

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université AKLI MOHAND OULHADJ-BOUIRA



Faculté : Sciences de la nature et de la Vie et Sciences de la Terre
Département : Sciences Agronomiques
Laboratoire de recherche de rattachement : LGVRNAQ Bouira

THÈSE
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Phytopathologie

Présentée par
HASSOUNA Mohamed Amine

Thème

**La dissémination de la tuberculose de l'olivier dans la région Bouira-
Béjaia-Tizi Ouzou : étude bioécologique et épidémiologique.**

Soutenue le : 09/01/2023

Devant le Jury composé de :

<i>Mme Mouhoub Sayah Chafika</i>	Pr	Univ. de Bouira	Présidente
<i>Mme Mahdi Khadidja</i>	MCA	Univ. de Bouira	Directeur de thèse
<i>Mme Mebdoua Samira</i>	MCB	Univ. de Bouira	Co Directeur de thèse
<i>Mme Oulbsir Mohand Kaci Hakima</i>	Pr	Univ. de Boumerdes	Examinatrice
<i>Mme Benzina Farida</i>	MCA	Univ. de Boumerdes	Examinatrice
<i>Mme Hamid Sonia</i>	MCA	Univ. de Bouira	Examinatrice

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Un travail de recherche n'est jamais totalement l'œuvre d'une seule personne, je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance et mes vifs remerciements à tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce travail en l'occurrence ma famille qui n'a jamais cessé de m'encourager.

En premier lieu je tiens à adresser mes remerciements les plus sincères à mon Directeur de thèse Mme MAHDI ainsi que ma co-promotrice Mme MEBDOUA pour vos orientations et conseils dès le début, votre gentillesse, amabilité et disponibilité, vous avez été un mentor, soyez ici grandement remercié.

Je tiens également à témoigner ma gratitude auprès de Mme MOUHOUB SAYEH, Mme HAMID qui m'ont fait l'honneur et le privilège de bien vouloir m'accorder leur temps afin d'évaluer ce travail.

Mes sincères remerciements sont adressés à Mme OULEBSIR MOHAND KACI, et Mme BENZINA d'avoir accepté d'évaluer notre travail, je suis reconnaissant de leur déplacement, et très honoré de leur présence avec nous le jour de la soutenance.

Ma reconnaissance va particulièrement à M. LAMINE qui a été au-delà de son statut d'enseignant, d'une grande aide pour moi.

Je tiens à remercier aussi tous ceux qui m'ont aidé à la récolte des échantillons, ceux qui m'ont orienté, accompagné ou reçu, particulièrement les DSA de (Bouira, Tizi-Ouzou, Bejaïa) et agriculteurs, sans vous ce travail n'aurait pas vu le jour, ainsi que pour toute aide matérielle.

Un merci particulier à tous les enseignants qui ont contribué à ma formation, ici à Bouira et à Tizi Ouzou. Je remercie notamment M. ABDELLI pour sa contribution.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, en guise de reconnaissance en guise de ce qu'ils sont à mes yeux, trouvez ici une once de tout l'amour que je vous porte, et de toute l'admiration que je vous voue.

Pour leur soutien moral et leur présence dans les moments de doute et de dur labeur, ma chère sœur, mes frères et mon épouse.

A mes deux petits anges qui comblent ma vie de joie Zyad et Lina.

A mon adorable nièce et mes neveux.

A Yassin qui m'a toujours aidé et soutenu.

Liste des abréviations

- **ADH** : Arginine Dihydrolase.
- **ADN** : acide désoxyribonucléique.
- **AFIDOL** : Association Française Interprofessionnelle De l'Olive.
- **ANIREFA** : Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière, Algérie
- **API 20 E** : Appareils et Procédés d'Identification, 20 tests pour Entérobactéries.
- **CABI** : Centre for Agricultural Bioscience International
- **COI** : Conseil Oléicole International.
- **EDS** : Eau Distillée Stérile.
- **FAOSTAT** : Food and agriculture data.
- **IAAL** : Indole 3 Acide Acétique Lysine synthétase.
- **INPV** : Institut National de la Protection des Végétaux.
- **INRA** : Institut National de la Recherche Agronomique.
- **ITAF**: Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne
- **JOEU** : Journal Officiel Union Européenne.
- **JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne.
- **LOPAT** : Levane/ Oxydase/ Activité Pectinolytique/ Arginine dihydrolase/ Hypersensibilité sur Tabac (tests d'identification).
- **MADR** : Ministère de l'Agriculture et du Développement Durable.
- **MAPM** : Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime.
- **NAS** : Nutritive Agar Saccharose.
- **EPPO** : European and Mediterranean Plant Protection Organization (Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes).
- **Pb** : Paire base.
- **PCR** : Polymerase Chain Reaction (réaction de polymérisation en chaîne).
- **PG** : Phylogroupes.
- **PNO** : Plan National Oléicole.
- **Pv** : Pathovar.
- **QE** : Quotient pluviothermique d'Emberger.
- **SAR** : Systemic Acquired Response (réponse systémique acquise).
- **SAU** : Surface Agricole Utile.
- **TI** : Tumor Inducing.

- **USDA** : United States Department of Agriculture (le département de l'Agriculture des États-Unis).

Liste des figures

Figure 01 : Stades phénologiques de l'olivier.....	11
Figure 02 : Phases de maturation du fruit.....	12
Figure 03 : Principaux pays oléicoles dans le monde.....	13
Figure 04 : Principaux pays producteurs et consommateurs d'huile d'olive.....	14
Figure 05 : La mouche de l'olivier.....	19
Figure 06 : La psylle de l'olivier.....	19
Figure 07 : La teigne de l'olivier.....	20
Figure 08 : La cochenille de l'olivier.....	21
Figure 09 : Œil de paon sur feuille d'olivier.....	21
Figure 10 : La cercosporiose de l'olivier.....	22
Figure 11 : La verticilliose de l'olivier (symptômes de dessèchement apparents sur les vaisseaux conducteurs et sur l'ensemble de l'arbre.....	23
Figure 12 : Symptômes de la tuberculose de l'olivier.....	29
Figure 13 : Cycle de la tuberculose de l'olivier.....	32
Figure 14 : Distribution de <i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> dans le monde.....	35
Figure 15 : Localisation des vergers de la zone prospectée.....	41
Figure 16 : Distribution des sites prospectés.....	50
Figure 17 : Procédure d'analyse des échantillons de nœuds d'oliviers.....	53
Figure 18 : Préparation de tranches de pomme de terre pour le test pectinase.....	57
Figure 19 : Injection de la suspension bactérienne dans la nervure de feuille de Tabac.....	59
Figure 20 : Lecture de la galerie Api 20E.....	62
Figure 21 : Plant d'olivier sain servant au test de phytopathogénéicité.....	63
Figure 22 : Etages bioclimatiques de la région d'étude (calcul du QE).....	71
Figure 23 : Tumeurs (nœuds) observées lors de la prospection d'un verger.....	73
Figure 24 : Pourcentage de vergers atteints dans la wilaya de Bouira.....	78
Figure 25 : Incidence de la tuberculose de l'olivier dans le verger échantillonné de la wilaya de Bouira.....	78
Figure 26 : Pourcentage de vergers atteints dans la wilaya de Tizi-Ouzou.....	79
Figure 27 : Incidence de la tuberculose de l'olivier dans le verger échantillonné dans la wilaya de Tizi-Ouzou.....	80

Figure 28 : Pourcentage de vergers atteints dans la wilaya de Bejaïa.....	81
Figure 29 : Incidence de la tuberculose de l'olivier dans le verger échantillonné dans la wilaya de Bejaïa.....	81
Figure 30 : Cartographie de la tuberculose de l'olivier dans les sites prospectés.....	84
Figure 31 : Intensité d'attaque globale dans la région d'étude.....	84
Figure 32 : Triangle de la maladie expliquant la propagation des symptômes dans un arbre.....	85
Figure 33 : Aspect de cultures sur milieu solide.....	87
Figure 34 : Cultures ayant présentées une fluorescence caractéristique.....	84
Figure 35 : Test de Gram positif	89
Figure 36 : Aspect microscopique de <i>P. savastanoi</i>	89
Figure 37 : Test Levane négatif.....	90
Figure 38 : Test Levane positif.....	90
Figure 39 : Réaction d'oxydase négative.....	91
Figure 40 : Réaction négative au test de pectinase.....	91
Figure 41 : Test ADH négatif sur galerie Api 20 ^E	92
Figure 42 : Réaction d'hypersensibilité sur feuille de Tabac positive.....	93
Figure 43 : Réaction de catalase positive.....	93
Figure 44 : Test de phytopathogénéicité positif sur plant d'olivier.....	95
Figure 45 : Test de phytopathogénéicité sur les tranches de carotte (a- positif, b-négatif)	96
Figure 46 : les nœuds formés sur les différentes variétés d'olivier : (a- Arbequina, b- Chemlal, c- Sigoise).....	97
Figure 47 : Diamètres moyens des nœuds obtenus dans l'essai pathogénicité de souche Bou vis à vis des quatre cultivars de l'olivier.....	98
Figure 48 : Résultats négatifs de tests de phytopathogénicité (a- laurier rose, b- jasmin d'hiver, c- jasmin blanc).....	99
Figure 49 : Visualisation des produits d'amplification PCR du gène <i>iaaL</i> provenant de quelques souches.....	100
Figure 50 : Répartition des bactéries associées aux nœuds d'olivier.....	102

Liste des tableaux

Tableau I : Principales variétés d'olivier en Algérie.....	17
Tableau II : Evolution des superficies et des productions oléicoles dans la wilaya de Bouira.....	43
Tableau III : Evolution des superficies et des productions oléicoles dans la wilaya de Tizi Ouzou.....	44
Tableau IV : Evolution des superficies et des productions oléicoles dans la wilaya de Béjaia.....	46
Tableau V : Caractéristiques des vergers échantillonnés.....	55
Tableau VI : Préparation du mélange réactionnel de PCR.....	66
Tableau VII : Représentation des données relatives aux étages bioclimatiques (2012-2022).....	69
Tableau VIII : Incidence de la tuberculose de l'olivier dans la région centre de l'Algérie	75
Tableau IX : Incidence globale de la maladie en fonction de la wilaya.....	76
Tableau X : Incidence par verger de la maladie en fonction de la wilaya.....	77
Tableau XI : Intensité d'attaque des arbres dans toute la région d'étude.....	83
Tableau XII : Intensité d'attaque des arbres en fonction de la wilaya.....	85
Tableau XIII : Identification phénotypiques des souches confirmées par la PCR.....	101

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

Etude bibliographique

1. Généralités sur olivier.....	03
1.1. Origine géographique.....	03
1.2. Origine génétique.....	03
1.3. Classification botanique de l'olivier.....	04
1.4. Caractéristiques morphologiques.....	05
1.4.1. Système racinaire.....	05
1.4.2. Les organes aériens.....	05
1.4.2.1. Le tronc.....	05
1.4.2.2. Les charpentières.....	06
1.4.2.3. La frondaison.....	06
1.4.2.4. Les rameaux fructifères.....	06
1.4.2.5. Le fruit.....	07
1.5. Cycle végétatif et stades phénologiques.....	07
1.5.1. Repos végétatif.....	07
1.5.2. Induction florale.....	07
1.5.3. Différenciation florale.....	08
1.5.4. La pollinisation.....	08
1.5.5. La nouaison.....	08
1.5.6. La maturation.....	09
1.6. Exigences pédo-climatiques de l'olivier.....	09
1.6.1. Température.....	09
1.6.2. Pluviométrie.....	09
1.6.3. Humidité.....	10
1.6.4. pH.....	10
1.6.5. Sol.....	10
1.6.6. Lumière.....	10
1.7. Oléiculture dans le monde.....	12

1.8. Oléiculture en Algérie.....	15
2. Principaux ravageurs et maladies de l'olivier.....	18
2.1. La mouche de l'olive (<i>Bactrocera oleae</i> ou ancien nom latin <i>Dacus oleae</i>).....	18
2.2. La psylle de l'olivier.....	19
2.3. La teigne de l'olivier.....	20
2.4. La cochenille noire de l'olivier.....	20
3. Principales maladies de l'olivier en Algérie.....	21
3.1. L'œil du paon.....	21
3.2. La cercosporiose.....	22
3.3. La verticilliose.....	22
3.4. La tuberculose de l'olivier.....	23
4. Tuberculose de l'olivier.....	24
4.1. Généralités sur le groupe des <i>Pseudomonas</i>	24
4.2. Historique sur l'agent causal.....	24
4.3. Taxonomie.....	25
4.4. Plantes hôtes de la bactérie.....	26
4.5. Symptômes et dégâts.....	27
4.6. Relation hôte pathogène.....	30
4.7. Epidémiologie et cycle de la maladie.....	30
4.8. La tuberculose de l'olivier dans le monde.....	32
4.8.1. Isolement.....	32
4.8.2. Tests biochimiques.....	33
4.8.3. Confirmation par test de phytopathogénicité.....	33
4.8.4. Confirmation par tests moléculaires.....	34
4.9. La tuberculose de l'olivier dans le monde.....	34
4.10. Lutte et contrôle.....	35
4.10.1. Eradication.....	36
4.10.2. Sensibilité des cultivars.....	36
4.10.3. Contrôle direct.....	37
4.10.3.1. Contrôle chimique.....	37
4.10.3.2. Lutte biologique.....	38

Etude expérimentale

1. Matériel et méthodes.....	40
------------------------------	----

1.1. Présentation de la région d'étude.....	40
1.1.1. Localisation et potentiel.....	40
1.1.2. Données climatiques.....	46
1.2. Matériel.....	47
1.2.1. Matériel biologique.....	47
1.2.2. Matériel de prélèvement.....	57
1.2.3. Matériel d'analyse.....	48
1.3. Méthodes.....	49
1.3.1. Prospection de distribution de la tuberculose de l'olivier dans la zone d'étude.....	49
1.3.2. Evaluation de l'incidence et l'intensité d'attaque.....	50
1.3.3. Procédure d'échantillonnage.....	51
1.3.4. Procédure d'analyse.....	53
1.3.4.1. Isolement à partir des tumeurs.....	54
1.3.4.2. Caractérisation phénotypique des isolats.....	54
1.3.4.3. Tests de phytopathogénicité.....	62
1.3.4.4. Identification moléculaire par test PCR.....	64
1.3.5. Analyse statistique.....	67
2. Résultats et discussion.....	68
2.1. Résultats de l'étude bioclimatique.....	68
2.2. Prospection sur terrain.....	71
2.2.1. Symptômes.....	72
2.2.2. Incidence de la maladie.....	74
2.2.3. Intensité d'attaque de l'arbre.....	82
2.3. Isolement et caractérisation phénotypique de l'agent pathogène.....	87
2.3.1. Aspect des cultures.....	87
2.3.2. Fluorescence.....	88
2.3.3. Test Gram.....	88
2.2.4. Examen microscopique par coloration de Gram.....	89
2.3.5. Test de Levane.....	90
2.3.6. Test oxydase.....	90
2.3.7. Test pectinase.....	91
2.3.8. Test arginine dihydrolase.....	92
2.3.9. Test de l'hypersensibilité sur feuilles de tabac.....	92

2.3.10. Test catalase.....	93
2.3.11. Tests biochimiques sur galerie Api 20 ^E	94
2.4. Test de phytopathogénéicité.....	94
2.4.1. Test sur plant d'olivier.....	94
2.4.2. Test sur tranche de carotte.....	96
2.4.3. Résultats des tests complémentaires.....	97
2.4.3.1. Test de phytopathogénéicité sur les plants d'olivier (essai variétal).....	97
2.4.3.2. Test de phytopathogénéicité sur les plantes hôtes.....	99
2.5. Confirmation moléculaire par Test PCR.....	100
2.6. Bactéries associées aux nœuds d'olivier.....	102
Conclusion et Perspectives.....	108
Références bibliographiques.....	111
Annexes	

Introduction

Introduction

Olivier (*Olea europaea*), ancien arbre fruité cultivé dans le monde entier notamment le bassin méditerranéen, ayant une grande importance nutritionnelle, économique, et sociale (Guo et al., 2018 ; Zohary et Spiegel-Roy, 1975). L'oléiculture en Algérie remonte à la plus haute antiquité représentant plus de 50% du verger arboricole national.

En 2000, l'Algérie avait lancé un programme de plantation de 500 000 Ha d'olivier en intensif dans le nord et le sud du pays (Argenson, 2004) essentiellement avec les variétés les plus dominantes Chemlal et Sigoise. En 2019, elle a occupé la neuvième place mondiale avec une superficie récoltée de 431 634 ha et une production d'olive de 868 754 tonnes, réparties sur tout le territoire national (FAOSTAT, 2021). Cette culture est concentrée principalement dans la région centre, constituant une source de revenu significative pour la population rurale.

L'augmentation des superficies oléicoles et le mode de production en intensif ont engendré des problèmes phytosanitaires rendant les oliviers sensibles aux maladies d'origine fongique (Benchaabane, 2010), aussi à d'autres maladies bactériennes (Benyoub, 2011), nécessitant d'efforts importants en terme de maîtrise des différentes pratiques culturales liées à la multiplication de plants en pépinière, les travaux d'entretien, la fertilisation raisonnée, l'irrigation, la protection phytosanitaire.

Parmi les maladies bactériennes qui peuvent toucher l'olivier, la tuberculose causée par *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* est la plus rencontrée en Algérie. Cette bactérie peut survivre sur les oliviers en tant qu'épiphyte, et est un agent phytopathogène opportuniste des plaies (Nguyen, 2017) responsable d'une hypertrophie et hyperplasie caractéristiques nommées galles (tumeurs) sur la partie aérienne d'olivier ; rameaux, tronc (Roberto et al., 1990), et occasionnellement sur feuilles et fruits (Ramos et al., 2012 ; Sisto et al., 2004). Largement répandue dans le sol, l'eau et l'air, sous forme d'un bâtonnet à Gram négatif, mobile par ciliature péritriche, et produisant un pigment fluorescent jaune-vert soluble sur milieu King B. D'après le schéma LOPAT, la bactérie s'avère levane négative, oxydase négative, absence d'activité pectinolytique, et d'arginine dihydrolase, et une réaction positive d'hypersensibilité sur feuilles de tabac (Bradbury, 1986).

Plusieurs facteurs interviennent dans le déclenchement du processus infectieux tels que les blessures qui peuvent être naturelles comme celles causées par la chute des feuilles ou mécanique dues à la taille. L'effet des insectes est non négligeable aussi, il a été démontré qu'un homoptère (*Ceresa* sp.) qui en déposant ses œufs provoque des plaies constituant un site d'infection par la bactérie (Jardak et al., 2004). En effet, le pathogène induit un fragment

d'ADN (TADN), situé sur un plasmide spécifique désigné par TI (Tumor Inducing), son expression dans la cellule hôte induit la synthèse d'hormones (acide indole-3-acétique et cytokinines) (Matas et al., 2009), et d'acides aminés (opines) par les cellules transformées. En plus de la production de phytohormones, *P. savastanoi* possède un système de sécrétion de type III qui joue un rôle vital en tant que facteur de virulence (Sisto et al. 2004). La tumeur ainsi formée peut croître en absence du pathogène (Comai et Kosuge, 1980 ; Iacobellis et al., 1994 ; Lepoivre, 2007 ; Pérez-Martínez et al., 2010 ; Surico et al., 1977). Il semblerait que *P. savastanoi* a besoin de signaux libérés par la plaie de la plante pour activer la formation de la tumeur (Surico, 1993).

En Algérie, cette bactérie a été décrite depuis la période coloniale, et considérée comme organismes nuisibles de quarantaine de la liste A2, dont l'introduction est interdite s'ils se présentent sur végétaux d'olivier destinés à la plantation d'après le Décret exécutif n° 93-284 réglementant le contrôle phytosanitaire aux frontières (JORA, 1993). L'intensification des systèmes de production a augmenté le risque de contamination, cependant, il n'existe pas de données officielles quant à la situation actuelle en Algérie.

Ce pathogène peut infecter aussi d'autres hôtes, en particulier le laurier-rose (*Nerium oleander*), le frêne (*Fraxinus excelsior*), le troène (*Ligustrum japonicum*), le jasmin (*Jasminum officinale* L.) sur lesquels ils provoquent des maladies similaires au nœud d'olivier (Marchi et al., 2005). Plus récemment, le myrte (*Myrtus communis* L., *Myrtaceae*) et le nerprun (*Rhamnus alaternus* L., *Rhamnaceae*) ont été signalés comme hôtes de *P. savastanoi* (Saad et Hanna, 2002 ; Lamichhane et Varvaro, 2013).

Les nœuds d'oliviers sont des niches idéales pour la croissance bactérienne, non seulement de l'agent causal de la maladie, mais aussi d'un certain nombre d'espèces endophytes de la classe des Gammaprotéobactéries telles que *Erwinia toletana*, *Pantoea agglomerans*. Ainsi que d'autres bactéries du genre *Burkholderia*, *Hafnia*, *Pseudomonas* et *Stenotrophomonas* (Marchi et al., 2006 ; Moretti, 2011; Ouzari et al., 2008).

Cette maladie est considérée comme un important problème qui menace l'oléiculture, car elle affecte la croissance végétative, le rendement en olive et la qualité d'huile produite (Bouaichi et al., 2019 ; Penyalver et al., 2006).

L'objectif de notre étude est la détermination de la distribution de la tuberculose de l'olivier dans les oliveraies des régions de Bouira-Bejaia-Tizi-ouzou et l'analyse de quelques facteurs associés à l'infestation d'une part, et d'autre part, l'isolement, l'identification, et la caractérisation de l'agent pathogène *P. savastanoi*, et éventuellement l'identification d'autres germes associés.

Etude

bibliographique

1. Généralités sur l'olivier

1.1. Origine géographique

L'olivier a une origine très ancienne. Son apparition et sa culture remonterait à la préhistoire. Selon Miner (1995), l'origine de l'olivier se trouve précisément dans les pays en bordure de berceau des civilisations qu'est la méditerranée : Syrie, Égypte, Liban, Grèce ou Rome et autres, bien que d'autres hypothèses soient admises mais celle de Decandolle est la plus fréquemment retenue ; qui désigne que la Syrie et l'Iran comme lieux d'origine de l'olivier (Loussert et Brousse, 1978).

L'expansion de sa culture est faite de l'Est vers l'Ouest de la méditerranée grâce aux Grecs et aux Romains lors de leur colonisation du bassin méditerranéen (Breton et *al.*, 2006 ; Loussert et Brousse, 1978).

Selon Camps (1974) in Camps-Farber (1974), en Afrique du Nord les analyses de charbons et de pollens conservés dans certains gisements ibéro-maurusiens ou caspiens attestent que l'oléastre existait dès le XII millénaire et certainement avant.

L'olivier a poursuivi son expansion au-delà de la Méditerranée avec la découverte de l'Amérique en 1492. Au cours des périodes plus récentes, l'olivier se trouve dans l'Afrique du Sud, l'Australie, le Japon et la Chine (Cavaillès, 1938).

En Algérie, la culture de l'olivier remonte à la plus haute antiquité. Nos paysans s'y consacraient avec art durant plusieurs siècles (Alloum, 1974). L'olivier et ses produits constituaient alors l'une des bases essentielles des activités économiques de nos populations rurales. L'huile d'olive faisait l'objet d'un commerce intense entre l'Algérie et Rome, durant l'époque romaine. Depuis cette époque, l'histoire de l'olivier se confond avec l'histoire de l'Algérie et les différentes invasions ont eu un impact certain sur la répartition géographique de l'olivier (Mendil et Sebai, 2006).

