hypersensitivity or a polyacrylic acid pretreatment, is accompanied by « b proteins » production. According to literature, such proteins appear during viral or fungal hypersensitive reactions.

Antigenic properties of 41 isolates *P. s.* pv *porri* were compared to 60 isolates of the same species *P. syringae* : pv *glycinea*, pv *lachrymans*, pv *mori*, pv *morsprunorum*, pv *persicae*, pv *phaseolicola*, pv *pisi*, pv *syringae* (from several hosts) and pv tomato.

Pv *porri* was serologically homogeneous by agglutination, immunofluorescent staining, and immunodiffusion techniques.

Pv *porri* shared with some other pathovars, common antigens that can easily be shown by microagglutination. Cross-absorption showed that pv *porri* possessed specific antigens.

Cross-reactions by immunofluorescent staining were fewer, but to detect bacteria with that technique one should use absorbed sera.

By immunodiffusion, bands appeared with some other pathovars : pv *persicae*, pv *syringae* (onion, bean, willow, wheat, maize) and pv *tomato*. Spurs on homologous bands revealed pv *porri* specific antigens. Short schedule prepared with intact or heated whole bacteria, gave more clear cut results than those obtained with bacterial extracts.

Formalin treatment, boiling or autoclaving bacteria, as inject antigens or test antigens, did not improve the specificity of serological reactions.

P. syringae shows numerous common antigens between its pathovars. Nevertheless, one can identify *P. s.* pv *porri* by immunodiffusion technic, using antisera to whole cells with short immunizing schedule. Spurs warrant pv *porri* specificity.

ان بكتريا *Ps syringae* pv. *porri* تملك مولدات الضد عامه *antigènes communs* مشتركة مع بقية الاشكال الاخرى لـ *Syringae* مثل *Pv. mors-prunorum*, *Pv. phaseolicola*, *Pv. lachrymans* هذه الصفة عرفت باستخدام اختبار *microagglutination* .

باستخدام اختبار *immunofluorescence* يتضح لنا بان الصلات والعلاقات المتصلة تكون في أقل مما هو عليه الحال باستخدام اختبار *microagglutination* . وللحصول على تفاعل خاص يجب امتصاص أو ادمصاص الاضرار المشتركة *anticorps* . أما في اختبار *immunodiffusion* فاننه يظهر لنا خط خاص لـ *Ps. s. Pv. porri* وخط مشترك مع بقية الاشكال الخاصة *pathovar* لكن مع شذون نتوء *eperon* كما في حالة *Pv. syringae*, *Ps. s. Pv. persicae* « للفامولية ، الصاليكس ، القمح ، الذرى الصفراء » و *Pv. tomato* .

ان الامصال *Serums* المنجزة بوقت قصير بلبكتريا الكامله اي أن هذا المصل يحتوي على نوعين من الامصال : مصل « ه » ومومصل جدار الخلية البكترية ، ومصل سوط الخلية البكتريا وهو *H* . أو في حالة تسخين البكتريا فان سوط الخلية البكترية تنفى فاعليته ، أي أن هناك نوع واحد من المصل ومومصل « ه » ، هذه الامصال أعطت نتائج واضحة أكثر من حالة استخدام مستخلصات البكتيرية . هذه الامصال أرمصت من قبل بعض السلالات من *Pv. syringae*, *Ps. s. Pv. persicae* « الكرز والذرة الصفراء » ومن ايضا *Pv. Tomato* .

ان اختبارات التجمع والحرص *agglutination* تظهر بان *Ps s. pv. persicae* تملك من ناحية مولدات الاضداد الخاصة *antigènes spécifiques* ، ومن ناحية أخرى تملك مولدات اضداد مشتركة مع الاشكال الخاصة *Pathovars* الاخرى من *Ps. syringae* التي تبدي اختلافات بسحب الشكل الخاص *pathovars* ، وبسحب نوع السلالة *souche* .

ان معاملة البكتريا المتجانسة أو الغير المتجانسة بالفرمول (*formol*) أو بالتسخين بالماء الساخن (*bain-mariè*) أو بالبخار (*autoclave*) لا يحسن من تفاعلات الخاصة لامصال البكتريا *Ps. s. Pv. Porri*

ان النوع البكتري *Ps. syringae* يظهر العديد من مولدات الاضداد المشتركة ما بين اشكاله الخاصة . ولتعدد وتمييز بكتريا *Ps.s. Pv. porri* عليه استعمال اختبار *immunodiffusion* مع استعمال البكتريا كاملة و *immunisation* بوقت قصير ، فان ظهور النتوء ، وأخط الخاص يندل على هذا الشكل الخاص .