1.2. Origine génétique

L'origine génétique de l'olivier est jusqu'à présent méconnue et imprécise, ils ont toujours considéré que l'oléastre est l'ancêtre de l'olivier (Breton et *al.*, 2006).

Une étude effectuée par Guillaume Besnard en 1999, sur la diversité génétique de l'olivier cultivé et les formes sauvages apparentées montre que la sélection des variétés que l'on cultive

aujourd'hui serait le résultat d'un isolement ancestral de 3 populations d'oliviers : Afrique du Sud, Asie et Bassin Méditerranéen (Besnard et *al.*, 2009).

Divers travaux ont suggéré que le croisement entre les formes cultivées et/ou les formes sauvages est à l'origine des cultivars que nous avons hérités (Breton et *al.*, 2006 ; Idrissi et Ouzzani, 2003).

Les civilisations orientales avaient les compétences et les ressources génétiques pour réussir la domestication de l'olivier. Selon (Besnard et *al.*, 2013 ; Vasilopoulos, 2013), le processus de domestication a eu lieu il y a environ 6.000 ans.

1.3. Classification botanique de l'olivier

La classification botanique de l'olivier se présente ainsi selon Guignard et Dupont (2004) :

Règne : *Plantae*.

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Astéridées

Ordre : Lamiales

Famille : Oléacées

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea*

Le complexe *Olea europaea* comprend six sous-espèces : *O. europaea subsp. europaea*, *O. europaea subsp. cuspidata*, *O. europaea subsp. laperrinei*, *O. europaea subsp. maroccana*, *O. europaea subsp. cerasiformis* et *O. europaea subsp. guanchica*.

L'olivier cultivé et ses espèces sauvages apparentées méditerranéennes ont en outre été reconnus comme différentes variétés et, respectivement, définies comme *O. e. subsp. europaea var. europaea* et *O. e. subsp. europaea var. sylvestris* (Green, 2002). Cette distinction est actuellement encore débattue car elle reposait en grande partie sur des traits morphologiques, tels que les caractéristiques des petits fruits et de la taille de la fosse de la variété sauvage, une approche considérée comme très imprécise et une source potentielle d'inexactitudes (Ganino et *al.*, 2006).

Il existe deux formes de la sous espèce *europaea*, sauvage et cultivée qui présentent une bonne affinité au greffage. Leur coexistence dans la méditerranée a été déduite par les découvertes archéologiques et paléobotaniques (Terral et *al.*, 2004).

D'après Daoudi (1994) l'oléastre est une espèce rustique avec une longévité plus grande que l'espèce cultivée. Les oliviers sauvages se reproduisent sexuellement, leur pollinisation est anémophile (Alcantara et Rey, 2003).

1.4. Caractéristiques morphologiques

L'olivier se distingue des autres espèces fruitières par sa grande longévité et également par sa grande rusticité qui lui permet de se développer et de fructifier sous des conditions de climat sub-aride et parfois sur des sols très pauvres.

1.4.1. Système racinaire

L'olivier présente un système racinaire puissant, qui confère à la plante une adaptation à la profondeur et aux caractéristiques physiques et chimiques du sol.

Selon Civantos (1998), le développement en profondeur peut se situer entre 15 à 150 cm. Selon la texture du sol, dans les sols sablonneux, les racines peuvent atteindre jusqu'à 6m de profondeur.

Le système racinaire est pivotant s'il est issu de plants de semis et fasciculé s'il est obtenu par bouturage.

1.4.2. Les organes aériens

La partie aérienne d'un plant d'olivier comprend : le tronc, les charpentières, la frondaison et les rameaux fructifères (Loussert et Brousse, 1978).

1.4.2.1. Le tronc

La hauteur du tronc dépend du porte greffe et le mode de conduite adopté de l'olivier peut atteindre une hauteur de 8 à 10 mètres alors que pour d'autres ne dépassant pas les 3 à 5 mètres.

D'après Pagnol (1975), le tronc d'olivier est tout d'abord lisse, gris verdâtre durant dix années environ. Puis au vieillissement, il se déforme en devenant noueux, crevassé, fendu, élargi à la base et d'une couleur gris foncé presque noire.

1.4.2.2. Les charpentières

C'est l'ensemble des ramifications constituant la charpente de l'arbre. Il s'agit des charpentières maîtresses ou branches mères qui prennent naissance sur le tronc et des sous-charpentières ou sous branches mères qui se développent sur les charpentières (Loussert et Brousse, 1978). Ces sous-charpentières portent des rameaux feuillés et des rameaux fructifères.

1.4.2.3. La frondaison

Elle est constituée principalement par l'ensemble du feuillage. La feuille de l'olivier est simple, entière, à pétiole court et à limbe lancéolé qui se termine par un mucron, les feuilles sont opposées et persistantes, leur durée de vie est de l'ordre de 3 ans (Bruneton, 1999).

La couleur sur la face supérieure est vert foncé, brillante en raison de la présence de cire, tandis que sur le dessous est blanc argenté, recouvert de trichomes, qui servent à contrôler la perte d'eau par les stomates, ainsi que des filtres légers (Barone et *al.*, 1994).

1.4.2.4. Les rameaux fructifères

Des rameaux secondaires supportant des rameaux tertiaires qui porteront les fleurs puis les fruits. L'inflorescence de l'olivier est une panicule (Chol et Laury, 2005), verte puis blanche du fait de la présence des pétales, elle peut mesurer de 10 à 70 mm et contenir entre 10 et 40 fleurs, les inflorescences insérées aux extrémités distales du rameau sont de taille plus petite (Lavee et *al.*, 1996).

Le développement de l'inflorescence dure de 30 à 45 jours et est influencé par des facteurs environnementaux et nutritionnels (Tombesi et *al.*, 1996).

Les fleurs sont hermaphrodites avec une formule florale simple de 4 sépales, 4 pétales, 2 étamines, 2 carpelles (Argenson et *al.*, 1999).

1.4.2.5. Le fruit

Appelé drupe d'un diamètre compris entre 1 et 3 cm à une seule graine, composé de trois tissus principaux : endocarpe, mésocarpe et exocarpe, l'ensemble de ces trois tissus est appelé péricarpe (De la Rosa et *al.*, 2008).

Le mésocarpe charnu et riche en lipide (Argenson et *al.*, 1999). L'endocarpe ou noyau dur, généralement fusiforme.

La couleur de l'épiderme ou l'exocarpe ainsi que les formes du mésocarpe et de l'endocarpe constituent des caractères variétaux (Chol et *al.*, 2005).

A maturation, l'épiderme passe de la couleur vert tendre (olive verte), à la couleur violette ou rouge (olive tournante) et enfin à la couleur noirâtre (Polese, 2015).

1.5. Cycle végétatif et stades phénologiques

D'après Colbrant et Fabre (1975) la phénologie est caractérisée par des phases qui s'étendent du bourgeonnement à la floraison (entre 3 à 4 mois) et de la floraison à la récolte des fruits (entre 6 à 7 mois).

1.5.1. Repos végétatif

Cette phase est marquée par un ralentissement de l'activité des organes végétatifs (Repos hivernal), le bourgeon terminal et les yeux axillaires. Ce repos est étroitement lié aux conditions environnementales hydriques et thermiques qui peuvent induire une dormance en hiver et même en été. En climat méditerranéen, il s'étend de Novembre à Février (Deidda et *al.*, 1993).

1.5.2. Induction florale

Cette phase de réveil printanier est marquée par un début de développement des pousses terminales et l'éclosion des yeux axillaires, ces derniers bien différenciés donneront soit du bois soit des fleurs (Sebai et *al.*, 2012). Cette induction peut coïncider avec la période allant de fin Février à Avril en climat méditerranéen. Cette induction florale dépend des stimuli qui déclenchent le développement des bourgeons végétatifs ou floraux, tels que : La défoliation échelonnée, l'intensité lumineuse, élimination des fruits et l'apport des substances hormonales et nutritionnelles (Barranco et *al.*, 2008 ; Tombesi et *al.*, 2007).

1.5.3. Différenciation florale

En milieu méditerranéen, La formation des fleurs s'achève de la mi-février jusqu'à la pleine floraison. Cette phase s'étend de l'apparition des premières grappes florales jusqu'à l'épanouissement total des fleurs (Gómez del Campo et Rapaport, 2008).

La différenciation des structures florales se fait de l'extérieur vers l'intérieur : les sépales, puis les pétales, les étamines et enfin le pistil. Au sein d'une inflorescence, le temps écoulé entre la différenciation de la première à la dernière fleur ne dépasse généralement pas 1 à 2 semaines (Lavee et *al.*, 1996).

1.5.4. La pollinisation

La pollinisation chez l'olivier n'est pas mellifère mais elle est anémophile, elle s'effectue par le vent et les courants d'air qui transportent le pollen et assurent l'arrivée de celui-ci aux stigmates réceptifs de la panicule. Le pollen reste viable jusqu'à 3 à 4 jours après la floraison (Barranco et *al.*, 2008 ; Tombesi et *al.*, 2007).

1.5.5. La nouaison

Les pétales se détachent du calice, On observe l'apparition des jeunes fruits issus du développement de l'ovaire qui se développe sous les stimuli hormonaux de l'endosperme de la graine ; la croissance initiale est caractérisée par une multiplication cellulaire diffuse et intense qui en quatre semaines conduit à l'identification de trois portions : exocarpe, mésocarpe et endocarpe (Tombesi et *al.*, 2007).

Une partie des fruits de la grappe florale tombe, ceux qui demeurent, 5% environ, grossissent pour atteindre la taille d'un grain de blé.

Les fruits atteignent la taille de 1cm environ, les noyaux commencent à devenir ligneux, coïncidant avec la période estivale Juillet-Aout.

Le fruit a un poids frais qui peut varier d'un à dix grammes, à la fin de la maturation, 60 à 90% de ce poids est constitué de la pulpe, 10 à 40 % du noyau et 1 à 2 % de la graine. Les principaux composants du fruit sont : eau, huile, sucres, protéines, tanins, autres dérivés et cendres (Marzouk et Cherif, 1981).

1.5.6. La maturation

Cette phase finale de la croissance du fruit est marquée par le changement de la couleur du fruit varie du vert intense, au rouge violet foncé et noir en raison de la disparition de la chlorophylle et de la synthèse de caroténoïdes, de flavonoïdes et d'anthocyanes. La période de changement de couleurs est influencée par les conditions environnementales du milieu, Le type d'utilisation de l'olive détermine le degré de maturité idéal pour sa récolte (Ferreira, 1979).

1.6. Exigences pédo-climatiques de l'olivier

Selon Carrión et *al.* (2010) l'olivier est une espèce du bassin méditerranéen dont l'origine remonte à 4000 ans avant JC. Son développement et sa production se situent entre 600 et 700 m d'altitude, bien qu'il soit cultivé dans les régions d'Espagne, d'Algérie, du Maroc, d'Amérique du Sud et du Nord à plus de 1 000 m d'altitude (Connor, 2005).

1.6.1. Température

Cet arbre est capable de résister à des températures de -10 °C en hiver durant lequel rentre en repos végétatif (Barranco et *al.*, 2008). Mais -1°C peut être néfaste sur la floraison (Bandino et *al.*, 2003).

D'après Henri (2003) les températures optimales de développement se situent entre 12 et 22°C. 40°C et plus peut compromettre l'appareil foliacé et peut provoquer la chute les fruits.

Les vents secs et les températures élevées pendant la floraison provoquent l'avortement des ovaires et affectent sérieusement la production (Walali et *al.*, 2003).

1.6.2. Pluviométrie

Avec 600 mm de pluie bien réparties l'olivier pousse et produit normalement, à 200 mm et moins l'olivier devient économiquement non rentable.

Une pluviométrie entre 450 et 600 mm, la production est possible à condition que les capacités de rétention en eau du sol soient suffisantes (Matraix et Barbancho, 2006 ; Rhizopolou, 2007).

1.6.3. Humidité

L'olivier préfère un air sec et un sol pas trop humide, il supporte mal un air saturé d'humidité et un sol détrempé. Est utile dans la mesure où elle ne dépasse pas les 60%. Selon Loussert et Brousse (1978), une humidité excessive et permanente favorise le développement de certains parasites et maladies.

1.6.4. pH

L'olivier tolère une ample marge de pH, mais des valeurs neutres, légèrement alcalines à alcalines, comprises entre 7 et 8,5, assurent un bon développement (Martinez, 1984) avec une teneur en carbonate de calcium variant de 10 et 30% et une valeur limite de 76% (Chaves, 1975) cité par Gargouri et *al.* (2006). L'olivier est résistant aux calcaires, et à la salinité et ces résistances diffèrent selon les variétés (Aragüés et *al.*, 2010).

1.6.5. Sol

L'olivier craint les sols argileux mal drainés qui causent les asphyxies radiculaires durant la saison pluvieuse (Henry, 2003), il s'adapte bien dans les sols profonds, perméables, équilibrés en éléments fins (argile et limons) et en éléments grossiers (sables moyens et grossiers) (Boulouha, 2006).

1.6.6. Lumière

C'est une plante exigeante en lumière qui intervient dans les différents processus photosynthétiques nécessaires pour la synthèse des acides gras.

Une étude réalisée par Ortega Nieto (1962) a montré que le rendement en huile d'olive est lié à la position des fruits sur le couvert des arbres, ceux situés dans la zone supérieure reçoivent une plus grande irradiation ce qui permet une augmentation d'accumulation d'huile.

L'étude de l'influence et l'adaptabilité des variétés aux conditions agro-écologiques de la région fournissent d'importantes informations en termes de programmation et d'amélioration des pratiques agricoles, telles que la fertilisation, la lutte contre les maladies et insectes, l'irrigation, la récolte, et aussi contribuent à la détermination de variétés pollinisatrices appropriées (Aybar,

2010). Cela permet de définir le comportement productif des variétés dans les différentes zones agro-écologiques. Les stades phénologiques de l'olivier, ainsi que les phases de maturation du fruit sont représentés dans les figures 1 et 2 respectivement.

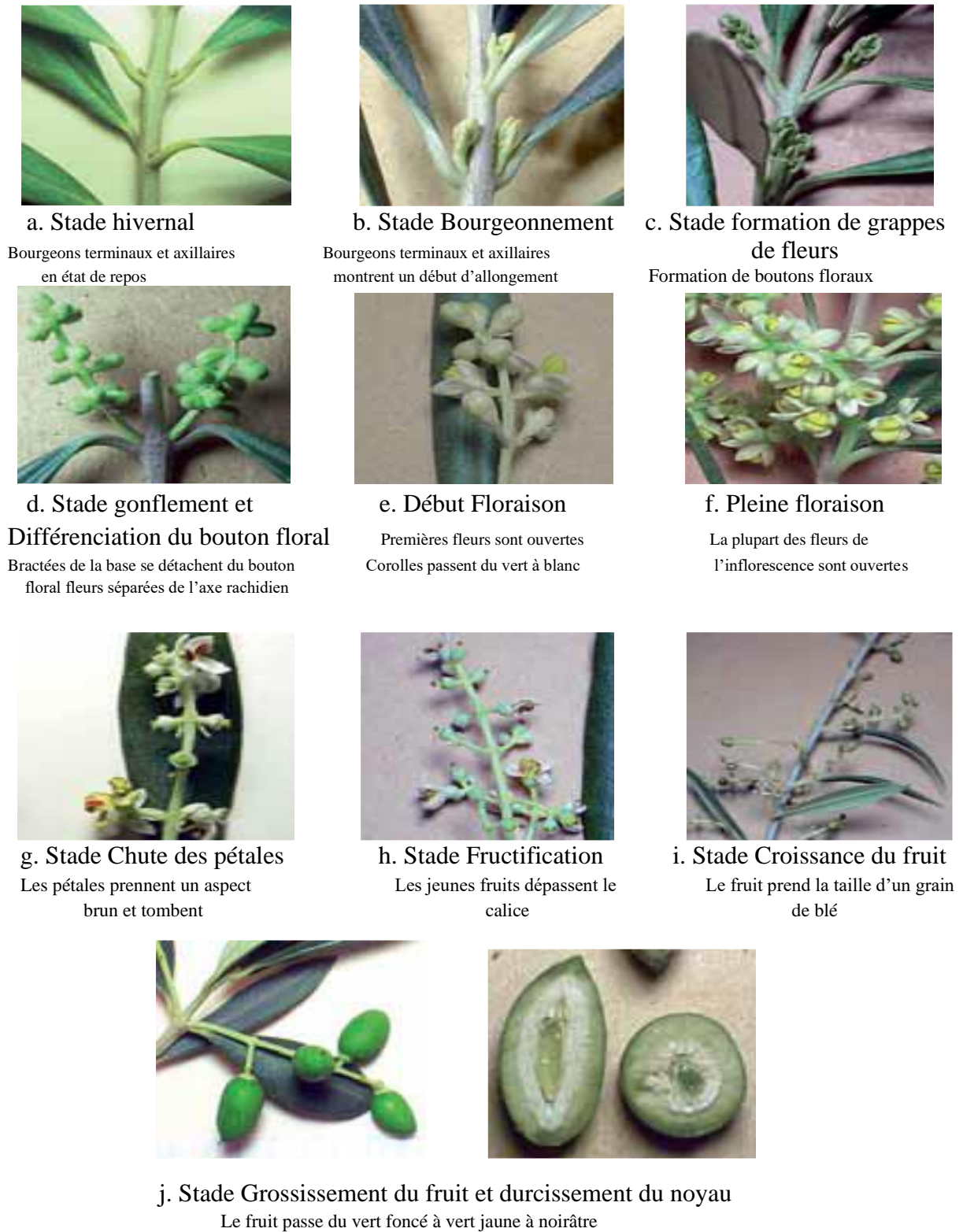


Figure 1 : Stades phénologiques de l'olivier.

(Nomenclature proposée par Colbrant et Fabre (1975) et adaptée par Aybar (2010)).



a. Peau Vert intense



b. Peau Vert-Jaunâtre



c. Peau Verte avec tâches
Rougeâtres



d. Peau Violette



e. Peau Noire

Figure 2 : Phases de maturation du fruit.

(Nomenclature proposée par Ferreira (1979) et adaptée par Aybar (2010)).

1.7. Oléiculture dans le monde

L'olivier est présent sur les six continents : Europe, Amérique du nord, Amérique du sud, Afrique, Asie, Océanie. Toutefois, c'est dans le pourtour méditerranéen que l'on retrouve plus de 90 % des oliviers. Les principaux vergers d'olivier se situent en Espagne, en Tunisie, en Italie, en Turquie, en Grèce, au Maroc, en Syrie, Portugal et en Algérie (figure 3).

Le principal producteur d'huile d'olive est l'Union Européenne qui représente plus de 70 % de la production mondiale d'huile d'olive. Dans l'Union Européenne, 7 principaux pays produisent de l'huile d'olive : l'Espagne, l'Italie, la Grèce, le Portugal, la France, Chypre et la Slovénie. Parmi les pays producteurs importants (produisant plus de 20 000 tonnes d'huile d'olive par an), on peut citer la Tunisie, la Turquie, la Syrie, le Maroc, l'Algérie, l'Argentine, la Jordanie. Les principaux consommateurs d'huile d'olive sont les pays producteurs (COI, 2021).

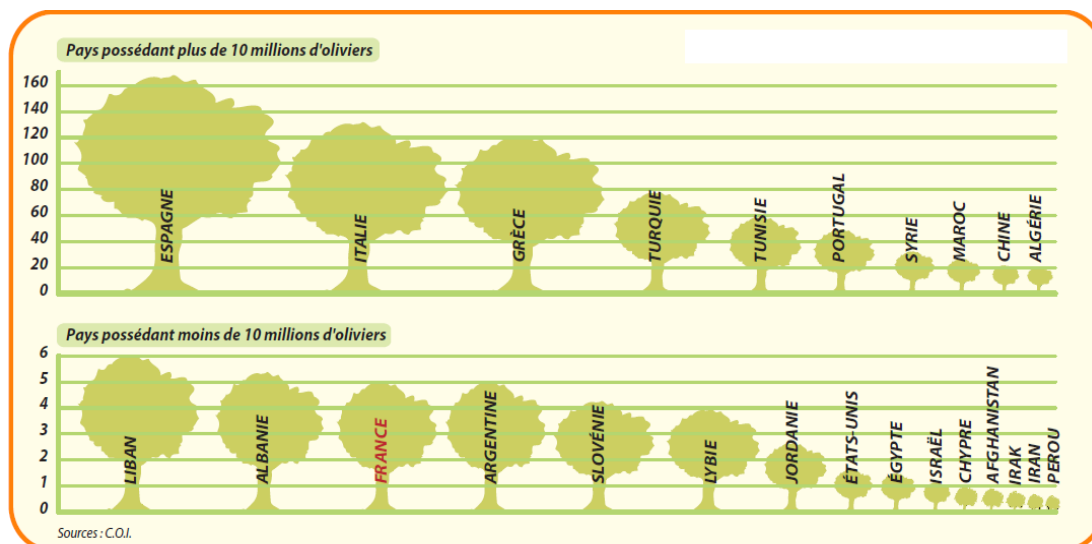


Figure 3 : Principaux pays oléicoles dans le monde (AFIDOL, 2021).

Selon le Département Américain De l'Agriculture, la production mondiale d'huile d'olive est d'environ 3 197 000 tonnes pour la saison 2020/2021, contre 3 207 000 tonnes la saison précédente (USDA, 2021).

Une production de 2 232 500 tonnes correspondra à l'Union européenne, soit 16% de plus par rapport à la campagne 2019/20.

- **L'Espagne**, a produit 1 596 100 tonnes, soit +41,8% de plus par rapport à la campagne précédente,
- **L'Italie** avec une production de 255 000 tonnes soit -30,3%,
- **La Grèce**, 265 000 tonnes soit -3,6%,
- **Le Portugal** a produit 100 000 tonnes soit -28%,
- **Le Chypre** 6 100 tonnes soit -12,8%,
- **La France** 5 200 tonnes soit -11,8%,
- **La Croatie** 4 600 tonnes soit + 12,1%,
- **La Slovaquie** 800 tonnes soit + 166%.

Derrière les pays de l'UE se trouvent

- **La Turquie** avec 210 000 tonnes, soit +6,6%,
- **Le Maroc** 160 000 tonnes, soit + 10,3%,
- **La Tunisie** 120 000 tonnes, soit -65,7%
- **La Syrie** 115 000 tonnes, soit -4,1%.

- **L'Algérie** durant la campagne 2019/2020 a produit 82 000 tonnes contre 97 000 tonnes durant la campagne 2018/2019 soit -15%.

Les exportations mondiales (figure 4), en huile ont atteint 989 500 tonnes d'huile d'olive, ce qui signifierait une baisse de 17,8% par rapport à la campagne précédente. L'UE est également en tête des ventes à l'étranger de ce produit, avec 723 000 tonnes soit -3,6%, suivie par la Tunisie, avec 100 000 tonnes soit -66,6%.

Quant aux importations mondiales sont de l'ordre de 957 000 tonnes, ce qui représente une baisse de 17,2% par rapport à la campagne précédente. Les États-Unis restent le principal acheteur d'huile d'olive, avec 350 000 tonnes soit -10,4%.

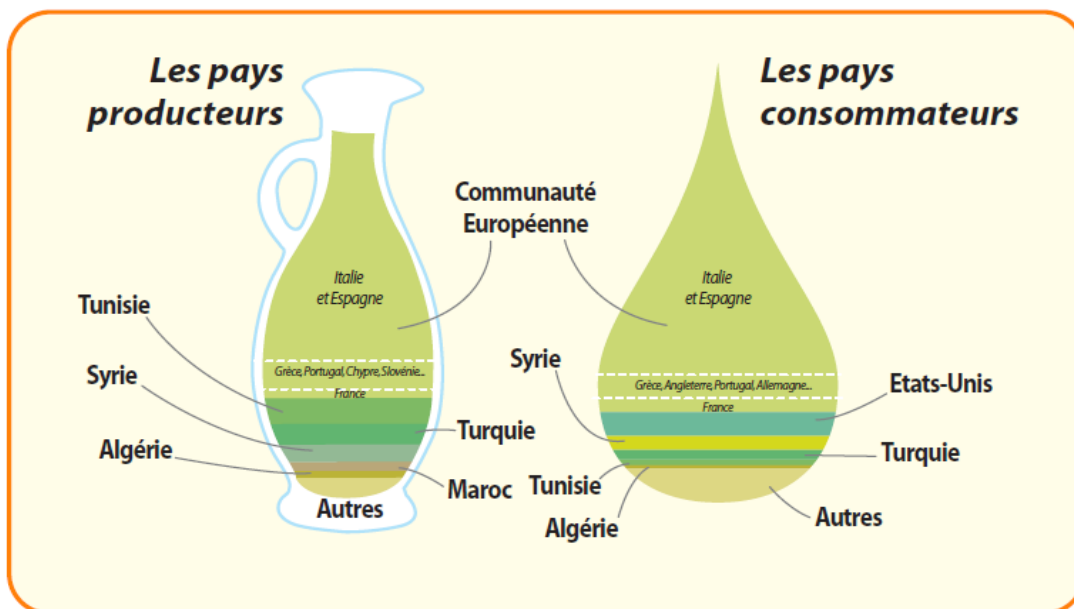


Figure 4 : Principaux pays producteurs et consommateurs d'huile d'olive (AFIDOL, 2021).

La prise de conscience des bienfaits de l'huile d'olive ainsi que la baisse des prix du produit ont augmenté la demande en huile d'olive sur le marché, ce qui a entraîné aussi une baisse des stocks mondiaux estimée à 9%.

Afin d'accroître le potentiel d'exportation, les pays producteurs d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient ont largement investi dans la modernisation de la culture d'olivier et des unités de transformation.

1.8. Oléiculture en Algérie

En Algérie l'oléiculture représente la culture fruitière la plus répandue et compte plus de 60 millions d'arbres, elle occupe 5.72% de la surface agricole utile (SAU).

L'oléiculture a une place prépondérante dans l'économie de l'Algérie. Une prise de conscience s'est opérée depuis le début du millénaire à ce sujet pour améliorer les pratiques agricoles et la conduite du verger oléicole, réfléchir à son extension sur des terres où l'intensification de la production est possible (Amami, 2015).

La filière oléicole s'est ouverte de nouveaux espaces ces dernières années notamment à l'est, les hauts plateaux et au sud du pays qui ont affiché un intérêt important pour la culture de l'olivier vu l'accroissement des besoins de consommation des olives et d'huile d'olive.

De l'année 2000 à 2017 les surfaces oléicoles sont passées de 170 000 hectares à 415 000 hectares, suite au lancement du plan national oléicole (PNO) ayant pour but de développer et moderniser la filière oléicole visant l'extension de la superficie oléicole à 500 000 ha sur tout le territoire national en introduisant un mode de production intensif et moderne (Zoubeidi et Dahane, 2018).

Le verger oléicole national s'étend sur une superficie de 431 634 Ha avec 60 632 901 oliviers (FAOSTAT, 2021). Les surfaces oléicoles ont connu une importante croissance passant de 168 080 ha en 2000 à 294 200 ha en 2010 puis à 431 634 ha en 2019. Soit une augmentation de 75% par rapport à l'année 2010 et de 156,8% par rapport à l'année 2000 (MADR, 2021)

L'augmentation de la superficie du verger oléicole national par la création de nouveaux vergers dans les zones steppiques et au sud du pays a entraîné une augmentation de la production en huiles d'olives.

Le nombre d'arbre d'olivier a connu une nette croissance, il était de 16 702 610 arbres en 2000, puis il est passé à 36 335 782 arbres en 2010 pour atteindre les 60 632 901 arbres en 2019. Soit une hausse égale à 117,5% par rapport à 2010 et 263 % par rapport à 2019.

Les rendements en olives entre 2000-2010 étaient de 12,8 à 25 kg/arbre puis ces rendements sont passés à 30,7 à 40 kg/arbre durant les cinq dernières années.

L'oléiculture en Algérie est répartie sur trois zones principales de production :

- La zone Centre représente 54% du verger oléicole national, englobant les wilayas de Bejaia, Tizi-Ouaou, Bouira, Boumerdes, Setif et Bordj-Bou-Arréridj.
- La zone Est représente 28 % du verger oléicole national, englobant les wilayas de Jijel, Mila, Skikda, et Guelma (MADR, 2021).

La production oléicole de ces deux zones est à vocation huile d'olive.

- La zone Ouest représente 18% du verger oléicole national présentée par les wilayas de Tlemcen, Ain Timouchent, Mascara, Sidi Belabbes et Relizane, cette zone a une production dominée par l'olive de table avec des vergers conduits en irrigués

En 2000 la production d'huile d'olive était de 33 550 tonnes passant à 73 600 tonnes entre (2005-2010) pour atteindre une quantité de 97 000 tonnes durant la campagne (2018-2019), soit une augmentation de 32 % par rapport à 2010 et 189% par rapport à l'année 2000.

Selon ces données statistiques, la production a un rythme croissant au cours des cinq dernières années mais les rendements restent faibles en les comparant aux pays producteurs de l'huile d'olive (Espagne, Italie, Tunisie, Maroc...) qui ont atteint des rendements supérieurs à 50 kg/arbre. Cela peut être dû à un ensemble de facteurs qui se résument comme suit :

- Les changements climatiques,
- La majorité des exploitations, est à caractère traditionnel,
- Le phénomène de l'alternance de l'olivier.

Quant à la consommation moyenne annuelle par habitant était de 0,8 kg pendant les années 80-90 passant à 1,43 kg en 2000 et à 1,5 kg en 2004, Puis cette consommation a atteint 1,83 kg en 2017 et 2,10 kg en 2019 (COI, 2021).

Les principales variétés d'olivier cultivées en Algérie sont représentées dans le tableau I.

Tableau I : Principales variétés d'olivier en Algérie (Mendil et Sebai, 2006).

Région	Variétés	Synonyme	Utilisation	Teneur en huile
Bejaia	Aberkane	Averkane	Huile et olive de table	16 à 20%
	Aharoun	/	Huile et olive de table	18 à 22%
	Azeradj	Aradj-Adjeraz	Huile et olive de table	24 à 28%
	Bouchouk-Soummam	Avouchouk	Huile et olive de table	22 à 26%
	Bouichret	Avouichert	Huile	20 à 24%
	Limli	Imli	Huile	20 à 24%
	Takesrit	/	Huile	16 à 20%
	Tabelout	Abelout	Huile	20 à 24%
	Tefah	Tefahi	Huile et olive de table	18 à 22%
Setif	Bouchouk-Guegour		Huile et olive de table	22 à 26%
	Bouchouk-Lafayette	/	Huile et olive de table	22 à 26%
Skikda	Bouricha	Olive d'El Arrouch	Huile	18 à 22%
Khenchela	Abani	Laabani	Huile	16 à 20%
	Neb Djemel	/	Huile	16 à 20%
Guelma	Blanquette de Guelma	/	Huile	18 à 22%
Tizi-ouzou	Chemlal	Achamlal- achamli	Huile	18 à 22%
Tebessa	Ferkani	Ferkané	Huile	28 à 32%
Constantine	Grosse du Hamma	Cœur de boeuf	Huile et olive de table	16 à 20%
Jijel	Hamra	Rougette	Huile	18 à 22%
Miliana	Ronde et longue de Miliana	/	Huile et olive de table	16 à 20%
Plaine de Metidja	Rougette de Metidja	/	Huile	18 à 20%
Mascara	Sigoise	Olive du tell	Huile et olive de table	18 à 22%

Les variétés d'olivier introduites en Algérie selon Boukhari et Gaouar (2018) sont :

- **Cornicabra et Sévillane**: Ces deux variétés ont une origine espagnole, elles se localisent à l'Ouest du pays.
- **Frantoio et Leccino** : Nouvellement introduites, ayant une origine italienne.
- **Lucques** : D'origine française, elle est souvent associée à la Sigoise.
- **Gordal et Verdial** : Ont une origine espagnole.

2. Principaux ravageurs et maladies de l'olivier

Le système de culture intensif de l'olivier a entraîné une augmentation des problèmes de parasites et de maladies jamais rencontrés auparavant. Les arthropodes nuisibles et les maladies sont souvent des contraintes majeures en raison de leur impact à la fois sur le rendement et la qualité.

Les oliviers sont également sujets à des troubles résultant de conditions environnementales et de pratiques culturales défavorables (INRA, 2005). Le catalogue des organismes potentiellement nuisibles à l'olivier compte plus de 255 espèces, notamment les arthropodes et les micro-organismes pathogènes, Champignons, bactéries (Haniotakis, 2005), il y a des maladies de la phase végétative qui affectent le système racinaire et celles plus importantes qui attaquent le système foliaire suivies par celle qui provoquent des chancres et des tumeurs.

Ainsi des maladies de la phase reproductive attaquant les fruits provoquant chute de rendement et altération de la qualité du fruit (Martín et García-Figueres, 1999).

Les maladies et ravageurs les plus rencontrés en méditerranée et en Algérie sont :

2.1. La mouche de l'olive (*Bactrocera oleae* ou ancien nom latin *Dacus oleae*)

Elle est considérée comme l'une des espèces les plus redoutables qui s'attaque à l'olivier sauvage et cultivé (Athar, 2005), sa biologie et son écologie étaient étudiées depuis le siècle dernier (Belhoucine, 2003 ; Gaouar et Debouzie 1991 ; Sylvestri, 1908). Ses dégâts sont d'ordre quantitatif et surtout qualitatif.

Les larves se développent et se nourrissent dans le mésocarpe, produisant un grand nombre de galeries et de trous par lesquels pénètrent les champignons et les bactéries, altérant gravement la qualité des huiles provoquant une augmentation des taux d'acidité et de l'indice de peroxyde (Paredes et *al.*, 2014).

Les fruits attaqués ont des zones sur la peau plus claires que les autres (figure 5) et tombent souvent prématurément.



a. Larve de la mouche de l'olive. b. Adulte de la mouche de l'olive. c. Piqure de la mouche de l'olive.

Figure 5 : La mouche de l'olive (Wang et *al.*, 2013).

2.2. La psylle de l'olivier

Le psylle de l'olivier *Euphyllura olivina* a été déterminé pour la première fois par Costa en 1839 sous le nom de *Thrips olivina*. C'est un hémiptère (figure 6) ravageur de tous les vergers oléicoles méditerranéens qui s'attaque à l'oléastre et l'olivier cultivé (Chermiti, 1983).

Selon Hmimina (2009), ce ravageur est surtout nuisible à l'état larvaire au printemps car il s'alimente à partir de la sève du végétal, ainsi il excrète un miellat favorisant la formation de la fumagine qui affecte la photosynthèse au niveau des feuilles.

Les symptômes sont facilement reconnaissables, des sécrétions cireuses cotonneuses blanches recouvrant les larves, les feuilles flétrissent, brunissent puis se dessèchent conduisant à leur chute. Plus de 30 larves sur la grappe florale, on assiste à une chute totale des fleurs et une perte de rendement de 50 à 60% (Tajnari, 1992).



a. Psylle adulte

b. Larves de psylles sur fleurs d'olivier

Figure 6 : Le psylle de l'olivier (MAPM, 2009).

2.3. La teigne de l'olivier

La teigne de l'olivier *Prays oleae* (Bernard, 1788) cité par Alissandrakis et *al.* (2018) appartenant à l'ordre des lépidoptères, présente trois générations distinctes celle carpophage est la plus dangereuse. Selon Villa et *al.* (2020), la teigne de l'olivier est un ravageur redoutable qui peut compromettre les productions oléicoles, il apparaît le premier en début de printemps sous les feuilles d'olivier (figure 7).

La pénétration de la larve au niveau de l'insertion du pédoncule cause la chute des olives dès le début de la maturation du fruit en juin-juillet ce qui provoque des pertes de rendements allant de 30 à 40% soit plus de 8 kilogrammes/arbre (Hegazi et *al.*, 2009).



a. *Prays oleae* sur feuilles b. Larve de *Prays oleae* sur fleurs c. Larves de *Prays oleae*

Figure 7 : La teigne de l'olivier (Sabouni, 2005).

2.4. La cochenille noire de l'olivier

La cochenille noire ou 'H', *Saissetia oleae* appartient à l'ordre des hémiptères, (Granara de Willink, 1990, 199 ; Williams et Watson, 1990). C'est un ravageur polyphage qui s'attaque à une large gamme d'espèces fruitières telles que les agrumes et oliviers (Allouche et *al.*, 2011 ; Holgado et Gasparini, 2008).

La cochenille noire attaque les branches, les brindilles et les feuilles (figure 8). Les nymphes et les individus adultes extraient la sève riche en glucides à partir des vaisseaux conducteurs des plantes. Une présence massive de cochenille sur l'arbre diminue son activité végétative et productive (Tapia et *al.*, 2003).

Les cochenilles excrètent une quantité abondante de miellat, composé principalement de sucres résiduels qui attirent des champignons saprophytes qui recouvrent le feuillage, les rameaux et les fruits d'un mycélium noir, appelé « fumagine » (Barranco et *al.*, 2008 ; Oriolani et *al.*, 2012).

La présence de fumagine réduit la qualité des fruits et de l'huile résultante en augmentant son acidité qui est un paramètre important de qualité (Ripa et Rodríguez, 1999).



a. Stades nymphes II, III sur feuille

b. Formes adultes de la cochenille noire sur rameau

Figure 8 : La cochenille noire de l'olivier (Castellar-Sánchez, 2011).

3. Principales maladies de l'olivier en Algérie

3.1. L'œil du paon

Elle est présente dans presque toutes les régions productives dans le monde, elle provoque une défoliation importante et fragilise progressivement l'arbre en réduisant sa productivité et la qualité de son fruit (Conde et Leoni, 2007).

Cette maladie est causée par *Spilocaea oleagina*. C'est un champignon hyphomycète spécifique de l'olivier (López-Doncel et al., 2000). Des symptômes typiques apparaissent dans la partie supérieure des feuilles (figure 9), avec des taches circulaires brun foncé de taille variable, avec un centre verdâtre et parfois des bords jaunâtres. La couleur sombre des taches est due aux spores du champignon, une coloration blanchâtre peut apparaître suite aux lésions anciennes sur feuille (Trapero et Blanco, 2008).



Figure 9 : Œil de paon sur feuille d'olivier (Boulila et Mahjoub, 1994).

3.2. La cercosporiose

Connue sous le nom de plomb peut provoquer une défoliation, un affaiblissement des arbres, une chute des fruits occasionnant des pertes importantes de la qualité des olives de table et de l'huile (Trapero et Blanco, 2008). Cette maladie, largement répandue dans les régions oléicoles (Conde et Leoni, 2007) causée par le champignon hyphomycète ; *Pseudocercospora cladosporioides*.

Des taches chlorotiques et jaunâtres dont certaines deviennent plus tard nécrotiques (figure 10). Sur la partie supérieure des feuilles, des tâches diffuses grisâtres ou plombées sont observées sur la face inférieure des feuilles.

Les feuilles atteintes tombent au sol provoquant une défoliation importante de la plante. Cette maladie peut atteindre les fruits, dans lesquels se développent de petites lésions grisâtres arrondies, déprimées, qui grossissent à maturité, en raison de la sporulation du pathogène (Sergeeva et *al.*, 2008).



a. Symptomes de cercosporiose sur feuilles d'olivier

b. Symptomes sur olives

Figure 10 : La cercosporiose de l'olivier (Castellar-Sánchez, 2011).

3.3. La verticilliose

Elle est connue sous le nom vulgaire de verticiliosis del olivo en Espagnol, *Verticillium wilt* en Anglais, verticilliose de l'olivier en français et tracheoverticilloso en italien.

Cette maladie est causée par *Verticillium dahliae* Kleb., un champignon tellurique appartenant à la classe des Ascomycètes, qui possède une large gamme d'hôtes, Il produit des microsclérotés dans les tissus nécrotiques des plantes infectées, très résistants aux conditions défavorables (López-Escudero et Mercado-Blanco, 2011).

La maladie a été signalée en Algérie dans les années 1990 (Benchabane, 1990) et depuis a pris de l'ampleur et s'est étendue sur de nombreuses oliveraies en Algérie (Abderhamani, 1992 ; Alia, 1991 ; Bellahcene et *al.*, 2000, 2005 ; Benadjal, 2007 ; Serdoun Bekri, 2013).

Elle affecte en premier temps les racines de jeunes plantes, colonise les cellules du xylème et du phloème, puis les tiges ainsi que les feuilles par le flux de la sève (figure 11), cela provoque des lésions vasculaires accompagnées par des dépérissements entraînant l'affaiblissement et la mort de l'arbre (Jabnoun-Khiareddine et *al.*, 2007).



Figure 11 : La verticilliose de l'olivier (symptômes de dessèchement apparents sur les vaisseaux conducteurs et sur l'ensemble de l'arbre (Levin et *al.*, 2003a,b)

3.4. La tuberculose de l'olivier

La tuberculose de l'olivier est considérée comme l'une des maladies causant des dégâts importants sur la culture de l'olivier, elle a été détectée dans 21 pays sur les cinq continents, dont la majorité existe dans le bassin méditerranéen, et l'Algérie en fait partie des plus touchés (Chliyeh et *al.*, 2017). Elle est citée dans pratiquement tous les pays producteurs d'oliviers.

L'agent causal *Pseudomonas savastanoi* *pv.* *savastanoi* est un agent phytopathogène opportuniste des plaies responsable d'une hypertrophie et hyperplasie caractéristiques nommées ; galls (tumeurs) sur la partie aérienne d'olivier, il est largement répandu dans le sol, l'eau et l'air (Trapero et Blanco, 1996).

Malgré la forte incidence et les pertes économiques considérables que cause ce pathogène, peu de travaux sont disponibles pour affiner les méthodes de détection ou pour déterminer le cycle de la maladie dans différentes écologies, la sensibilité variétale ou les méthodes de lutte les plus appropriées ne sont pas non plus bien établies.

4. Tuberculose de l'olivier

4.1. Généralités sur le groupe des *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* ont été observés au début de l'histoire de la microbiologie par Migula (1894) a défini ce groupe comme étant un genre de bactéries en forme de tige à Gram négatif et possédant des flagelles polaires. Après isolation de ces *Pseudomonas* un grand nombre de noms d'espèces a été attribué à ce genre (Hugh et Leifson, 1964).

Dans le début des années 2000, probablement la famille des Pseudomonacées est considérée comme la forme de vie la plus abondante et la plus répandue dans le monde. Ce genre comprend en effet plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires, dont l'espèce type est *Pseudomonas aeruginosa* (Pitt, 2002).

Les *Pseudomonas* appartiennent aux Gamma- Protéobactéries, dont la majorité de ses espèces est considérée comme phytopathogène.

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, oxydase positif, aérobies stricts, mobiles par ciliature polaire, colonies souvent pigmentées, asporulées, dégradent le glucose par respiration aérobie et la plupart étant des saprophytes (Bangera et Thomashow, 1999 ; Frey et *al.*, 2008 ; Slininger et *al.*, 1996).

La plupart des *Pseudomonas* sont très ubiquistes, et ce caractère ubiquitaire est lié au fait qu'ils ont la capacité d'adaptation aux différents milieux ainsi qu'aux conditions de vie difficiles. Elles sont largement répandues dans l'environnement, elles vivent dans le sol et les eaux douces, salées et saumâtres, superficielles et souterraines ainsi que dans les eaux de pluies (Hancock et Brinkman, 2002). Aussi, elles se retrouvent sur les végétaux ligneux et herbacés, Spécifiquement *P. syringae*, qui compte au moins 37 pathovars capables d'infecter de multiples espèces de végétaux, ce type de bactérie peut également se retrouver dans les denrées alimentaires causant leur altération organoleptique (Bossis et *al.*, 2000 ; Iacobellis, 2001).

4.2. Historique sur l'agent causal

La tuberculose est considérée comme la première des maladies de l'olivier ayant une référence historique. Le philosophe grec Théophraste (372 - 287 avant JC), affirme que « les oliviers souffrent de callosités, aussi appelées champignons ou nœuds » (Scortichini et *al.*, 2004).

Après 2100 ans cette maladie, connue sous le nom de tubercule de l'olivier, était attribuée à un micro-organisme non précisé, nommé *Bacterium oleae* par Arcangeli (1886) puis *Bacillus oleae-tuberculosis* par Savastano (1887-1889), qui a démontré son étiologie bactérienne (Panagopoulos, 1993 ; Romeo, 1967).

Au cours des cinq années suivantes, la bactérie à l'origine des «tubercules» de l'olivier a suscité une intense controverse, menée par des microbiologistes italiens dont Petri, subissant plusieurs changements de nom et étant attribuée à des isolats bactériens phénotypiquement différents, probablement tous les membres de la bactérie épiphyte. Elle fut renommée *Bacterium savastanoi* par Erwin F. Smith en 1908 (Smith, 1908). Cependant, sa reclassification a été constante tout au long du 20^{ème} siècle, ayant été incluse dans les genres *Phytomonas* (1923) et *Agrobacterium* (1943), à nouveau incluse dans le genre *Pseudomonas* en tant que sous-espèce *savastanoi* de *P. syringae* (1981) et, plus tard classée comme *P. savastanoi* patovar (pv) *savastanoi* par Gardan en 1992 (Scortichini et al., 2004).

P. savastanoi pv. *savastanoi* faisait partie du complexe *P. syringae*, qui comprenait au moins 10 espèces de *Pseudomonas* et 60 pathovars de *P. syringae* (Young, 2010).

4.3. Taxonomie

Selon (Janse, 1982, Gardan et al., 1992), l'agent causal *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* appartient au :

Règne : Bacteria
Division : Proteobacteria
Classe : Gammaproteobacteria
Ordre : Pseudomonadales
Famille : Pseudomonadaceae
Genre : *Pseudomonas*
Espèce : *Pseudomonas savastanoi*

Il s'agit d'une bactérie sous forme d'un bâtonnet à Gram négatif, mobile par ciliature péritriche (entre un et quatre flagelles polaires) et produisant un pigment fluorescent jaune-vert soluble sur milieu King B et très mobile dans les liquides (Bradbury, 1986).

4.4. Plantes hôtes de la bactérie *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

Le complexe d'espèces *P. syringae* est considéré comme l'un des plus importants phytopathogènes dans le monde, en raison de sa capacité à infecter la phyllosphère et à provoquer des maladies dans une gamme variée de plantes cultivées, ornementales et sauvages (Hulin et al., 2020 ; Xin et al., 2018).

Le complexe comprend 13 phylogroupes (PG) englobant 15 espèces de *Pseudomonas* (Gomila et al., 2017) qui peuvent être divisés en environ 65 pathovars définis par leurs gammes d'hôtes (Bull et Koike, 2015).

Pseudomonas savastanoi appartient au PG3 du complexe *P. syringae*. C'est le seul phylogroupe comprenant des bactéries provoquant des proliférations tumorales (nœuds) chez les hôtes ligneux (Caballo-Ponce et al., 2017 ; Lamichhane et al., 2014).

Pseudomonas savastanoi comprend cinq pathovars qui causent des maladies chez les plantes ligneuses : pv. *savastanoi* (isolé de l'olivier), pv. *nerii* (isolé du laurier-rose), pv. *fraxini* (isolé du frêne), pv. *retacarpa* (isolé du genêt), et pv. *mandevillae* (isolé de dipladenia) (Caballo-Ponce, 2021).