ملخص

ان ظاهرة فرط الحساسية L'hypersensibilité لدى نبات التبغ تجاد تريا المرضة يظهر بصورة موت سريع Collapsus للخلايا البرانشميمية حقوذة بالبكتريا ، وهذا يؤدي الى موت الخلايا البكتيرية . هذه الظاهرة أن تمنح أو تشبب بمعاملة أولية Prétraitement لنبات التبغ Nicotiana Tabacum var. « Xanthine » et « Samsun NN ».

فيروس التبغ الفسيفسائي . « VMT » . ان موت النسيج المرصفي الناتج عن الاصابة الفيروسيية بـ V M T لنبات التبغ عليه أن تخفض أو يمنع تكوين نيكروز ظاهرة فرط الحساسية المسبب بالبكتريا . *Pseudomonas syringae* pv. *porri*

وبالعكس فان نبات التبغ المعامل أوليا بحمقة بكتريي يبدي نكروز موصفي فيروسيي لسبب الاصابة الفيروسيية بـ V M T . هذا النيكروز الفيروسيي حجمه وعدده أقل .

ان المعاملة الاولية لنبات التبغ « Xanthine » بـ «بولي اكريليك» *acide polyacrylique* قبل الاصابة الفيروسيية يؤدي الى حماية النبات شامها بذلك فعل ظاهرة فرط الحساسية الناتج عن *P.s. syringae* في هذه الحالة ان موت النسيج لا يتم وعدد البكتريا الحيلة في نبات التبغ يضل في مستوى المطول المحقونة بالنبات . ان حماية النبات بواسطة البكتريا ترافق بتركيب « بروتيني » يؤدي الى مقاومة النبات ، يمكن أن تطلق عليه « البروتينين » بـ B ، ويلاحظ هذا بعد الاصابه الفيروسيية أو الفطرية .

ان الشكل الخاص لـ *Ps. syringae* بصورة *pv. porri* ما هو الا عن شكل متجانس ومميز عن باقي الاشكال الاخرى لـ *Ps. syringae* بـبعض الصفات الكيمياءحيوية وبقوة تطفل *Pouvoir Pathogene*

ان دراسات الامصال Serologie تظهر بأنما شكل واحد من التجمع والخص *agglutinstion* ومن *immunofluorescence* ومن *immunodiffusion* بالمقارنة مع الاشكال الخاصة الاخرى من *Ps. syringae* مثل : *pv. mori*, *pv. lachrymans*, *pv. glycinae* ، *pv. pisi*, *pv. phaseolicola*, *pv. persicae*, *pv. mers-prunorum*, *pv. syringae* «البصل ، البندورة ، المانيولية ، الفاصولية ، الفليفلة ، الدران ، الايجاص ، البازيلياء ، الخوخ ، الصاليكس ، القمح ، الذرى الصفراء» ، *pv. tomato* ،

C O N C L U S I O N

L'étude de la résistance induite chez le tabac par une première infection avec *Ps. syringae* pv *porri* donne les mêmes résultats que ceux trouvés après champignon ou virus. Il apparaît en effet des « protéines b » chez *Nicotiana tabacum* var. « Xanthi nc » et « Samsun NN » après la réaction d'hypersensibilité bactérienne, en même temps que se développe une certaine résistance aux surinfections. L'utilisation de l'acide polyacrylique en préinfiltration dans des tabacs « Xanthi nc », dont on sait qu'elle provoque l'apparition des protéines b, inhibe la réaction d'hypersensibilité bactérienne. Les bactéries restent vivantes dans le tabac et leur population se maintient au même taux de bactéries par cm² 35 H après leur infiltration alors qu'elle chute brutalement lors d'une hypersensibilité normale. Les protéines b pourraient jouer un rôle dans ces phénomènes de prémunition.

En sérologie, *Ps. syringae* pv *porri* possède de nombreux antigènes qui sont variés. Parmi eux, on trouve des antigènes communs avec d'autres *Ps. syringae* et des antigènes spécifiques. Ces derniers sont principalement mis en évidence par immunodiffusion qui montre soit une ligne de précipitation spécifique soit un éperon, en plus d'une ligne commune avec d'autres *Ps. syringae*. Les protocoles d'immunisation choisis n'ont pas permis la réalisation d'un sérum spécifique au *Ps. syringae* pv *porri*. L'utilisation de bactéries chauffées ou autoclavées comme antigènes ne supprime pas les réactions croisées contrairement à ce qui figure dans la littérature.

La meilleure identification de l'agent de la graisse du poireau reste donc, après isolement et LOPAT :

- soit l'inoculation au poireau.
- soit la caractérisation biochimique secondaire.
- soit l'immunodiffusion.