Plus récemment, le myrte (*Myrtus communis* L., *Myrtaceae*), le nerprun (*Rhamnus alaternus* L., *Rhamnaceae*) ont été signalés comme hôtes de *P. savastanoi* (Lamichhane et Varvaro, 2013; Saad et Hanna 2002), le grenadier ((*Punica granatum* L. *Punicaceae*) (Bozkurt, 2014).

Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi* responsable de la formation des nœuds sur les parties supérieures de l'olivier peut infecter aussi d'autres hôtes, en particulier le laurier-rose (*Nerium oleander*), le frêne (*Fraxinus excelsior*), le troène (*Ligustrum japonicum*), le jasmin (*Jasminum officinale* L.) sur lesquels ils provoquent des maladies similaires au nœud d'olivier (Marchi et al., 2005).

Les symptômes provoqués par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* peuvent s'exprimer différemment sur les hôtes à titre d'exemple : La tuberculose attaque rarement les feuilles d'olivier et lorsque cela se produit, les lésions sont généralement situées dans le nerf central, sans prolifération tumorale excessive, devenant rapidement nécrotiques.

Au contraire chez le laurier rose (*Nerium oleander* L.), une autre plante touchée par le même micro-organisme, des tumeurs foliaires très fréquentes, celles-ci étant très développées, localisées n'importe où sur la feuille et restent actives plus longtemps. *Nerium oleander* L. est

une plante aux nombreuses relations avec l'olivier puisque, outre sa situation dans l'ensemble de l'espace méditerranéen et ses relations taxonomiques partage avec l'olivier trois de ses parasites caractéristiques : *Saissetia oleae*, *Berne*, *Capnodium aleophilum* et *Pseudomonas syringae* pv. *savasstanoi* (Tutin et al., 1972).

4.5. Symptômes et dégâts

La maladie peut être considérée comme une maladie chronique car ses symptômes persistent et se reproduisent pendant de nombreuses années chez les oliviers. Elle se manifeste par la production d'excroissances ligneuses tumorales, pouvant atteindre plus de 10 cm de diamètre des tumeurs parenchymateuses de forme régulière à irrégulière, de couleur verte à noirâtre, et à surface lisses à rugueuse, qui se forment principalement sur les jeunes tiges ainsi que sur les branches et les rameaux (Barguigua et al., 2020).

Les tumeurs peuvent se former au niveau des sites de développement des bourgeons, aussi peuvent être formées sur des points d'entrée, telles que les plaies de taille, de récolte ou de blessures causées par le gel ou la grêle (Lavermicocca et al., 2003 ; Surico, 1986 ; Young et al., 2004).

Les jeunes galles sont de couleur verdâtre d'apparence lisse, et à l'intérieur elles ont une apparence spongieuse de consistance aqueuse. En revanche, les nœuds les plus âgés sont plus foncés, durs et plus rugueux, et le tissu interne est généralement creux (Trapero et Blanco, 2008).

Les jeunes rameaux perdent leur feuillage et se dessèchent quand les tumeurs sont bien développées, quant aux vieux rameaux ils perdent leur vigueur avec le temps, deviennent chétifs puis meurent. Les feuilles et les fruits sont rarement infectés (Iacobellis, 2001 ; Quesada et al., 2012 ; Young, 2004).

Des lésions sur feuilles sont généralement localisées au niveau du nerf central, sans prolifération tumorale excessive, devenant rapidement nécrotiques. Les symptômes sur fruits sont très rares, de petites taches de 0,5 à 2,5 mm de diamètre, d'abord brunes puis noirâtres formant un halo chlorotique, les tumeurs peuvent se développer dans le pédoncule ou et dans le tissu mésocarpique sans atteindre l'endocarpe. L'intensité des pertes est liée à l'incidence des tumeurs dans les branches fructifères, bien que des galles soient également observées sur les feuilles et

les fruits. En outre, les oliviers atteints montrent moins de vigueur et le fruit a un goût amer, rance ou salé qui diminue la qualité de l'huile (Sisto et *al.*, 2004).

Cette maladie est considérée comme un problème important pour les cultures d'oliviers en raison de son effet sur la croissance végétative (déclin des branches et des pousses, mort des petites branches et brindilles), le rendement en olives et même éventuellement sur la qualité de l'huile d'olive grâce à des caractéristiques organoleptiques inférieures telles qu'une odeur désagréable et un goût amer et rance (Godena et *al.*, 2012).

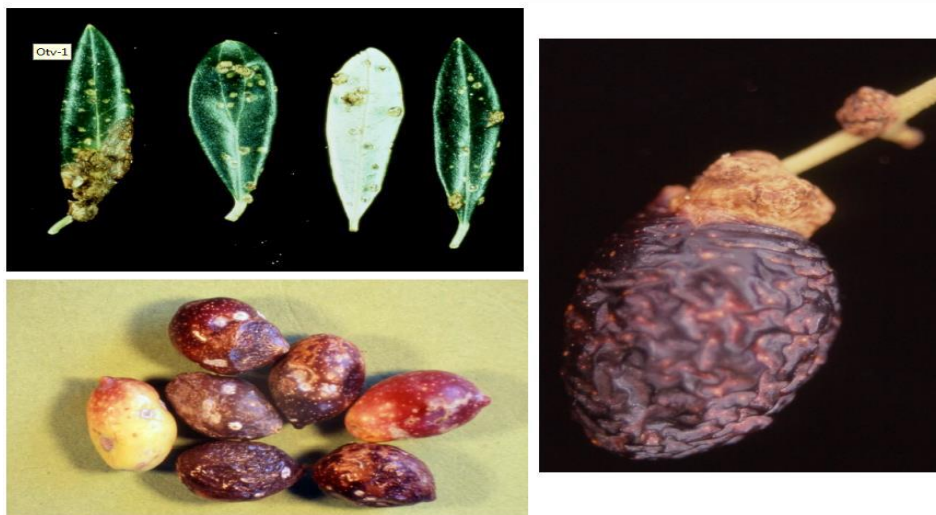
Des travaux effectués aux USA montrent que l'incidence de la maladie est en corrélation directe avec la baisse de rendement. Ces chercheurs montrent que le rendement des arbres ayant 0.1 à 0.3 tumeur par 0.3 m de bois fruitier (infection légère) voient leur rendement baisser de 21.3 kg et celui des arbres ayant 0.5 à 1 tumeur (infection modérée) de 94.6 kg (Schroth et *al.*, 1981).



a. Nœuds de tuberculose sur rameaux d'olivier (Matas, 2009 ; Oriolani et *al.*, 2012)



b. Nœuds de tuberculose sur des tiges d'olivier (Trapero, 2018).



c. Nœuds de tuberculose sur feuilles et fruits (Trapero, 2018).

Figure 12 : Symptômes de la tuberculose de l'olivier.

4.6. Relation hôte pathogène

L'établissement de l'infection nécessite des plaies, Les blessures causées par la récolte, la taille, la grêle, le gel et les cicatrices foliaires permettent à l'agent pathogène de pénétrer dans les tissus végétaux et de générer des nœuds (Sheng et Citovsky, 1996). *P. savastanoi* peut avoir besoin de signaux libérés par les plantes via les plaies pour activer la formation de tumeurs, car lorsqu'il pénètre par les stomates, il n'est pas capable de générer des symptômes visibles (Surico, 1993).

L'agent pathogène colonise initialement les tissus autour du point d'infection et, grâce aux enzymes pectolytiques et hémicellulolytiques, perturbe l'intégrité des cellules hôtes puis peut envahir directement les vaisseaux du xylème (Marchi et *al.*, 2009 ; Maldonado-González et *al.*, 2013 ; Rodríguez-Moreno et *al.*, 2009).

Successivement, les facteurs de virulence bactériens, principalement l'acide indol-3-acétique (IAA) et les cytokinines, provoquent une augmentation de la taille des cellules végétales (hypertrophie) suivie d'une division cellulaire anormale (hyperplasie) (Quesada et *al.*, 2012, Rodríguez-Moreno et *al.*, 2008).

Outre les phytohormones, qui jouent un rôle central, d'autres facteurs de virulence sont impliqués dans le développement de la maladie.

Les nodules d'olivier dépendent également des gènes *hrp/hrc* (Sisto et *al.*, 2004), qui codent pour la biosynthèse d'un système fonctionnel de sécrétion de type III (TTSS) qui ont un rôle dans la pathogénicité et la gamme d'hôtes (Pérez-Martínez et *al.*, 2010).

4.7. Epidémiologie et cycle de la maladie

Les micro-organismes colonisant la phyllosphère sont appelés épiphytes et *P. savastanoi* est l'un d'entre eux. Une bactérie est considérée comme épiphyte lorsqu'elle vit et se multiplie dans la phyllosphère et constitue le principal groupe colonisateur de la surface foliaire, avec des effectifs moyens de 10^6 à 10^7 ufc/cm² de feuille et qui ne survit dans le sol que quelques jours (Hirano et Upper, 1983, 2000).

La taille et la composition des populations bactériennes épiphytes varient en fonction des caractéristiques des plantes (espèce, âge) et de facteurs liés aux conditions nutritionnelles et climatiques (Hirano et Upper, 2000 ; Lindow et Brandl, 2003).

La population de *P. savastanoi* est soumise à des fluctuations saisonnières, plus élevées au printemps et à l'automne qu'en hiver et en été (Ercolani, 1971, 1978 ; Quesada et *al.*, 2007 ; Varvaro et Surico, 1978).

L'intervalle de température pour le l'infection est étendu (4-30 °C), avec un optimum autour de 23-24 °C. La pluie est également nécessaire à l'infection et à la dispersion des bactéries, de sorte que les périodes d'infection les plus favorables se produisent en automne et au printemps. Lorsque l'infection a lieu en automne, la tumeur ne se développe qu'au printemps suivant, alors que lorsqu'elle survient au printemps se développe en 10-14 jours (Protta, 1995).

Des essais d'inoculation en Californie effectués en mois d'avril ont montré des niveaux plus élevés de la maladie que ceux effectués en hiver en mois de décembre (Teviotdale et Krueger, 2004). Au Portugal, cette maladie se distingue dans les zones avec des précipitations plus élevées et plus soumises à la grêle (Sobreiro, 1993). Les zones avec pluies abondantes au printemps, les gelées tardives, la grêle sont les plus touchées.

Les bactéries pourraient se propager sur de longues distances provenant des plantations de matériel infecté, ou sur de courtes distances transportées par les éclaboussures de pluie, les aérosols soufflés par le vent, les pratiques culturales et les insectes (Quesada et *al.*, 2010).

L'infection de l'olivier par le *P. savastanoi* est étroitement liée au degré de blessure des arbres (Smith et *al.*, 1991).

En 1909, Petri a isolé la bactérie du tractus intestinal et des œufs de la mouche de l'olive (*Bactrocera oleae*), mais il n'y a aucune preuve scientifique que cet insecte ou d'autres peuvent être des vecteurs efficaces de cette maladie.

De plus, il n'y a aucune preuve concluante du rôle de vecteur que les oiseaux peuvent jouer dans cette maladie (Wilson, 1935) bien qu'ils puissent transporter des bactéries d'une plante à l'autre (Jardak et *al.*, 2004). Les outils de taille contaminés et le matériel de propagation contribuent également à la dispersion des bactéries (Trapero et Blanco, 2008).

Le cycle de la maladie pourrait se résumer dans la figure 13.

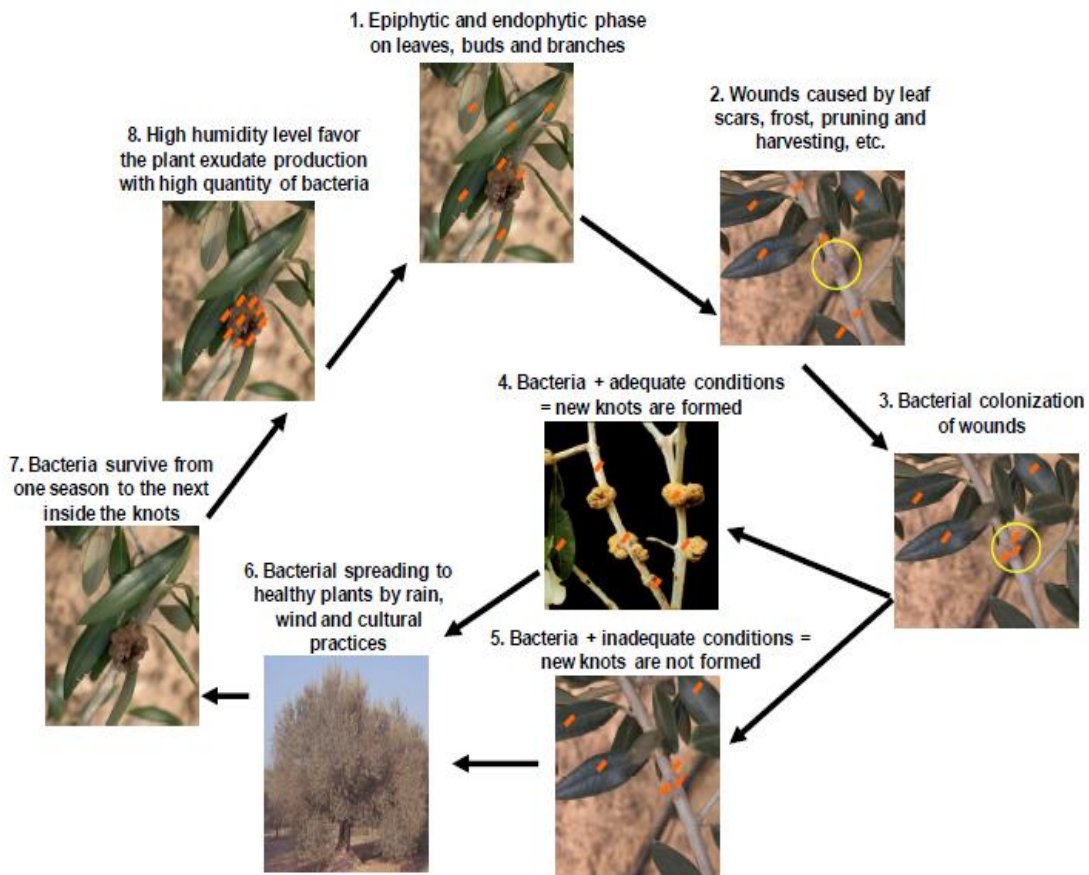


Figure 13 : Cycle de la tuberculose de l'olivier (Bertolini et al., 2003).

4.8. Diagnostic de la tuberculose de l'olivier et identification de *Pseudomonas savastanoi*

4.8.1. Isolement

L'isolement de *P. savastanoi* à partir d'olivier est de préférence effectué à partir des jeunes nœuds (durant les premiers stades de l'infection) car les nœuds âgés sont généralement envahis par des bactéries secondaires à croissance rapide, qui peuvent submerger la formation de colonies de l'agent pathogène. De petits morceaux de tissu sont excisés et broyés dans de l'eau stérile, la suspension obtenue est par la suite étalée sur la surface de gélose nutritive ou de milieu de King B. Les colonies de *P. savastanoi* ont généralement une croissance plus lente que les bactéries saprophytes, nécessitant 2 à 3 jours d'incubation (Young, 2004).

Lors de l'isolement, il est très fréquent de rencontrer des colonies bactériennes jaunes habituellement produites par *Pantoea agglomerans*, en même temps que *P. savastanoi pv. savastanoi* (Surico et Marchi, 2003).

Pour l'isolement de ce pathogène à partir des nœuds âgés ou bien à partir de feuilles, il est nécessaire d'utiliser des milieux de culture plus spécifiques. Des Milieux d'isolement semi-sélectifs pour *P. savastanoi pv. savastanoi* sont décrits par Azad et Cooksey (1995) et Surico et Lavermicocca (1989). Deux milieux sélectifs sont disponibles : PVF-1 (Surico et Lavermicocca, 1989) et OKA (Azad et Cooksey, 1995). Des études ont démontré les limites de chacun de ces milieux en termes de sélectivité, de récupération ou de morphologie des colonies ; cependant, PVF-1 a été considéré comme un milieu approprié pour l'isolement de *P. savastanoi pv. savastanoi* des nœuds âgés et du phyllosphère de l'olivier (Surico et Marchi, 2003).

4.8.2. Tests biochimiques

Les tests biochimiques d'orientation les plus utiles sont ceux qui confirment l'appartenance de la bactérie isolée au groupe LOPAT 1 (Lelliott et *al.*, 1966). Le pathogène. *P. savastanoi pv. savastanoi* est négatif dans les tests de production de levane, d'activité oxydase, d'activité pectate lyase et polygalacturonase (pourriture de la pomme de terre), d'activité arginine dihydrolase et positif dans la réaction d'hypersensibilité sur les feuilles du tabac. Certaines souches de *P. savastanoi pv. savastanoi* donnent une réaction positive dans le test de production de levane (exopolysaccharide) (Khezri et *al.*, 2019 ; Marchi et *al.*, 2005).

4.8.3. Confirmation par test de phytopathogénicité

La confirmation se fait par un test de pathogénicité. Des suspensions bactériennes de l'ordre de 10⁶c.f.u./ml sont inoculées dans des plaies sur des tiges d'oliviers en croissance active. Les gonflements aux sites d'inoculation sont évidents 10 à 20 jours après l'inoculation, selon la réaction de la plante et les conditions environnementales, mais les tests de virulence doivent durer au moins 60 jours. Les souches d'olivier (*P. savastanoi pv. savastanoi*) ne causeront que des nœuds dans les oliviers, tandis que les souches de laurier-rose (*P. savastanoi pv. nerii*) causeront des nœuds à la fois sur le laurier-rose et sur certains cultivars de l'olivier. Il est difficile de différencier *P. savastanoi pv. savastanoi* de *P. savastanoi pv. nerii* (Young, 2004).

4.8.4. Confirmation par tests moléculaires

La confirmation de l'espèce peut se faire par PCR, les gènes recherchés doivent être spécifiques à l'espèce, le gène *iaaL* responsable de la production de 3-indole-acetyl-L-lysine synthase impliqué dans la formation des tumeurs est le plus recherché (Penyalver *et al.*, 2000). Des amorces spécifiques au gène *iaaL* ont été conçues pour la détection par PCR de *P. savastanoi* tel que IAALF/IAALR (Penyalver *et al.*, 2000) et IAALN1/IAALN2 (Bertolini *et al.*, 2003). D'autres gènes impliqués dans la formation des tumeurs peuvent être utilisés pour l'identification de *P. savastanoi* tels que *iaaM* et *iaaH* (Marchi *et al.*, 2005)

L'identification moléculaire de cette espèce peut se faire également par l'amplification et le séquençage de la région 16S (16S rDNA). L'analyse des séquences et la comparaison avec des souches de références peut conduire à la confirmation de l'identité de la bactérie (Tsuji *et al.*, 2017).

La différenciation des souches d'oliviers et des lauriers-rose peut être possible en utilisant des méthodes moléculaires telles que les empreintes digitales de restriction d'ADN (Mugnai *et al.*, 1994).

4.9. La tuberculose de l'olivier dans le monde

La tuberculose de l'olivier est largement répandue sur tous les continents (figure 14), notamment dans la région méditerranéenne, d'Amérique du nord, centrale et du sud, et d'autres pays d'Europe telle que la Russie. Elle a été récemment observée dans d'autres régions telles que l'Australie et la nouvelle Zélande (Hall *et al.* 2004), les pays d'Asie comme l'Inde et le Népal (Balestra *et al.*, 2009).

Au Japon, ils ont signalé pour la première fois l'apparition de la maladie du nodule de l'olivier sur un arbre d'ornement dans un jardin potager de la préfecture de Shizuoka (Tsuji *et al.*, 2017).

En Espagne en 1991, 1,3% de la production annuelle totale qui a été endommagée par cette maladie causant des pertes économiques importantes (Andres, 1991).

En Algérie, cette bactérie a été décrite depuis la période coloniale, et considérée comme organismes nuisibles de quarantaine (JORA, 1993).

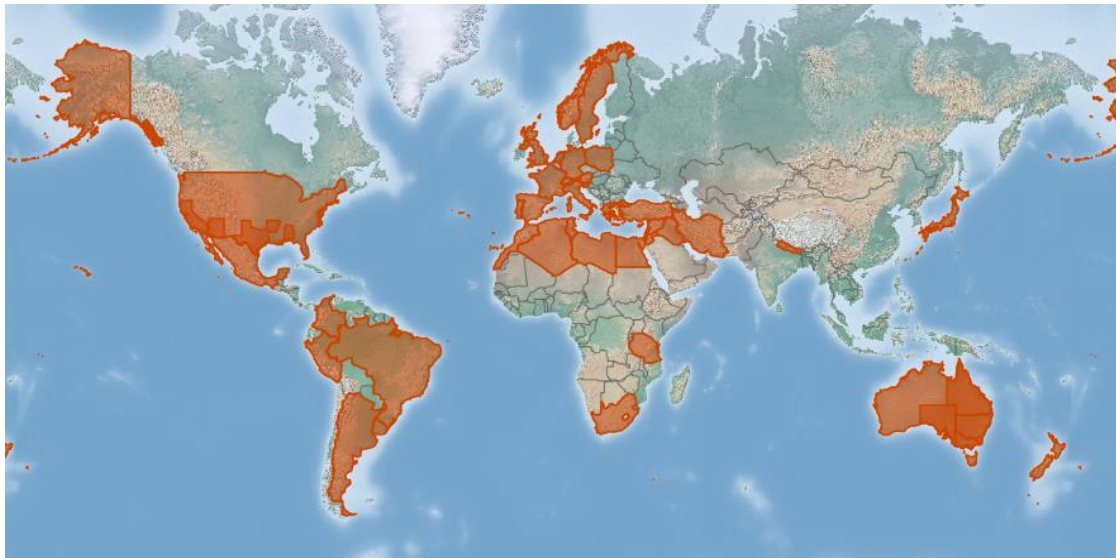


Figure 14 : Distribution de *P. savastanoi pv. savastanoi* dans le monde (CABI, 2022)

4.10. Lutte et contrôle

La lutte contre les bactéries phytopathogènes repose sur des méthodes préventives et curatives. L'élimination ou la réduction de l'inoculum initial, la réduction de l'efficacité de l'inoculum initial, l'augmentation de la résistance de l'hôte, le ralentissement de l'apparition de la maladie et les cycles secondaires sont les cinq principaux objectifs des programmes de lutte intégrée contre les maladies des plantes (Agrios, 2005).

La gestion des maladies causées par des agents pathogènes bactériens sur terrain repose principalement sur la prévention, car il est difficile d'éradiquer un agent pathogène une fois installé, le principe de ces mesures est d'empêcher l'établissement ou d'éliminer l'agent pathogène dans les pépinières et les vergers (Montesinos et López, 1996).

La manipulation, la production et la commercialisation du matériel végétal sain, certifié exempt d'agents pathogènes constituent les principales mesures préventives utilisées pour contrôler les maladies des plantes.

La tuberculose de l'olivier apparaît dans la liste de l'union européenne des parasites et des maladies affectant les rendements et la qualité des plantes, établie par la Commission européenne (Directive N° 92/34/UE) (JOEU, 1992).

Selon les conseils de l'Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des végétaux, l'installation de nouvelles oliveraies nécessite l'utilisation d'un matériel végétal certifié sain sans *P. savastanoi pv. savastanoi* (EPPO, 2006).

4.10.1. Eradication

Plusieurs méthodes préventives peuvent être appliquées, la tuberculose est une maladie incurable et de quarantaine à propagation et à contamination rapide, le moyen le plus utilisé quand un verger présente des symptômes, est la taille de quelques branches atteintes ou l'arrachage quand les symptômes sont bien généralisés sur tout l'arbre, les branches coupées doivent être brûlées dans le même champ pour empêcher la propagation de la maladie (Trapero et Blanco, 1998).

L'élimination des tumeurs est une opération laborieuse, précise et peut ne pas être entièrement efficace car cela peut engendrer de nouvelles blessures lorsque les nœuds sont retirés et de nouveaux nœuds peuvent se développer au cours de l'année suivante (Quesada et *al.*, 2010).

Dans le cas d'oliveraies partiellement contaminées, des arbres sains doivent être récoltés et taillés en premier.

En outre, les producteurs ne devraient récolter les olives que par temps sec et évitez l'utilisation de techniques comme le gaulage (Krueger et *al.*, 1999). Les méthodes de récolte manuelles, comme la méthode de traite ou l'utilisation de vibration mécanique sont plus appropriées (Civantos, 2008).

4.10.2. Sensibilité des cultivars

Le choix de cultivars peu sensibles ou résistants aux maladies bactériennes des plantes est considéré comme l'une des méthodes de lutte contre la maladie les plus appropriées (Montesinos et López, 1996).

Jusqu'à présent, les études sur la sensibilité des cultivars d'oliviers cultivés à la maladie suggèrent qu'une véritable résistance à cette maladie est rare. En revanche, d'importantes différences ont été observées dans le degré de sensibilité parmi les cultivars testés (Cruz et Tavares, 2005).

Une fertilisation équilibrée du sol, évitant l'excès d'azote, peut augmenter la résistance des plantes à la maladie (Paoletti et Pimentel, 2000).

4.10.3. Contrôle direct

Lorsque les mesures prophylactiques ne suffisent pas à endiguer la progression de la maladie dans une zone (Montesinos et López, 1996), des mesures de protection directes adoptées par des agriculteurs ou oléiculteurs reposant principalement sur des principes chimiques ou biologiques.

4.10.3.1. Contrôle chimique

Actuellement, il existe deux stratégies pour gérer la tuberculose de l'olivier, assainissement (élagage du matériel infecté) et application de bactéricides à base de substances chimiques (Sisto et Iacobellis 1999 ; Young, 2004).

La lutte chimique est en étroite relation avec plusieurs facteurs tels que les conditions climatiques, la quantité d'inoculum, sensibilité des cultivars, calendrier des traitements, la méthode d'application du traitement et l'état physiologique de la plante hôte.

Les composés cupriques constituent l'un des principaux traitements chimiques préventifs recommandé contre la tuberculose de l'olivier et son utilisation est recommandée lorsqu'il y a un risque d'infection, en printemps et automne et après la chute des feuilles et surtout après la grêle et le gel ou autres facteurs causant des blessures sur olivier (Nguyen et *al.*, 2008 ; Roca et *al.*, 2007).

Actuellement, l'oxychlorure de cuivre est le composé de cuivre le plus couramment recommandé contre cette maladie, l'élément actif de ces produits est l'ion cuivre qui a un effet bactériostatique, empêchant seulement la multiplication des bactéries et la plupart peuvent mourir en raison des effets toxiques des ions Cu^{++} (Alexander et *al.*, 1999 ; Ordax et *al.*, 2006).

Ces produits chimiques préventifs sont recommandés à la fois pour réduire les populations de Psv épiphytes et prévenir leur pénétration à travers les plaies de la plante. Des analyses menées avec de l'hydroxyde de cuivre ont montré qu'une seule application de cuivre post récolte n'assurait qu'une protection minimale contre la maladie et cela nécessite, des pulvérisations supplémentaires au printemps pour améliorer son contrôle (Teviotdale et Krueger, 2004).

Dans les vergers à haute densité l'efficacité de l'oxyde de cuivre était plus élevée avec trois pulvérisations qu'avec deux ou une seule application (Adaskaveg et *al.*, 2012).

Les traitements à base de composés de cuivre ont une incidence significative sur la population de Psv sur les oliviers sans qu'il y ait résistance de ces bactéries à ces composés cupriques. Contrairement à d'autres bactéries phytopathogènes qui peuvent résister à ces composés après une exposition successive (Cazorla et al., 2002).

L'utilisation d'antibiotiques dans la lutte contre les bactéries phytopathogènes tels que la streptomycine et la terramycine s'est avérée efficace dans des conditions expérimentales (Trapero et Blanco, 2004), mais leur application contre ces bactéries phytopathogènes est actuellement interdite par la législation de l'UE, bien qu'elle soit autorisée dans certains autres pays.

La réponse systémique acquise, ou SAR, est la capacité des plantes à générer des réactions de défense contre les agents pathogènes, des gènes impliqués dans les processus de défense sont activés (comme les protéines PR), augmentant ainsi la résistance de ces tissus contre d'éventuelles attaques supplémentaires (Durrant et Dong, 2004 ; Kessmann et al., 1994). Certains produits ont été utilisés pour leur induction de résistance des plantes contre différents agents pathogènes tels que l'acibenzolar-S-méthyl (Bion ®), le fosétyl-aluminium, le calcium prohexadione ou les harpines. Ils ont été testés pour contrôler certaines maladies bactériennes des plantes comme le feu bactérien, le chancre des agrumes, la nécrose apicale de la mangue.

La plupart de ces produits ne présentent pas de phytotoxicité et ayant une efficacité parfois comparable à celle des antibiotiques ou des composés cupriques (Brisset et al., 2000 ; Cazorla et al., 2006 ; Graham et Leite, 2004 ; Scortichini et al., 2002).

4.10.3.2. Lutte biologique

Le contrôle biologique constitue l'une d'alternatives de lutte contre les bactéries pathogènes, des études faites sur les *Pseudomonas* non pathogènes isolés de la rhizosphère de l'olivier ont montré une activité antagoniste contre *P. savastanoi* pv. *savastanoi* (Khavazi et al., 2008).

Ainsi des isolats de *P. fluorescens* et *Bacillus subtilis* à partir des tumeurs et de feuilles d'olivier ont montré aussi une activité antagoniste in vitro contre le *P. savastanoi* (Krid et al., 2010).

Des tests d'inoculation sur de jeunes arbres d'olivier, ont montré une activité inhibitrice de la formation de galles. La valeur d'inhibition la plus élevée a été déterminée dans l'isolat *B. subtilis* avec 78,72 %, suivi des isolats *B. megaterium* 60,87 %, *P. koreensis* 46,09 % et *B. pumilus* 44,87 %. Les résultats obtenus ont montré que les isolats de *B. subtilis*, *B.*

megaterium, *P. koreensis* et *B. pumilus* pouvaient être utilisés contre le Psv, l'agent causal de la maladie de l'olivier, en tant qu'agent de lutte biologique (Filiz Doksöz et Bozkurt, 2022).

Une bactériocine produite par *P. syringae* pv. *ciccaronei* a montré une activité inhibitrice de la prolifération et la survie de la forme épiphyte du *P. savastanoi*.

L'efficacité de ces agents de contrôle a été testée sur des plants d'oliviers de deux ans dans un climat contrôlé, et les résultats étaient comparables à ceux obtenus par l'application d'un traitement chimique à base d'hydroxide de cuivre (Lavermicocca et *al.*, 2002, 2003).

Etude expérimentale

Matériel
&
Méthodes

OBJECTIFS

- L'objectif de notre étude consiste en :
 - Détermination de la distribution de la tuberculose de l'olivier dans plusieurs localités des wilayas de Bouira-Bejaïa-Tizi-ouzou.
 - Estimation de l'incidence globale de la maladie ainsi que l'attaque des arbres dans les oliveraies prospectées, et analyse de quelques facteurs associés à l'infestation.
 - Isolement de l'agent pathogène *P. savastanoi* à partir des nœuds présents sur les arbres infectés, identification, et caractérisation biochimique, biologique et moléculaire. Et éventuellement l'identification d'autres germes associés.

1. Matériel et méthodes

1.1. Présentation de la région d'étude

1.1.1. Localisation et potentiel

Ce présent travail est mené au niveau du verger oléicole de la Kabylie (wilaya de Bouira, Tizi-Ouzou et Bejaïa) (Figure 15). Ces wilayas limitrophes se localisent dans la partie nord du pays.

La filière oléicole occupe 389 000 ha, soit 2.3% de la superficie agricole utile (SAU). Le verger oléicole est localisé en grande partie en zone de montagne dans la Kabylie, qui occupe plus de 50% de la surface oléicole nationale, les exploitations agricoles dans cette zone sont de petite taille, allant de 0.1 ha à 5 ha, conduites sur des reliefs accidentés.

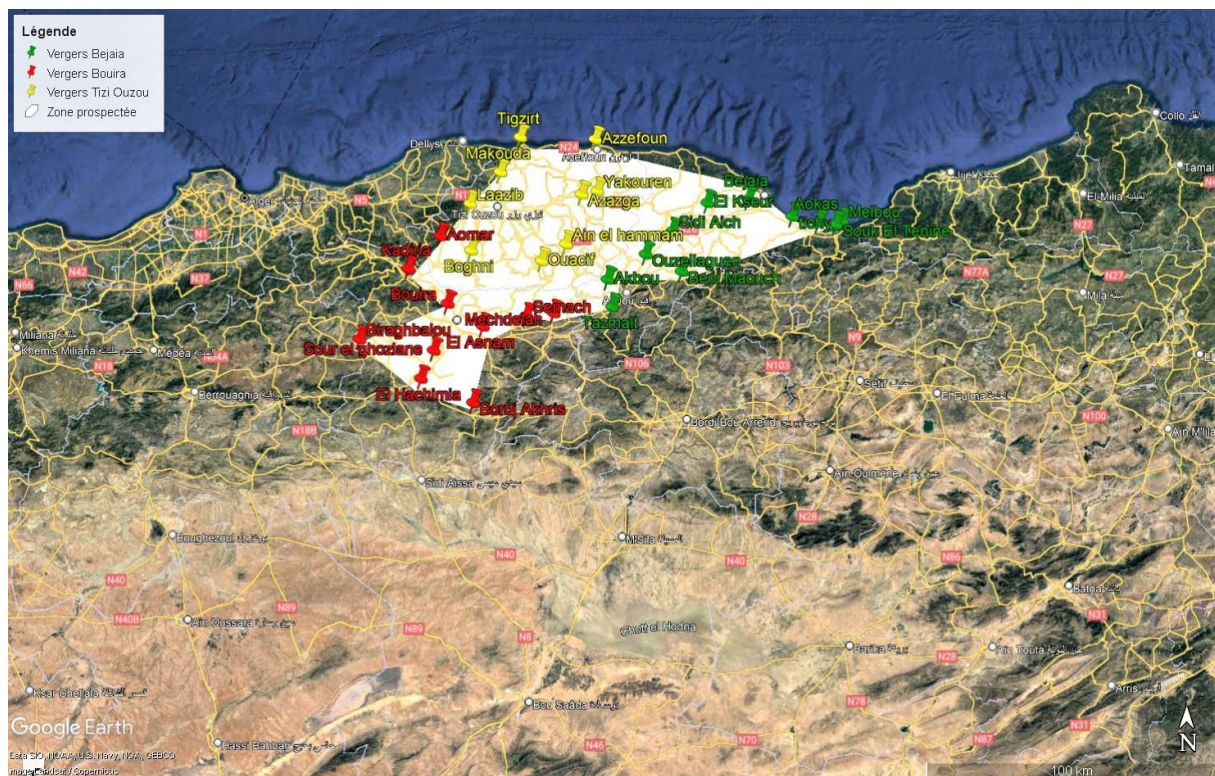


Figure 15 : Localisation des vergers de la zone prospectée.

a. Wilaya de Bouira (ANIREFA, 2021)

La wilaya a une superficie totale de 4 454 km², elle se situe dans la région Nord–Centre du pays, à environ 120 Km au Sud Est d’Alger.

Elle est délimitée :

- Au Nord par la Wilaya de Boumerdes et Tizi-Ouzou ;
- Au Sud et Sud / Ouest par les Wilayas de M'sila et de Médéa ;
- A l'Est et au Sud Est par les Wilayas de Bédjaia et Bordj-Bou-Arréridj;
- A l'Ouest par les Wilayas de Blida et Médéa.

Elle est caractérisée par 05 grands espaces géographiques :

- La dépression centrale ;
- La terminaison orientale de l'Atlas Blidéen ;
- Le versant du Djurdjura ;
- La chaîne des Bibans et les hauts reliefs du sud ;
- La dépression Sud Bibanique.

La wilaya compte une superficie de 445 626 hectares dont 293 645 hectares destinés à l'agriculture, la surface agricole utile (SAU) est de 190 152 hectares.

Le verger oléicole est exposé au sud du massif montagneux du Djurdjura qui s'étend d'est en ouest de la wilaya, soit sur une distance d'environ 70 km. On le rencontre au niveau de trois zones de morphologie différente :

- Le versant du Djurdjura ;
- La terminaison orientale de l'Atlas Blidéen ;
- La dépression centrale.

La wilaya compte plus de 3 millions d'oliviers répartis sur une superficie de plus de 37 000 ha et une production en huile de plus de 8 millions de litres (MADR, 2021).

Ce potentiel en l'huile d'olive représente le terroir, le patrimoine et la culture de la région. Il a un ancrage fort dans la vie socio-économique de celle-ci.

Nous pouvons résumer cette évolution dans le tableau II.

Tableau II : Evolution des superficies et des productions oléicoles dans la wilaya de Bouira (MADR, 2021).

Année	Superficie (Ha)	Nombre d'olivier	Production d'olives (Qx)	Production d'huile (Hl)	Rendement (l/ql)
2013	34 244	3 424 475	118 611	19 977,70	17,32
2019	37 309	3 788 481	432 442	92 440	21,50
2020	37 264	3 664 915	461 303	81 565	17,8

La wilaya a un parc huilier de 171 huileries dont : 50 huileries modernes, 69 huileries semi-automatiques et 52 huileries traditionnelles.

b. Wilaya de Tizi-Ouzou (ANIREFA, 2021)

La wilaya de Tizi-Ouzou se situe sur le littoral centre de l'Algérie et s'étend sur une superficie de 2 958 Km².

Elle est limitée

- Au sud par la wilaya de Bouira ;
- A l'Est par Bejaia ;
- A l'Ouest par Boumerdes ;
- Au nord s'ouvre sur la mer Méditerranée par 85 Km de côtes.

La surface agricole utile (SAU) de la wilaya estimée à 98 842 hectares demeure très réduite : Elle ne représente que 33, 42% de la superficie totale de la wilaya et 38, 27 % de l'ensemble des terres affectées à l'agriculture (258 252 ha).

La wilaya de Tizi-ouzou dont le territoire est à prédominance montagneux avec 80 % des terres en pente supérieure à 12 % peut être divisée en 6 zones agro écologiques :

- Le massif côtier d'Azeffoun à vocation sylvo-pastorale représente une superficie de 37 300 ha, soit 13 % du territoire de la wilaya ;
- Les collines de grande Kabylie à vocation agro-sylvo-pastorale représentent une superficie de 71 300 ha, soit 24 % du territoire de la wilaya ;
- Le massif de grande Kabylie à vocation agro-pastorale représente une superficie de 96 063 ha, soit 32 % du territoire de la wilaya ;

- La chaîne du Djurdjura à vocation agro-sylvo-pastorale représente une superficie de 26 130 ha, soit 9 % du territoire de la wilaya ;
- La vallée de l'oued Sebaou à vocation agricole représente une superficie de 50000 ha, soit 17 % du territoire de la wilaya ;
- La dépression de Draa El Mizan à vocation agricole représente une superficie de 15 000 ha, soit 5 % du territoire de la wilaya.

Les productions végétales dans la wilaya de Tizi-Ouzou intègrent les céréales, les cultures fourragères, les légumes secs, les cultures maraîchères, l'arboriculture fruitière et la viticulture.

L'arboriculture concerne la production fruitière notamment l'olivier, le figuier, le cerisier, le poirier et le pommier. La culture fruitière dominante dans la wilaya de Tizi-Ouzou est l'olivier.

La filière oléiculture est classée en première position avec une superficie de 38 862 ha soit 39 % de la SAU de la wilaya et 10% de la superficie oléicole nationale et une production d'huile dépassant les 19 millions de litres d'huile d'olive, ses oliveraies conduites en extensif avec des densités de plantation de 40 à 70 arbres /ha ayant un âge dépassant très souvent 75 ans se rencontrent généralement sur des reliefs accidentés.

L'évolution des superficies plantées ainsi que les quantités d'huiles produites sont résumées dans le tableau III.

Tableau III : Evolution des superficies et des productions oléicoles dans la wilaya de Tizi-Ouzou (MADR, 2021).

Année	Superficie (Ha)	Nombre d'olivier	Production d'olives (Qx)	Production d'huile (Hl)	Rendement (l/ql)
2013	34 315	3 544 634	288 000	49 800	17,67
2019	38 650	4 415 263	504 208	103 074	20,40
2020	38 862	4 462 228	1 070 513	196 378	18,30

La wilaya a un parc huilier de 450 huileries dont 109 huileries modernes, 57 huileries semi-automatiques et 284 huileries traditionnelles.

c. Bejaïa (ANIREFA, 2021)

La wilaya de Bejaïa se situe à 250 Km à l'Est d'Alger, elle se caractérise par une diversité du relief allant des plaines littorales jusqu'aux zones montagneuses. La superficie totale étant de 322 348 ha et limitée comme suit :

- Au nord : mer méditerranée
- Au sud : wilaya de Bordj-Bou-Arréridj ;
- A l'est : wilaya de Sétif, wilaya de Jijel ;
- A l'ouest : wilaya de Tizi-Ouzou, wilaya de Bouira.

La SAU est de 130 495,04 ha et représente 44% de la superficie totale de la wilaya, la forêt et les parcours occupent respectivement 41,5% et 10,26% du territoire.

La région de la Soummam occupe la partie la plus importante de la superficie oléicole dans la wilaya de Bejaïa.

La surface oléicole n'est pas répartie d'une manière homogène, les hautes de la Soummam prend la part la plus importante qui s'élève à 60% de la surface occupée par l'oléiculture dans la wilaya, suivie par les basses de la Soummam par un pourcentage significatif aussi (24%) et 7% de plaines côtières.

Les oliveraies sont localisées essentiellement dans les montagnes caractérisées par des conditions topographiques difficiles. L'olivier à huile prédomine dans la quasi-totalité de la région de Bejaïa. Il constitue la principale espèce fruitière, avec 84% de la surface arboricole totale.

L'oléiculture est l'emblème de la wilaya de Bejaïa, elle est représentative de la filière huile d'olive au niveau du territoire national, elle compte plus de 5.2 millions d'oliviers répartie sur une superficie de 58 000 ha qui représente 44,5 % de la SAU totale de la wilaya. En 2020, la production d'huiles d'olive a dépassé 25 millions de litres.

La production totale de la wilaya est concentrée essentiellement dans les communes suivantes : Tazmalt, Akbou, Seddouk, Ighil Ali.

L'évolution des superficies, le nombre d'oliviers plantés ainsi que les quantités d'huile produites dans cette région sont résumés dans le tableau IV.

Tableau IV : Evolution des superficies et des productions oléicoles dans la wilaya de Bejaïa (MADR, 2021).

Année	Superficie (Ha)	Nombre d'olivier	Production d'olives en (Qx)	Production d'huile en (Hl)	Rendement (l/ql)
2013	50873	4 187 982	950 651	169 897	17,87
2019	57 617	5 212 399	890 333	194 713	21,90
2020	58 068	5 276 883	1 320 875	262 726	19,90

La wilaya a un parc huilier de 430 huileries dont : 80 huileries modernes, 139 huileries semi-automatiques et 216 huileries traditionnelles.

Durant la dernière décennie l'oléiculture dans ces régions a connu une nette progression en termes des surfaces plantées en olivier ainsi que les quantités d'huile d'olives produites, suite aux programmes de développement agricole ainsi que l'amélioration des pratiques agricoles relatives à l'oléiculture.

1.1.2. Données climatiques

Le concept d'étage bioclimatique est une notion botanique qui a été créée par le botaniste Louis Emberger en 1930 pour associer la répartition des êtres vivants à des schémas climatiques mondiaux liés à la géographie et l'altitude (Baraka, 2016).

La synthèse climatique est une étape indispensable à toute étude environnementale. Elle conditionne par le biais de ces composantes, le type de climat et de la couverture végétale (Hedidi, 2020).

Calcul du Quotient pluviométrique d'Emberger (QE)

Le quotient pluviométrique ou indice climatique d'Emberger sert à définir les cinq différents types de climats méditerranéens, depuis le plus aride, jusqu'à celui de haute montagne.

Il est particulièrement adapté aux régions méditerranéennes dans lesquelles il permet de distinguer différents étages bioclimatiques.

Dans ces régions, Emberger a remarqué que l'amplitude thermique ($M - m$) est un facteur important de la répartition des végétaux. En effet, l'indice d'Emberger prend en compte les précipitations annuelles P , la moyenne des maximums de température du mois le plus chaud (M en °C) et la moyenne des minima de température du mois le plus froid (m en °C) (Emberger, 1955).

Ce quotient est défini par la formule : $Q = 2000 * P / M^2 - m^2$

- $QE < 12$ Saharien ou désertique $P < 100$ mm/an.
- $12 < QE < 30$ Aride $100 < P < 300$ mm/an.
- $30 < QE < 60$ Semi-aride $300 < P < 600$ mm/an.
- $60 < QE < 100$... Sub humide $600 < P < 900$ mm/an.
- $QE > 100$ Humide $P > 900$ mm/an.

1.2. Matériel

1.2.1. Matériel biologique

- Echantillons d'analyse : rameaux d'olivier portant des nœuds.
- Plants de tabac sains (*Nicotiana tabacum*) (INPV, Alger),
- Plants d'oliviers sains (*Olea europaea*) (variétés : Chemlal, Azradj, Sigoise, Arbequina) (INPV, Alger),
- Plans de jasmin blanc (*Jasminum officinale*), jasmin d'hiver (*Jasminum nudiflorum*), et laurier rose (*Nerium oleander*) (INPV, Alger),
- Tranches de pomme de terre (*Solanum tuberosum*) et de carotte (*Daucus carota*).

1.2.2. Matériel de prélèvement

- Sécateur.
- Récipient contenant de d'hypochlorite de sodium.
- Sachets de prélèvement stériles.
- Glacière et Ice-box.

1.2.3. Matériel d'analyse

a. Matériel usuel de bactériologie et appareillage

Les appareils d'analyse utilisés sont surtout des appareils de routine de bactériologie, ainsi que des appareils nécessaires pour la réalisation de PCR. La liste détaillée du matériel usuel et les appareils utilisés sont représentés dans annexe 1.

b. Milieux de culture

▪ Milieu King B (King et *al.*, 1954)

C'est un milieu sélectif utilisé pour la recherche de la production de la pyoverdine qui jaunit le milieu. Elle est insoluble dans le chloroforme. La production de la pyoverdine est favorisée par une teneur élevée en phosphate et la culture se fait à 26°C pendant 24 à 72 h. Il se compose de :

- Peptone dite "B" 20,0g ;
- Glycérol 10,0ml ;
- Hydrogénophosphate de potassium 1,5g ;
- Sulfate de magnésium heptahydraté 1,5g ;
- Agar 12,0g ;
- Eau distillée qsp 1000ml.

▪ Milieu PVF (Surico et Lavermicocca, 1989)

C'est un milieu qui permet l'isolement de *Pseudomonas savastanoi* de différentes sources et en association avec d'autres bactéries, il a été prouvé qu'il a un effet inhibiteur envers un grand nombre de bactéries à Gram négatif, il prévient la croissance de 90% ou plus de la flore saprophyte des feuilles et des branches d'oliviers. Il se compose de :

- Saccharose : 30 g
- Glycérol : 10 ml
- Difco Acide casamino : 2,5 g
- Dipotassium phosphate trihydrate : 1,96 g
- Magnesium sulfate heptahydrate : 0,4 g
- Sodium sulfate (Dodecyl) : 0,4 g
- Agar : 16 g
- Eau distillée qsp1000ml

- **Milieu NSA** : Nutrient-Sucrose Agar medium (Surico et Lavermicocca, 1989)

Milieu communément appelé Levane, utilisé pour mettre en évidence la capacité de l'espèce *Pseudomonas savastanoide* polymériser le fructose en polyfructose. Il se compose de :

- D-glucose 2,5g ;
- Saccharose 50g ;
- Agar 23g ;
- Eau distillée qsp1000ml.

1.3. Méthodes

Les prospections ont été effectuées durant la période allant du mois de mars 2019 à octobre 2020 dans la région de la Kabylie (les wilayas de Bouira, Tizi-Ouzou et Bejaïa). L'analyse des échantillons a été réalisée dans le laboratoire de microbiologie de la Faculté SNV de l'université de Bouira.

1.3.1. Prospection et distribution de la tuberculose de l'olivier dans la zone d'étude (incidence globale)

Des visites au champ ont été menées dans les communes des wilayas de Bouira, Tizi-Ouzou et Bejaïa. Ces dernières couvrent une superficie totale de 1.07 million d'hectares dont plus de 110 milles hectares de vergers oléicoles.

Dans chaque commune, cinq sites ont été prospectés aléatoirement de façon à couvrir le maximum de sites possibles, correspondant à un total de 140 vergers (figure 16) afin d'essayer d'évaluer l'incidence globale de l'infection par commune en comptant le nombre de vergers infectés sur le total de vergers visités (le pourcentage de vergers atteints).

Le pourcentage de vergers atteints = le nombre de vergers atteints dans une commune / le nombre total de vergers prospectés.

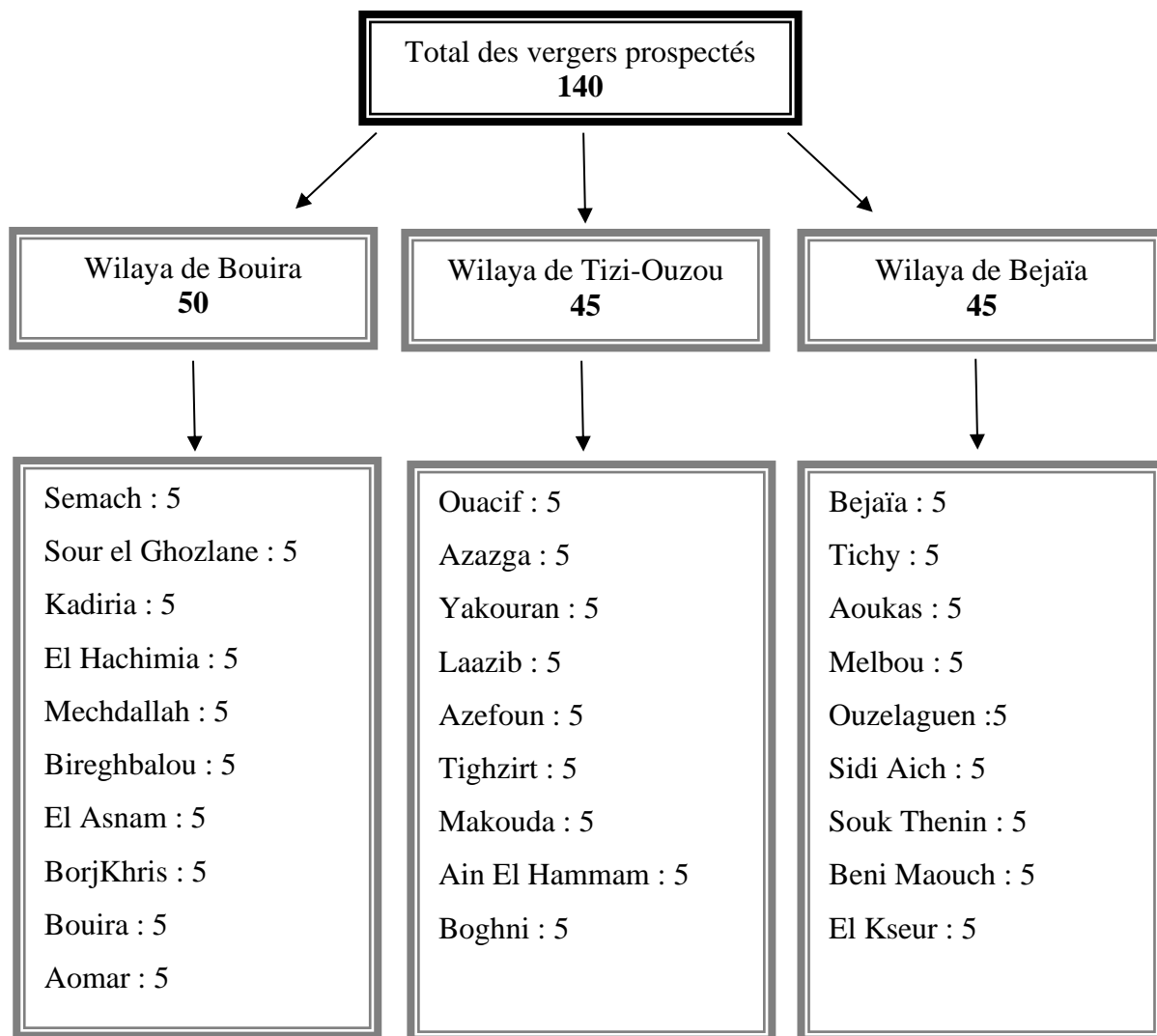


Figure 16 : Distribution des sites prospectés.

1.3.2. Evaluation de l'incidence par verger et l'intensité d'attaque

Pour chaque commune de la zone d'étude, un verger infecté parmi les cinq prospectés a été choisi aléatoirement. Ce verger a servi d'un côté à l'évaluation de l'incidence de la maladie dans le verger, et d'un autre côté à l'estimation de l'intensité d'attaque d'un arbre infecté choisi aléatoirement dans ce verger.

L'incidence de la maladie par verger a été évaluée en calculant le pourcentage d'arbres atteints par verger.

Le pourcentage d'arbres atteints = le nombre d'arbres atteints dans un verger / le nombre total d'arbres de ce verger.

La difficulté de compter systématiquement le nombre de tumeurs sur tous les arbres d'une oliveraie infectée ou d'une région donnée oblige à travailler uniquement sur une partie de la ramification totale de l'arbre ; cette partie représente des rameaux choisis aléatoirement et dont le nombre est généralement le 1/6 et le 1/4 du nombre total des rameaux de l'arbre (Benjama, 2003).

Les rameaux ont été choisis de manière à couvrir les différents étages accessibles, et les quatre points cardinaux de l'arbre. Le nombre de nœuds a été calculé sur une branche de longueur connue.

L'intensité d'attaque de l'arbre = la moyenne du nombre de nœuds/cm de rameau.

Des arbres définis comme étant :

- Fortement attaqués présentant une moyenne égale ou supérieure à 0,15 nœuds /cm de rameaux,
- Faiblement attaqués avec une moyenne inférieure ou égale à 0,06 nœuds/cm de rameaux,
- Moyennement attaqués avec des valeurs entre les deux (Benjama, 2003 ; Krid *et al.*, 2011).

1.3.3. Procédure d'échantillonnage

Afin de pouvoir isoler l'agent pathogène, l'échantillonnage a été réalisé dans les périodes de printemps et automne 2019-2020 dans 28 sites de la région d'étude, cet échantillonnage a concerné seulement les oliviers présentant des tumeurs.

Les oliveraies choisies sont distribuées depuis le littoral (Tighzirt, Melbou) jusqu'à la haute montagne du Djurdjura (Ain El Hammam, Ouacif) et du Babor (Beni Maouch), en passant par les plaines et les hauts plateaux (Birghbalou, Sour El Ghozlane) où l'olivier s'associe avec des espèces forestières comme le chêne vert, le pin d'Alep, frêne et laurier rose.

Des jeunes tumeurs vertes avec contour régulier situées généralement sur les rameaux ont été prélevées de chaque verger à partir des oliviers infectés ; à raison de 3 arbres par verger (Krid *et al.*, 2011), et 3 rameaux par arbre choisis aléatoirement (Quesada *et al.*, 2007), au moyen d'un sécateur désinfecté préalablement avec de l'eau de javel.

Les échantillons ont été placés dans des sacs en plastiques stériles, fermés et transportés directement au laboratoire sous froid.

Les caractéristiques des vergers échantillonnés sont représentées dans le tableau VI.

La localisation géographique de chaque verger échantillonné dans les 28 communes est représentée en annexe 2.

Tableau V : Caractéristiques des vergers échantillonnés.

Wilaya	Commune	Variété	Nombre d'arbre	Age
Bouira	Semach	Chemlal	115	60
	Sour El Ghozlane	Chemlal	46	35-40
	Kadiria	Chemlal	90	60
	Mechdelah	Chemlal	142	50
	El Hachimia	Chemlal	70	23
	Bouira	Chemlal	60	60
	Biraghalou	Chemlal	45	50
	El Asnam	Azeradj	300	70
	Bordj Khris	Chemlal	92	10
	Aomar	Chemlal	50	10/40
Tizi-Ouzou	Ouacif	Chemlal	100	40
	Azazga	Chemlal	98	20
	Yakouren	Azeradj	31	50
	Laazib	Chemlal	83	30
	Azefoun	Chemlal	102	25
	Tighzirt	Chemlal	90	16
	Makouda	Azeradj	55	20
	Ain El Hammam	Chemlal	120	18
	Boghni	Azeradj	75	30-35
Bejaïa	Bejaïa	Limli	85	20
	Tichy	Azeradj	48	8
	Aokas	Azeradj	80	30
	Melbou	Chemlal	38	25
	Ouzellaguen	Azeradj	78	40
	Sidi Aich	Chemlal	70	30
	Souk Thenin	Chmelal	83	30
	Beni Maouch	Azeradj	60	30
	El kseur	Taksrit	60	60

1.3.4. Procédure d'analyse

La procédure globale d'analyse des échantillons est résumée dans la figure 17.

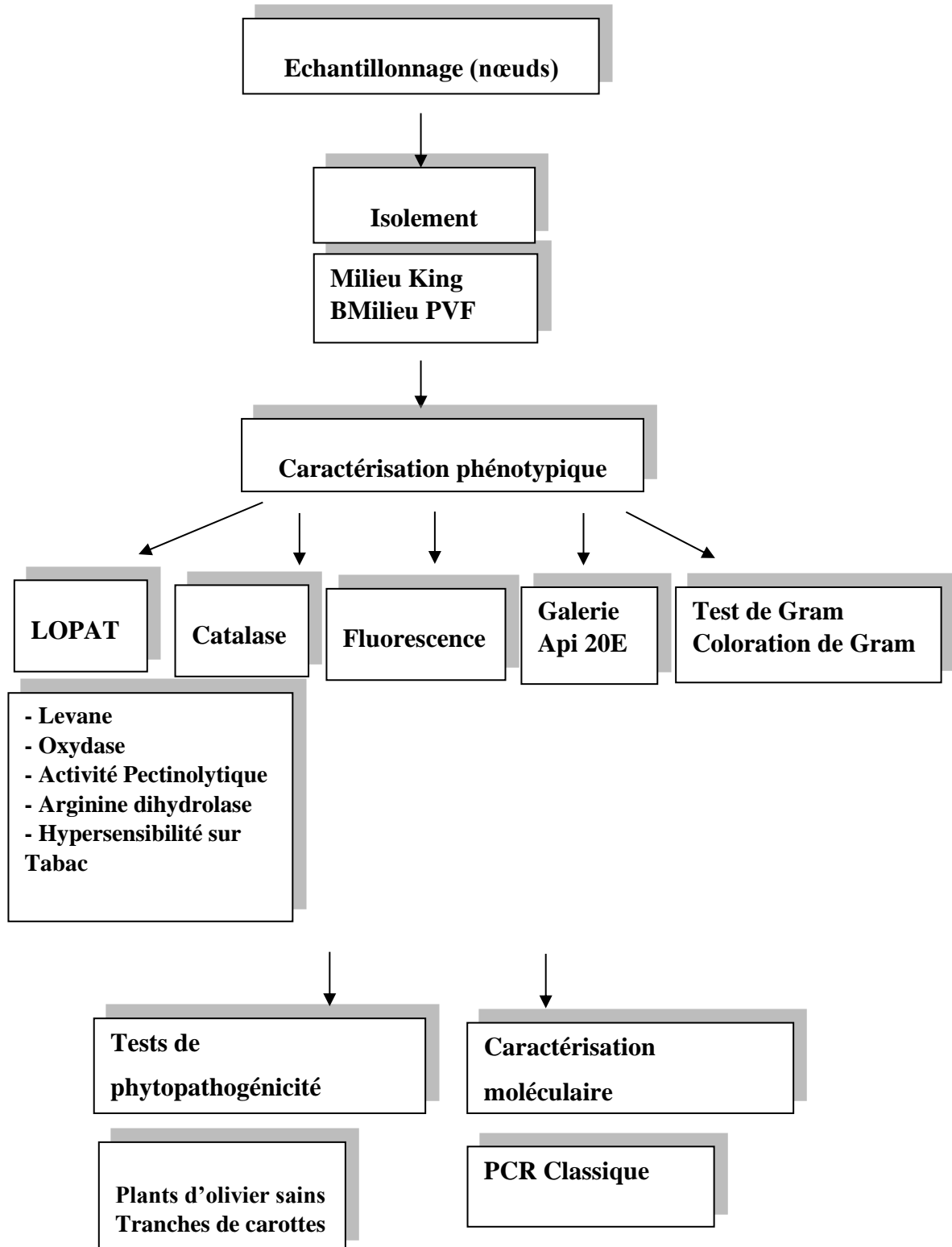


Figure 17 : Procédure d'analyse des échantillons de nœuds d'oliviers.

1.3.4.1. Isolement à partir des tumeurs

a. Désinfection

Les tumeurs ramenées au laboratoire sur leurs branches sont par la suite séparées du végétal, puis désinfectées avec un papier filtre stérile imbibé avec l'éthanol 95% (Marchi et *al.*, 2005).

b. Macération

Le tissu interne a été découpé finement à l'aide d'un scalpel stérile. Les fragments obtenus ont été écrasés à l'aide de piston-pellets dans des tubes Eppendorfs stériles contenant 200 µl d'eau distillée stérile (EDS).

c. Ensemencement

Après 30 mn, 10 µl du surnageant a été ensemencé sur des boîtes de Pétri contenant le milieu semi sélectif King B (King et *al.*, 1954), et le milieu PVF (Surico et Lavermicocca, 1989), selon la technique des quatre cadrans (Vincent, 1970) puis incubées à 26°C pendant 3 à 5 jours.

d. Purification

Les colonies bactériennes obtenues ont été purifiées par repiquages successifs sur le milieu King B, le contrôle de la pureté des souches a été effectué morphologiquement selon : l'homogénéité, l'aspect, la couleur.

1.3.4.2. Caractérisation phénotypique des isolats

Les colonies présomptives isolées ont été purifiées puis caractérisées par des tests morphologiques et biochimiques (Lelliott et *al.*, 1966 ; Schaad et *al.*, 2001).

a. Production de pigments fluorescents sur le milieu King B

La gélose King B permet la production de fluorescence, grâce à pigment jaune vert fluorescent sous lumière ultraviolet ayant une longueur d'onde de 254 - 360 nm, par certain *Pseudomonas*,

Les souches bactériennes sont déposées sous la lumière ultra-violet pour observer leur fluorescence (Schaad et *al.*, 2001).

b. Test de solubilité par KOH

Le test de Gram sert à confirmer d'une façon rapide si une bactérie est à Gram positif ou à Gram négatif, une colonie bactérienne âgée de 24 à 48 heures est mélangée à une goutte de la solution de KOH (3%), préalablement déposée sur une lame de microscope.

La bactérie est considérée à Gram négatif s'il y a formation d'un filament en soulevant l'anse, En cas d'absence de filament, le Gram est positif (Suslow et *al.*, 1982).

c. Examen de la morphologie sur frottis coloré

L'examen de la morphologie est réalisé par coloration de Gram d'un frottis préparé à partir d'une colonie bien isolée, suspecte être *P. savastanoi*.

c.1) Réalisation du frottis

- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau physiologique, puis prélever à l'aide de l'anse de platine une colonie de la culture. Mélanger afin d'obtenir une suspension homogène.
- Sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme du bec Bunsen.

c.2) Réalisation de la coloration de Gram

- Coloration du frotti : violet de gentiane durant 1 minute puis rincer à l'eau du robinet.
- Mordançage : recouvrir la lame de réactif de Lugol 40 secondes puis rincer à l'eau.
- Epreuve (alcool résistance) : recouvrir la lame de l'alcool 10 secondes d'alcool puis rincer à l'eau du robinet immédiatement.
- Contre coloration : recouvrir la lame de Fuchsine pendant une minute.
- Rincer à l'eau du robinet et sécher entre deux feuilles de papier absorbant.
- Observer au microscope optique à l'objectif 100 à immersion, à pleine lumière.

d. Test de Levane

Ce test est considéré comme le premier de la série LOPAT, il permet de vérifier la polymérisation du fructose en poly-fructose par la bactérie testée (Schaad *et al.*, 1988).

La production de levane a été réalisée sur le milieu agar nutritif associé de 5 % de saccharose (NAS) pour la polymérisation du fructose en poly fructose à partir d'une colonie isolée et purifiée.

A l'aide de l'anse à inoculation, l'ensemencement d'une colonie bactérienne jeune se fait par une série de stries sur une boîte de Pétri contenant le milieu levane solide, puis incubées à 26°C pendant 3 à 5 jours. Une poussée de colonies blanchâtres et convexes (colonie en dôme) avec un aspect plutôt crémeux indique que la bactérie possède une levane-sucrase (test positif) (Goszczyńska *et al.*, 2000).

e. Test d'Oxydase

e.1) Principe

Le test de l'oxydase met en évidence la présence d'une cytochrome-oxydase chez les bactéries Gram négatif qui oxyde le cytochrome c réduit. Ce test met en évidence la présence de cette enzyme grâce à un réactif ayant le même potentiel d'oxydo-réduction que le cytochrome c.

e.2) Technique

Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur une colonie jeune caractéristique et la transférer sur un papier buvard imbibé par le réactif de l'oxydase à 1% (préparé avec 25mg de N' tetraméthyleparaphénylène diamine et 25 ml d'eau distillée stérile) (Goszczyńska *et al.*, 2000).

e.3) Lecture

La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit, en 20 à 30 secondes, par l'apparition d'une coloration bleu violacé.

f. Recherche de l'activité pectinolytique

Le test Pectinase permet d'identifier l'activité pectinolytique d'une bactérie c'est-à-dire sa capacité à dégrader la pectine présente dans un milieu de culture spécifique ou des tranches de

pomme terre (Sharma et *al.*, 2013). Dans notre essai, on a utilisé les tranches de la pomme de terre comme source de pectine. Les tranches sont stérilisées à l'éthanol 70% puis lavées à l'eau distillée stérile et séchées. Les tranches ont été déposées dans une boîte de pétri contenant du papier filtre mouillé (Figure 18), des colonies bactériennes fraîchement prélevées ont été inoculées au centre des rondelles et incubées à 26° C pendant sept à quatorze jours, l'odeur indésirable et l'apparition de nécrose signifie la présence de l'enzyme pectinase.

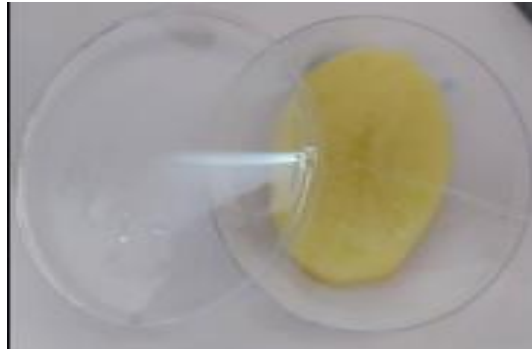


Figure 18 : Préparation de tranches de pomme de terre pour le test pectinase

g. Test d'arginine dihydrolase (ADH)

g.1) Principe

Ce test permet de détecter la capacité d'une bactérie à produire de l'arginine dihydrolase (ADH), enzyme qui décarboxyle l'acide aminé arginine.

L'enzyme ADH catalyse la décarboxylation de l'arginine, présent dans le milieu Arginine. Cette dégradation aboutit à la formation de produits basiques ; l'alcalinisation du milieu est révélée par un virage de l'indicateur de pH (le pourpre de bromocrésol) à sa teinte basique (violette). Ce test se réalise en anaérobie et avec une faible concentration de glucose. L'acidification (due à l'utilisation du glucose) et l'anaérobiose sont des conditions favorables à la synthèse de cette enzyme. Dans un premier temps, la bactérie dégrade le glucose entraînant ainsi une acidification. Dans un second temps, si elle possède l'enzyme ADH, elle utilise l'arginine entraînant une alcalinisation du milieu.

g.2) Technique

Les tubes à essais contenant le milieu Arginine sont inoculés par la bactérie, on ajoute en suite environ 1 cm d'huile de la vaseline stérile. La réaction se fait en condition anaérobie. Les tubes sont incubés 2 à 4 jours dans l'étuve à 26°C.

g.3) Lecture

Si le milieu deviendra jaune ou reste rose violet, le test est considéré négatif : le virage vers la couleur jaune indique qu'il y a eu acidification du milieu liée à l'utilisation du glucose mais il n'y a pas eu ré-alcalinisation. L'arginine n'a donc pas été dégradé.

Si le milieu vire vers la couleur violette le test est considéré positif : Il y a eu acidification du milieu liée à la fermentation du glucose puis il y eu ré-alcalinisation du milieu liée à la dégradation de l'arginine par la bactérie.

h. Test d'hypersensibilité sur feuilles de tabac (*Nicotiana tabacum*)

h.1) Principe

Le test d'hypersensibilité sur feuille de tabac sert à mettre en évidence le pouvoir phytopathogène des bactéries (Schaad et *al.*, 2001). Si certaines espèces végétales sont inoculées avec des bactéries pathogènes, un mécanisme de défense rapide de la plante se déclenche. Les cellules végétales de la zone envahie meurent, limitant l'invasion de l'agent pathogène en empêchant sa propagation au reste de la plante. Le déclenchement de réaction d'hypersensibilité chez les plantes par des bactéries phytopathogènes est utilisé comme outil de diagnostic, notamment pour les *Pseudomonades* fluorescentes.

h.2) Technique

Une suspension bactérienne de concentration 10^8 bactéries/ml est préparée à partir d'une culture de 24-48 heures (Absorbance =0.08 voir annexe 3).

. Cette suspension est ensuite injectée dans le mésophylle du limbe d'une feuille de tabac en introduisant l'aiguille d'une seringue hypodermique dans la nervure secondaire de la feuille (Figure 19). L'eau distillée stérile est utilisée comme témoin négatif (Klement, 1964).

h.3) Lecture

L'apparition d'un aspect vitreux suivi d'un brunissement des parties infiltrées au bout de 24h indique une réaction positive. Le test est négatif si aucune réaction n'est observée.



Figure 19 : Injection de la suspension bactérienne dans la nervure de feuille de Tabac.

i. Test de catalase

i.1) Principe

En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). L'enzyme catalase sert à la détoxification de cette forme active d'oxygène produite au cours de certaines réactions métaboliques. Cette enzyme est présente chez beaucoup de bactéries aérobies ou aéro-anaérobies et souvent absentes chez les bactéries anaérobies.

Le but du test est de vérifier si la bactérie possède l'enzyme catalase dont le rôle est de catalyser la dégradation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (Dickey et Zumoff, 1988).

i.2) Technique

Déposer sur une lame de verre une ou deux gouttes d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 3%. Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur une colonie jeune et frotter la doucement sur la lame afin de la dissoudre dans les gouttes de peroxyde d'hydrogène (Goszczyńska et *al.*, 2000).

i.3) Lecture

La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène.

j. Autres tests biochimiques

La galerie miniaturée Api 20E (biomérieux) a été utilisée afin d'évaluer rapidement plusieurs propriétés physiologiques et biochimiques (Lacroix et *al.*, 1995).

Le système d'identification Api 20E permet l'identification en courte durée et présente plusieurs avantages :

- Fiabilité : méthode standardisée associant les tests de référence et les conditions opératoires optimales pour plusieurs groupes bactériens.
- Simplicité d'utilisation et efficacité : en une seule étape.
- Conditionnement adapté à la fréquence de ces bactéries (coffret de 25 tests).

j.1) Principe

La galerie Api 20E permettant l'identification des espèces appartenant à la famille des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif, est composée de deux entités comprenant chacune 10 tests miniaturisés munis de substrats déshydratés. Ils détectent généralement une activité enzymatique, principalement liée à la fermentation des glucides ou au catabolisme des protéines ou des acides aminés par les organismes inoculés.

Les différents tests dans l'API 20E

- 1- ONPG : test de l'enzyme β -galactosidase par hydrolyse du substrat o-nitrophényl-bD-galactopyranoside
- 2- ADH: décarboxylation de l'acide aminé arginine par l'arginine dihydrolase
- 3- LDC: décarboxylations de l'acide aminé lysine par la lysine décarboxylase
- 4- ODC: décarboxylations de l'acide aminé ornithine par l'ornithine décarboxylase
- 5- CIT: utilisation du citrate comme seule source de carbone
- 6- H₂S: production de sulfure d'hydrogène
- 7- URE: test de l'enzyme uréase
- 8- TDA (Tryptophane désaminase): détection de l'enzyme tryptophane désaminase: réactif à mettre - Chlorure ferrique.
- 9- IND: Test Indole - production d'indole à partir de tryptophane par l'enzyme tryptophanase. Réactif - L'indole est détecté par l'ajout du réactif de Kovac.

10- VP: le test de Voges-Proskauer pour la détection de l'acétoïne (acétylméthylcarbinol) produite par fermentation du glucose par des bactéries utilisant la voie du butylène glycol

11- GEL: test de production de l'enzyme gélatinase qui liquéfie la gélatine

12- GLU: fermentation du glucose (sucre hexose)

13- MAN: fermentation du mannose (sucre hexose)

14- INO: fermentation de l'inositol (polyalcool cyclique)

15- SOR: fermentation du sorbitol (sucre d'alcool)

16- RHA: fermentation du rhamnose (sucre de méthyl pentose)

17- SAC: fermentation du saccharose (disaccharide)

18- MEL: fermentation du mélibiose (disaccharide)

19- AMY: fermentation de l'amygdaline (glycoside)

20- ARA: fermentation de l'arabinose (sucre pentose)

j.2) Mode opératoire

Les étapes suivantes sont réalisées conformément à la notice du fabricant.

▪ Préparation de l'inoculum

A partir d'une subculture, des colonies sont prélevées à l'aide d'un écouvillon stérile puis transférées dans un tube à essai avec de l'eau physiologique stérile 0,85% jusqu'à l'obtention d'une suspension bactérienne homogène d'opacité égale à 0,5 McFarland, au moyen d'un spectrophotomètre (Absorbance = 0.08 voir annexe 3).

▪ Inoculation de la galerie

La suspension bactérienne préparée a été introduite dans chaque microtube à l'aide d'une pipette pasteur munie d'une poire. Les microtubes des tests CIT, VP et GEL ont été remplis par l'inoculum jusqu'à la cupule alors que les microtubes correspondant aux tests : ADH, LDC, ODC, H₂S et UREE, les cupules ont été remplies par l'huile de vaseline pour assurer la condition d'anaérobiose.

▪ Incubation de la galerie

La galerie API 20E est incubée à 26°C ±2°C pendant 48 heures.

Avant d'entamer la lecture de la galerie, il est nécessaire de rajouter les réactifs suivants : Perchlorure de Fer (TDA), réactif de Kovacs (IND), réactif de KOH et d' α -naphthol (VP1 et VP2), réactif de Griess et poudre zinc (NIT 1 et NIT 2).

▪ **Lecture et interprétation**

La lecture des réactions (positives ou négatives) se fait en fonction des variations des couleurs (figure 20), les résultats sont interprétés à l'aide d'un tableau de lecture trouvé dans le guide de la galerie établi par les fournisseurs, et l'identification est obtenue à l'aide du logiciel d'identification APIWEB™ (Biomérieux). Les tests sont regroupés en triplets (groupe de 3 microtubes). Une réaction négative vaut toujours 0 point tandis qu'une réaction positive vaut 1, 2 ou 4 points selon la position de microtube dans le triplet. On additionne à l'intérieur de chaque triplet les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient enfin un code de sept chiffres qui correspond à l'identification de la souche.

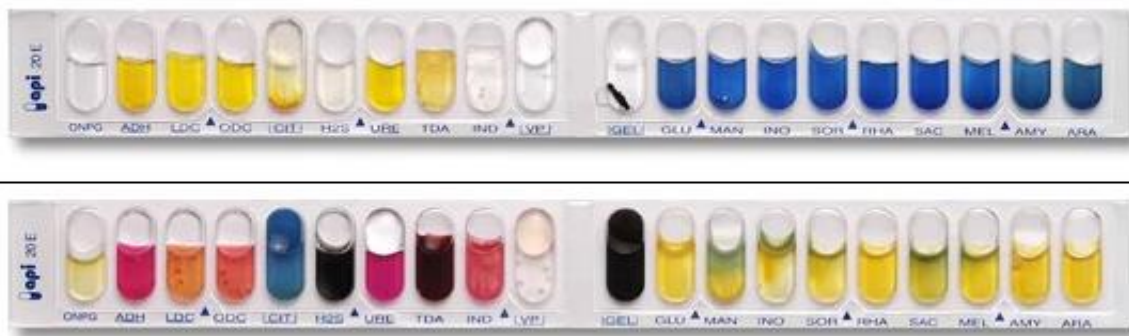


Figure 20 : Lecture de la galerie Api 20^E.

1.3.4.3. Tests de phytopathogénicité

a. Test sur plant d'olivier sain

Des plants d'olivier (*Olea europaea*) certifiés sains de l'Institut National de Protection des Végétaux (INPV, Alger), âgés d'une année (Figure 21) ont été artificiellement inoculés par 10 μ l d'une suspension bactérienne de 10^8 UFC/ml de 48 heures, au niveau des tiges principales (sur l'écorce du rameau) par le moyen d'une blessure pratiquée à l'aide d'un scalpel stérile (2 mm de profondeur et 2 mm de largeur).



Figure 21 : Plant d'olivier sain servant au test de phytopathogénéicité.

L'incision est, ensuite, couverte par un coton, enlevé par la suite après 36 heures. Les plants d'oliviers sont, ensuite, placés dans la salle de culture à une température variant entre 25 et 30°C, et inspectés chaque semaine pour la formation des nœuds jusqu'à 90 à 120 jours (Alvarez et *al.*, 1998 ; Lamichhane et Varvaro, 2013).

b. Test sur tranches de carotte

Un autre test alternatif proposé par FelizDoksöz et Bozkurt en 2020 a été réalisé. Ce test de phytopathogénéicité réalisé sur tranches de carottes fraîches (*Daucus carota*) est considéré comme simple, sensible et relativement rapide donnant un résultat positif fiable au bout de 14 jours. Les racines ont été lavées sous l'eau du robinet, désinfectées par trempage dans l'éthanol à 70% pendant 5 min, puis rincées 3 fois avec l'eau distillée stérile, et séchées sur papier filtre stérile. Après stérilisation de surface, les racines de la carotte ont été pelées et couper en tranches. A partir d'une culture de 48 heures sur milieu King B, une suspension bactérienne de 10^8 UFC/ml a été préparée. Les tranches ont été inoculées avec 50 μ l d'une suspension précédemment préparée. Puis placées sur papier filtre stérile humidifié dans des boîtes de Pétri. Les boîtes de Pétri fermées avec du Parafilm ont été incubées à 25 ± 2 ° C, et inspectées deux fois par semaine pour la formation des nœuds (FélizDoksöz et Bozkurt, 2020).

Des témoins négatifs ont été inoculés avec de l'eau distillée stérile et installés dans les mêmes conditions

c. Test complémentaire

Ce test a été réalisé par la souche isolée de la région de El Asnam (détails dans le tableau II)

c.1) Sensibilité des cultivars de l'olivier vis-à-vis d'une souche de *Pseudomonas savastanoi*

Ce test a été réalisé sur des plants d'olivier sains de quatre variétés différentes (Chemlal, Sigoise, Arbequina, Azeradj) âgés de deux ans. Des petites blessures (1mm de profondeur et 3mm de largeur) ont été réalisées sur les rameaux de chaque plant à l'aide d'une lame de bistouri (3 répétitions pour chaque variété).

Ces blessures sont ensuite inoculées par une souche confirmée de *Pseudomonas savastanoi*, ensuite les blessures sont couvertes avec le papier parafilm pendant 2 jours, ce papier est enlevé dès le 3^{ème} jour. Les observations sont effectuées chaque semaine pendant une période de deux mois pour une éventuelle apparition des tumeurs (test classique de phytopathogénéicité).

c.2) Essai de sensibilité d'une gamme d'hôte

Pseudomonas savastanoi peut infecter aussi d'autres hôtes, en particulier le laurier-rose (*Nerium oleander*), le frêne (*Fraxinus excelsior*), le troène (*Ligustrum japonicum*) et le jasmin (*Jasminum officinale* L.) sur lesquels ils provoquent des symptômes similaires à la tuberculose de l'olivier (Marchi et al., 2005). Nous avons utilisé des plants de jasmin blanc (*Jasminum officinale*), de jasmin d'hiver (*Jasminum nudiflorum*), de laurier rose (*Nerium oleander*), la procédure d'inoculation artificielle est la même que pour le test de pathogénéicité sur les plants d'olivier (Tsuji et al., 2017).

1.3.4.4. Identification moléculaire par test PCR

a. Extraction et purification de l'ADN

Pour la préparation de l'ADN bactérien, une seule colonie de culture pure fraîche a été mise en suspension et homogénéisée dans 1 ml d'eau grade biologie moléculaire ; la lyse des cellules

bactériennes a été réalisée par choc thermique à 95°C pendant 15 min en utilisant un bloc chauffant (Stuart) suivi d'un refroidissement immédiat avec de la glace pendant 5 min. Pour la purification, l'extrait bactérien a été centrifugé pendant 3 min à 5000 g (Centrifugeuse : Eppendorf), le surnageant a été utilisé pour la PCR.

b. Amplification de l'ADN

Les amorces utilisées pour l'amplification du gène *iaaL* étaient les suivantes : amorce *iaaL* Forward 5'-GGCACCACGGGCAACATCAA-3' ; amorce *iaaL* Reverse, 5'-CGCCCTCGGAACTGCCATAC-3' (Penyalver et *al.*, 2000).

Les réactions PCR ont été réalisées en combinant les réactifs suivants dans un mélange réactionnel : 5 µl de tampon Taq (SOLIS BIODYNE), 3 µL de MgCl₂ 25 mM (SOLIS BIODYNE), 2 µl de dNTPs 10 mM (mélange des quatre désoxynucléosides triphosphates : Sigma), 1 µL de chaque solution d'amorce à 10 µM *iaaL* F et *iaaL* R (PRIMM Technology), 0,4 µL de TaqDNA polymérase 5U/µL (FIREPol DNA polymérase de SOLIS BIODYNE) et 35,6 µl d'eau de qualité moléculaire par réaction (volume final 48 µl). Ensuite, 2 µl de l'extrait d'ADN bactérien ont été ajoutés (Tableau VI).

Tableau VI : Préparation du mélange réactionnel de PCR.

Réactifs	Concentration initiale	Volume utilisé par échantillon (par tube eppendorf) en μl	Concentration finale par tube
Eau pure	/	35.6	
Tampon Taqpolymerase	10x	5	1x
Mg Cl ₂	25Mm	3	1.5mM
DNTPs	10Mm	2	0.4mM
Amorce iaaL F	10 μ M	1	0.2 μ M
Amorce iaaL R	10 μ M	1	0.2 μ M
Taqpolymérase	5 U/ μ l	0.4	0.04 U/ μ l
ADN bactérien	/	2	/
Total		50	

Les échantillons ont été amplifiés par 1 cycle de 94°C (5 min), suivi de 35 cycles de 94°C (30 s), 60°C (45 s) et 72°C (45 s) puis 1 cycle de 72 °C pendant 5 min dans un thermocycleur SimpliAmp 9600 (Applied Biosystems). Après amplification, 3 μ L de tampon de charge de gel (Sigma Aldrich) ont été ajoutés pour chaque échantillon.

c. Préparation du gel d'agarose et visualisation des bandes d'ADN

Pour la préparation de gel d'agarose à 1%, 1,4 g d'Agarose grade biologie moléculaire (Fischer Scientific) ont été dilués dans 140 ml de tampon Tris Acétate EDTA (Sigma Aldrich), après agitation, la coloration est assurée par l'ajout de 14 μ l de SUBER safe DNA Gel Stain (Invitrogen by ThermoFischer Scientific). Pour la séparation ; L'électrophorèse horizontale sur agarose a été utilisée dans un tampon Tris Acétate EDTA, elle a été réalisée pendant une heure à 100 V. Des marqueurs de poids moléculaire de 100 pb (PCR 100 pb Ladder, Sigma-Aldrich) ont été utilisés. Les empreintes d'ADN ont été visualisées avec un trans illuminateur UV (Penyalver et *al.*, 2000).

1.3.5. Analyse statistique

Pour la comparaison entre les trois wilayas constituant notre zone d'étude (Bouira Tizi-Ouzou et Bejaïa), le test ANOVA à un facteur contrôlé a été utilisé.

Résultats

&

Discussion

2. Résultats et discussion

La présente étude a englobé deux grandes parties, la première consacrée aux prospections sur terrain ayant été effectuée dans la région centre d'Algérie (140 sites dans plusieurs communes des wilayas de (Bouira, Tizi-Ouzou et Bejaïa) dans le but de faire une cartographie de la tuberculose de l'olivier, et d'estimer l'incidence et l'intensité d'attaque de la maladie dans la région d'étude.

La deuxième partie quant à elle consistait en l'isolement de l'agent pathogène à partir d'arbres présentant les symptômes ainsi que son identification phénotypique et moléculaire.

2.1. Résultats de l'étude bioclimatique

Les résultats de l'étude bioclimatiques sont représentés dans le tableau VII.

Tableau VII : Représentation des données relatives aux étages bioclimatiques (2012-2022).

Wilaya	Commune	Altitude (m)	P (mm)	M (K°)	m (K°)	QE	Etagebioclimat ique
Bouira	Semach	466	528	309.15	279,15	59,83	Semi-aride Hiver doux
	Sour El Ghozlane	889	456	307.15	276,15	50,43	Semi-aride Hiver frais
	Kadiria	172	608	307.15	279,15	74,07	Sub-humide Hiver doux
	El Hachimia	719	489	308.15	277,15	53,90	Semi-aride Hiver tempéré
	Mechdallah	436	519	309.15	279,15	58,81	Semi-aride Hiver doux
	Bireghbalou	632	495	308.15	278,15	56,28	Semi-aride Hiver tempéré
	El Asnam	423	506	309.15	280,15	59,21	Semi-aride Hiver doux
	BorjKhris	743	410	309.15	277,15	43,70	Semi-aride Hiver tempéré
	Bouira	519	544	310.15	279,15	59,55	Semi-aride Hiver doux
	Aomar	371	548	309.15	277,15	58,41	Semi-aride Hiver tempéré
Tizi- Ouzou	Ouacif	572	530	307.15	276,15	58,62	Semi-aride Hiver frais
	Azazga	435	618	305.15	278,15	78,48	Sub-humide Hiver tempéré
	Yakouran	765	644	304.15	275,15	76,67	Sub-humide Hiver frais
	Laazib	206	603	309.15	279,15	68,33	Sub-humide Hiver doux
	Azefoun	33	638	307.15	280,15	80,46	Sub-humide Hiver doux
	Tighzirt	65	674	306.15	280,15	88,42	Sub-humide Hiver doux
	Makouda	306	544	309.15	278,15	59,76	Semi-aride Hiver tempéré
	Ain-El Hammam	1200	748	302.15	274,15	92,70	Sub-humide Hiver frais
	Boghni	249	465	307.15	278,15	54,79	Semi-aride Hiver tempéré

Bejaïa	Béjaïa	83	648	308.15	281,15	81,45	Sub-humide Hiver chaud
	Tichy	04	624	309.15	281,15	75,50	Sub-humide Hiver chaud
	Aoukas	10	619	309.15	281,15	74,90	Sub-humide Hiver chaud
	Melbou	10	619	308.15	280,15	75,15	Sub-humide Hiver doux
	Ouzelaguen	152	600	309.15	279,15	68,00	Sub-humide Hiver doux
	Sidi Aich	96	609	309.15	280,15	72,44	Sub-humide Hiver doux
	Souk Thenin	19	622	308.15	281,15	78,18	Sub-humide Hiver chaud
	Beni Maouch	1000	724	303.15	275,15	89,43	Sub-humide Hiver frais
	El Kseur	84	612	307.15	280,15	77,19	Sub-humide Hiver doux
	Akbou	215	522	309.15	279,15	59,15	Semi-aride Hiver doux

Q : quotient pluviométrique d'Emberger, M : la moyenne des températures du mois le plus chaud en kelvin, m : la moyenne des températures du mois le plus frais en kelvin, P : pluviométrie annuelle en mm, $K^{\circ} = C^{\circ} + 273,15$.

Le calcul du quotient d'Emberger des sites de notre zone d'étude nous a permis de définir deux étages bioclimatiques sub-humide ($603 < P < 748$ mm/an), et sub-aride ($410 < P < 548$ mm/an) avec différentes variantes d'hiver allant d'hiver frais à hiver chaud ($1 < m < 8$ °C) (figure 22). D'après Djellouli et *al.* (2020), les iso-bioclimats hyper humides ont disparu, les iso-bioclimats humides ont diminué, tandis que les subhumide et semi-aride persistent.

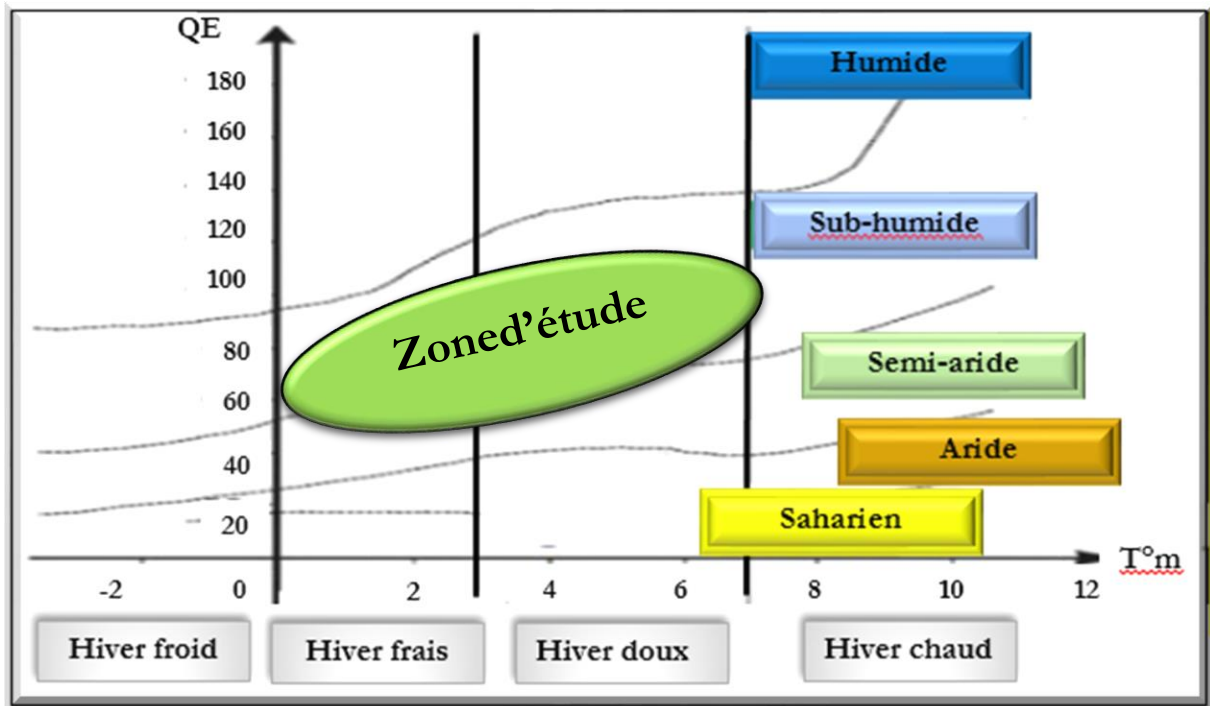


Figure 22 : Etages bioclimatiques de la région d'étude (calcul du QE).

La pluviométrie constitue un facteur écologique fondamental qui influence l'activité trophique et reproductrice des êtres vivants. D'après Ramade (1990), en méditerranée, le régime des précipitations est hivernal. Les pluies annuelles tombent surtout durant les trois mois d'hiver.

Les précipitations diminuent du nord au sud et d'est en ouest. Les moyennes pluviométriques annuelles varient de 25 mm dans les régions sahariennes à plus de 1200 mm dans certaines localités du nord, cette variation dans l'espace dépend de la latitude, de la continentalité et du relief.

L'altitude a un effet sur la pluviosité, une dissymétrie très nette existe entre les versants, les versants exposés au nord sont les plus arrosés, les versants exposés au sud sont les plus secs.

2.2. Prospection sur terrain

Les prospections sur le terrain, menées dans plusieurs wilayas du centre de l'Algérie révèlent que la distribution de la maladie est variable d'une wilaya à l'autre et même d'une commune à l'autre.

2.2.1. Symptômes

Les vergers oléicoles sont omniprésents dans tout le nord de l'Algérie et plus particulièrement en Kabylie (zone prospectée) et ils se concentrent essentiellement dans des zones montagneuses. Ils se trouvent généralement en contre-bas du village, et ce pour deux raisons d'après les anciens ; pour mieux surveiller les exploitations, et pour permettre la mobilisation et l'acheminement des eaux pluviales vers les exploitations. Ce qui signifie que l'olivier a des préférences pour un climat plutôt doux et pour une pluviométrie importante qui sont des conditions favorables à son développement mais aussi au développement de maladies, telle que la tuberculose causée par *P. savastanoi pv savastanoi*.

Les nœuds d'olivier sont facilement reconnaissables lorsque les symptômes sont bien développés (figure 23a).

Les prospections effectuées dans les différentes oliveraies ont permis d'observer des excroissances tumorales de 0.5 à plus de 10 cm de diamètre, survenant sur les rameaux, les branches et les troncs de l'arbre, mais jamais sur les feuilles et fruits. Ces tumeurs parenchymateuses sont de forme régulière à irrégulière, de couleur verte à noirâtre, et à surface lisse à rugueuse (figure 23b). Ces observations concordent avec celles de Ramos et *al.* (2012) qui ont rapporté que les nœuds apparaissent sur différentes parties de la plante mais principalement sur le tronc, les brindilles et les jeunes branches ; de même Khezri et *al.* (2019) ont rapporté la formation des nœuds seulement sur le tronc et les branches d'oliviers de 4 ans dans un verger de la province du Golestan, située au nord de l'Iran. Toutefois, Tsuji et *al.* (2017) qui ont signalé la présence de la tuberculose pour la première fois au Japon ont observés des nœuds formés sur les branches et les rameaux mais également sur les feuilles. Dans les travaux de Beyoub (2011) effectués dans l'ouest de l'Algérie, des tumeurs de *Pseudomonas savastanoi* formées sur les feuilles ont été observées dans la wilaya de Mascara.



a



b

Figure 23 : Tumeurs (nœuds) observées lors de la prospection d'un verger.
a- Symptômes caractéristiques observés sur troncs et rameaux lors des prospections.
b- Aspect des nœuds ayant servi à l'analyse et les recherches de l'agent causal.

2.2.2. Incidence de la maladie

Sur la base de données bibliographiques, cette bactérie a été détectée dans 21 pays sur les cinq continents, dont la majorité existent dans le bassin méditerranéen, et l'Algérie en fait partie des plus touchés (Chliyeh et *al.*, 2017).

Pour chaque commune prospectée, nous avons procédé d'abord par l'évaluation des incidences globales (nombre de vergers infectés sur le total des vergers prospectés), puis par l'évaluation de l'incidence par verger (nombre d'arbres atteints par verger choisi pour l'échantillonnage).

La maladie est distribuée d'une manière hétérogène dans la région d'étude, et des différences ont été notées entre les trois wilayas prospectées, entre communes et même au sein des sites de la même commune (tableau VIII).

Tableau VIII : Incidence de la tuberculose de l'olivier dans la région centre de l'Algérie.

Wilaya	Localité	Incidence globale (Nombre champs attaqués / champs visités)	Variété	Incidence par verger Nombre d'arbres atteints/total arbres
Bouira	Semach	4/5	Chemlal	21/115 (18%)
	Sour el Ghozlane	2/5	Chemlal	4/46 (8%)
	Kadiria	3/5	Chemlal	33/90 (37%)
	El Hachimia	3/5	Chemlal	4/70 (5%)
	Mechdallah	4/5	Chemlal	17/142 (12%)
	Bireghbalou	2/5	Chemlal	6/45 (13%)
	El Asnam	3/5	Azeradj	150/300 (50%)
	BorjKhris	2/5	Chemlal	15/92 (16%)
	Bouira	3/5	Chemlal	7/60 (12%)
	Aomar	3/5	Chemlal	17/50 (34%)
Tizi- Ouzou	Ouacif	3/5	Chemlal	24/100 (24%)
	Azazga	2/5	Chemlal	14/98 (14%)
	Yakouran	2/5	Azeradj	3/31 (10%)
	Laazib	3/5	Chemlal	17/83 (20%)
	Azefoun	4/5	Chemlal	44/102 (43%)
	Tighzirt	3/5	Chemlal	62/90 (69%)
	Makouda	2/5	Azeradj	17/55 (31%)
	Ain El Hammam	3/5	Chemlal	40/120 (33%)
	Boghni	1/5	Azeradj	7/75 (9%)
Béjaia	Béjaia	1/5	Limli	12/85 (14%)
	Tichy	2/5	Chemlal	6/48 (12%)
	Aoukas	1/5	Azeradj	9/80 (11%)
	Melbou	1/5	Chemlal	4/38 (10%)
	Ouzelaguen	2/5	Azeradj	10/78 (13%)
	Sidi Aich	1/5	Chemlal	6/70 (9%)
	Souk Thenin	2/5	Chemlal	25/83 (30%)
	Beni Maouch	1/5	Azeradj	5/60 (8%)
	El Kseur	2/5	Taksrit	7/60 (11%)

Les données relatives à l'incidence globale de la maladie (nombre de vergers atteints sur le total des vergers prospectés) dans chacune des trois wilayas sont représentées dans le tableau IX.

Tableau IX: Incidence globale de la maladie en fonction de la wilaya.

Wilaya	N	Moyenne	EcTyp	IC à 95 %
Bouira	10	58,00 ^a	14,76	(48,48; 67,52)
Tizi-Ouzou	9	51,11 ^a	17,64	(41,08; 61,14)
Béjaia	9	28,89 ^b	10,54	(18,86; 38,92)

N : Nombre de communes ; EcTyp : Ecart Type ; IC : Intervalle de Confiance.

Le pourcentage des vergers atteints dans la wilaya de Bouira et tizi-ouzou dépasse 50%, ce qui reflète une dissémination inquiétante de la maladie, ce pourcentage est beaucoup plus faible dans le cas de la wilaya de Béjaia. Le test de simultanéité de Tukey pour les différences des moyennes des incidences par verger a révélé une différence hautement significative ($p \leq 0.01$) en moyenne entre les wilayas de Tizi-Ouzou et Béjaia ainsi que Bouira et Béjaia, cependant aucune différence n'a été enregistrée entre les wilayas de Bouira et Tizi-Ouzou

L'agent pathogène peut s'introduire dans de nouvelles zones principalement par le biais de matériel végétal infecté (symptomatiques ou non symptomatiques), la bactérie peut survivre et se multiplier sous forme épiphyte à la surface des plantes (Quesada *et al.*, 2007). Les populations épiphytes de *P. savastanoi pv. savastanoi* sur les oliviers peuvent donc être disséminées sur de longues distances. L'introduction de ce pathogène dans plusieurs oliveraies de la région de Kabylie peut être expliquée par l'utilisation du matériel de pépinière non contrôlé. Le matériel de pépinières des oliveraies dans la région de Kabylie est produit en grande partie localement sans passage par les autorités phytosanitaires, et donc peut probablement contenir des populations épiphytes de *P. savastanoi*.

L'analyse des moyennes des incidences par verger de la maladie (nombre d'arbres atteints sur le total des arbres du verger échantillonné) dans les trois wilayas est représentée dans le tableau X.

Tableau X : Incidence par verger de la maladie en fonction de la wilaya.

Wilaya	N	Moyenne	EcTyp	IC à 95 %
Bouira	10	20,50 ^{ab}	14,71	(11,45 ; 29,55)
Tizi-Ouzou	9	30,44 ^a	17,79	(20,90 ; 39,99)
Bejaïa	9	13,11 ^b	6,60	(3,57 ; 22,65)

N : Nombre de communes ; EcTyp : Ecart Type ; IC : Intervalle de Confiance.

L'incidence moyenne de la maladie à l'intérieur des vergers représentatifs des communes de la wilaya de Tizi-ouzou est de 30%. Celle de la wilaya de Bouira est de 20.5%, l'incidence la plus faible est enregistrée au niveau de la wilaya de Bejaïa (13%). Le test de simultanéité de Tukey pour les différences des moyennes des incidences par verger a révélé une différence significative ($p \leq 0.05$) en moyenne entre les wilayas de Tizi-Ouzou et Bejaïa, cependant aucune différence n'a été enregistrée entre les wilayas de Bouira et Tizi-Ouzou, ni entre Bouira et Bejaïa).

Selon les travaux de Queda et *al.* (2010), dans un même verger, la population de *P. savastanoi pv savastanoi* peut atteindre des plantes asymptomatiques à partir d'oliviers présentant des tumeurs par le moyen de pratiques culturales, la pluie, les aérosols formés par le vent ou par les insectes. Etant donnée qu'il s'agit d'un pathogène opportuniste qui dépend des blessures comme points d'entrée pour provoquer la maladie, les blessures produites par les bâtons au cours de la récoltes peuvent permettre l'apparition d'infections supplémentaires, favorisant l'apparition de nouveaux nœuds au printemps suivant et améliorant par conséquent la disponibilité de l'inoculum. La dissémination de la maladie est plus importante dans les vergers à hautes densité de plantation que dans les vergers conventionnels.

Les travaux de Nguyen et *al.* (2017) et Queda et *al.* (2010) ont montré l'existence d'une corrélation positive entre le volume initial de la population *P. savastanoi* épiphyte et le nombre de nœuds sur les oliviers ; et donc avec le niveau des populations épiphytes et le degré auquel la maladie se développe après plusieurs années et l'impact ultérieur de la maladie sur le développement des plantes. Cela indique que la gestion des populations épiphytes de *P. savastanoi* et le maintien de plantes sans nœuds dans les oliveraies entraîneront probablement une diminution de l'incidence de la maladie.

L'incidence globale ainsi que l'incidence par verger ont été évaluées pour chaque commune des trois wilayas de la zone d'étude.

a- Bouira

Le pourcentage des vergers atteints (nombre de vergers atteints par rapport au total prospecté), ainsi que l'incidence de la maladie par verger échantillonné de la wilaya de Bouira sont représentés dans les figures 24 et 25 respectivement.

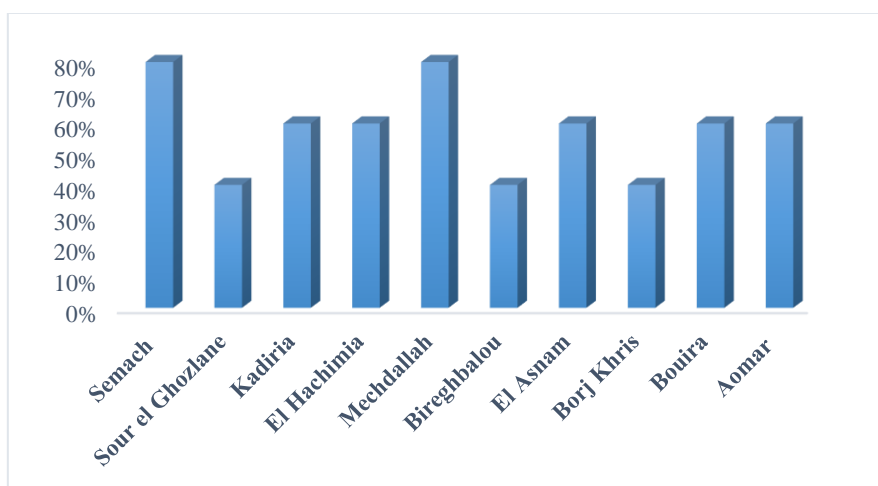


Figure 24 : Pourcentage de vergers atteints dans la wilaya de Bouira.

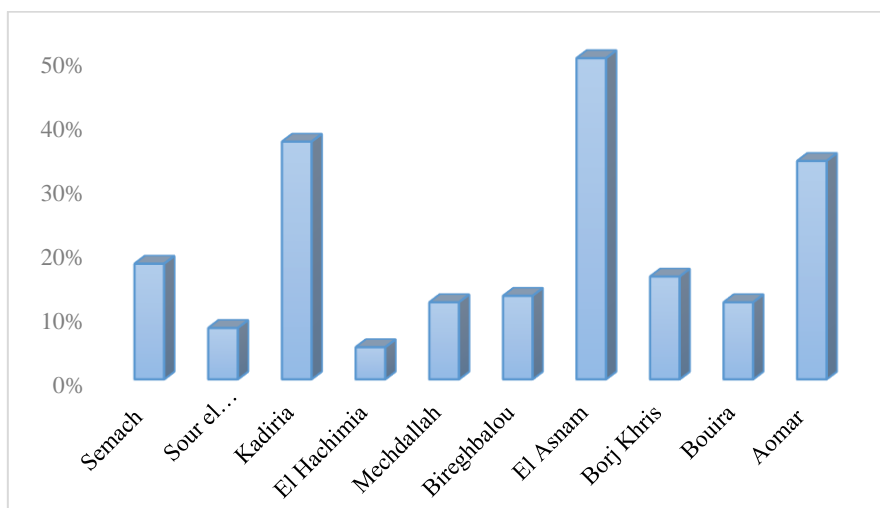


Figure 25 : Incidence de la tuberculose de l'olivier dans le verger échantillonné de la wilaya de Bouira.

Dans la région de Bouira, la prospection a révélé un taux d'atteinte des vergers allant de 40 à 80% avec un taux d'atteinte d'arbres par verger échantillonné partant de 5 à 50%.

Les communes de Semach et Mehdellah s'avèrent les plus infectées avec un taux d'incidence global respectif de 80%, nous avons noté dans ces communes une dominance de vergers vieux (Plus de 50 ans) supposés avoir reçus plus de travaux d'entretien et de récolte, affectant la vigueur de l'arbre.

Le verger échantillonné dans la commune d'El Hachimia présente un taux d'incidence inférieur à 10%, sachant que l'activité de l'oléiculture dans cette zone est récente et disposant de vergers très jeunes qui ont subi peu de travaux d'entretien et qui ne sont pas encore entrés en production.

b- Tizi-Ouzou

Le pourcentage de vergers atteints, ainsi que l'incidence de la maladie dans la wilaya de Tizi-Ouzou sont représentés dans les figures 26 et 27.

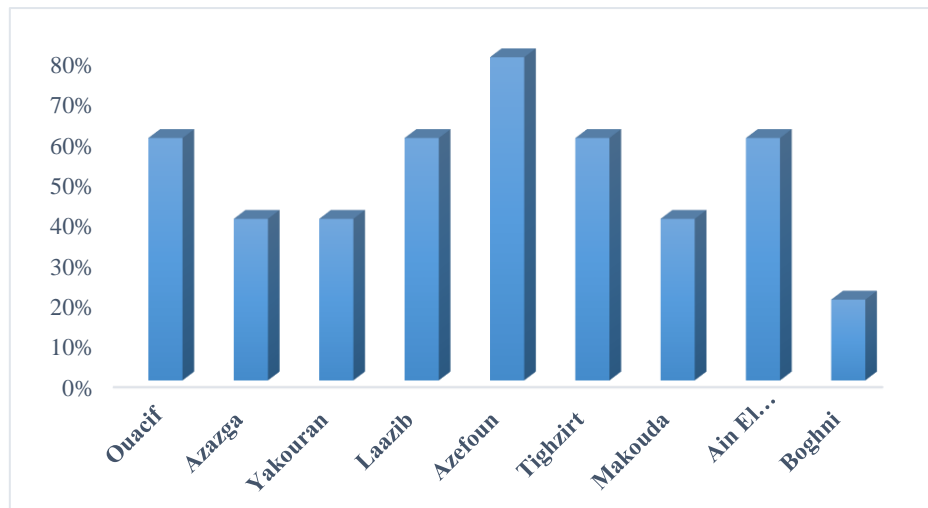


Figure 26 : Pourcentage de vergers atteints dans la wilaya de Tizi-Ouzou.

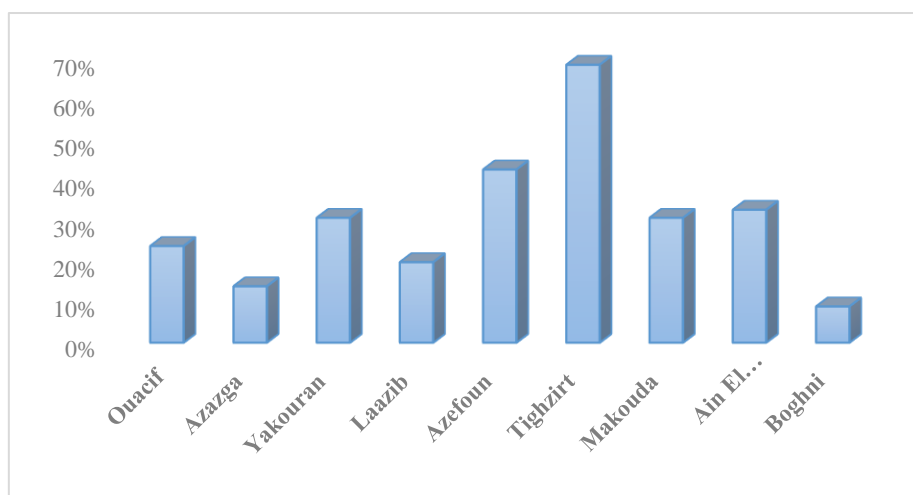


Figure 27 : Incidence de la tuberculose de l'olivier dans le verger échantillonné de la wilaya de Tizi-Ouzou.

Dans la région de Tizi-Ouzou la prospection a révélé un taux d'atteinte des vergers allant de 20 à 80% avec une incidence de la maladie par verger échantillonné partant de 9 à 69%.

La commune d'Azefoun située sur le littoral où le taux d'humidité est élevé, s'avère la plus infectée avec un taux d'incidence global de 80%, les vergers dans cette commune ont subi de multiples travaux d'entretien et de récolte durant le long de leur cycle de vie.

Le verger échantillonné dans la commune de Boghni présente un taux d'incidence inférieur à 10%, sachant que dans cette zone y a une dominance moins importante de la variété Chemlal considérée comme la plus sensible à cette maladie.

c- Bejaia

Le pourcentage de vergers atteints ainsi que l'incidence de la maladie dans le verger échantillonné de la wilaya de Bejaia sont représentés dans les figures 28 et 29.

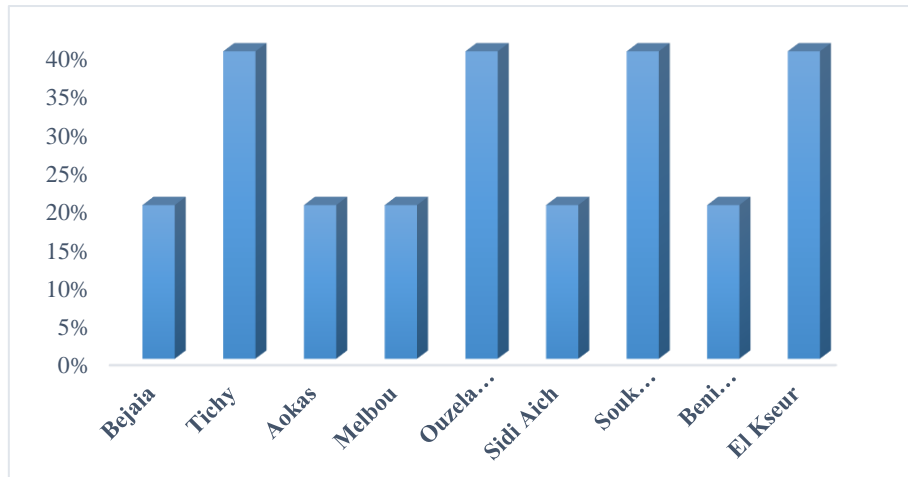


Figure 28 : Pourcentage de vergers atteints dans la wilaya de Bejaïa.

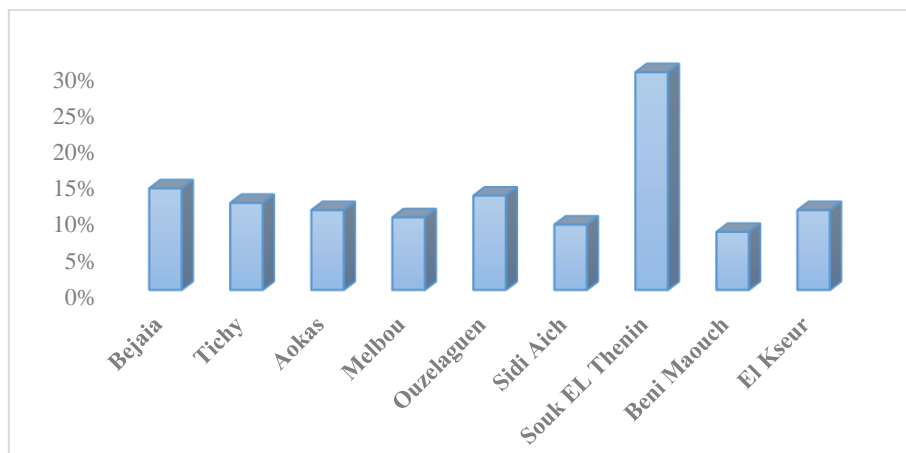


Figure 29 : Incidence de la tuberculose de l'olivier dans le verger échantillonné dans la wilaya de Bejaïa.

Tandis que dans la région de Bejaïa la prospection a démontré qu'elle est la moins atteinte par rapport aux deux régions (Bouira et Tizi-Ouzou), cette zone présente un taux d'atteinte des vergers allant de 20 à 40% avec une incidence de la maladie par verger échantillonné partant de 9 à 30%.

Quatre communes ont présenté une incidence globale équitable de 40%, en revanche, dans les cinq communes restantes seulement un verger sur les cinq prospectés était infecté, soit un taux de 20%.

Nous avons noté que la wilaya de Bejaia se caractérise par un mélange variétal (Azeradj, Chemlal, Limli et Taksrit), ce qui peut être la raison de la faible dissémination de la maladie dans cette wilaya.

La commune de Souk Thenin située sur le littoral et ayant aussi un taux d'humidité élevé, s'avère la plus infectée avec un taux d'incidence par verger de 30%, il est à noter que les échantillons présentaient des tumeurs dont la taille est la plus importante par rapport aux autres.

Le verger échantillonné dans la commune de Beni Maouchsitué sur la chaîne montagneuse des Babors subissant des courants d'air pouvant affecter physiquement la végétation, et ayant un taux d'humidité moins élevé comparé à celui des autres communes de la même wilaya présente un taux d'incidence inférieur à 10%, il est à noter que les échantillons présentaient des tumeurs dont la taille est la moins importante par rapport aux autres.

2.2.3. Intensité d'attaque de l'arbre

L'intensité d'attaque de l'arbre échantillonné a été évaluée visuellement en estimant l'atteinte globale de l'arbre, et d'une manière plus objective en comptant le nombre de tumeurs sur quelques rameaux.

Nous avons noté que les oliviers sont inégalement affectés par la maladie tableau XI, ainsi trois niveaux d'attaque ont été définis pour chaque parcelle étudiée. Des arbres définis comme étant faiblement attaqués, d'autres sont moyennement attaqués et finalement des arbres fortement attaqués (figure 30).

Tableau XI : Intensité d'attaque de l'arbre olivier dans la région centre de l'Algérie.

Wilaya	Localité	Variété	Intensité d'attaque de l'arbre
Bouira	Semach	Chemlal	Fortement attaqué
	Sour el Ghozlane	Chemlal	Fortement attaqué
	Kadiria	Chemlal	Moyennement attaqué
	El Hachimia	Chemlal	Faiblement attaqué
	Mechdallah	Chemlal	Moyennement attaqué
	Bireghbalou	Chemlal	Moyennement attaqué
	El Asnam	Azeradj	Faiblement attaqué
	BorjKhris	Chemlal	Faiblement attaqué
	Bouira	Chemlal	Moyennement attaqué
	Aomar	Chemlal	Moyennement attaqué
Tizi-Ouzou	Ouacif	Chemlal	Faiblement attaqué
	Azazga	Chemlal	Faiblement attaqué
	Yakouran	Azeradj	Faiblement attaqué
	Laazib	Chemlal	Faiblement attaqué
	Azefoun	Chemlal	Fortement attaqué
	Tighzirt	Chemlal	Fortement attaqué
	Makouda	Azeradj	Fortement attaqué
	Ain El Hammam	Chemlal	Moyennement attaqué
	Boghni	Azeradj	Faiblement attaqué
Béjaia	Béjaia	Limli	Moyennement attaqué
	Tichy	Chemlal	Moyennement attaqué
	Aoukas	Azeradj	Faiblement attaqué
	Melbou	Chemlal	Fortement attaqué
	Ouzelaguen	Azeradj	Faiblement attaqué
	Sidi Aich	Chemlal	Faiblement attaqué
	Souk Thenin	Chemlal	Fortement attaqué
	Beni Maouch	Azeradj	Faiblement attaqué
	El Kseur	Taksrit	Moyennement attaqué

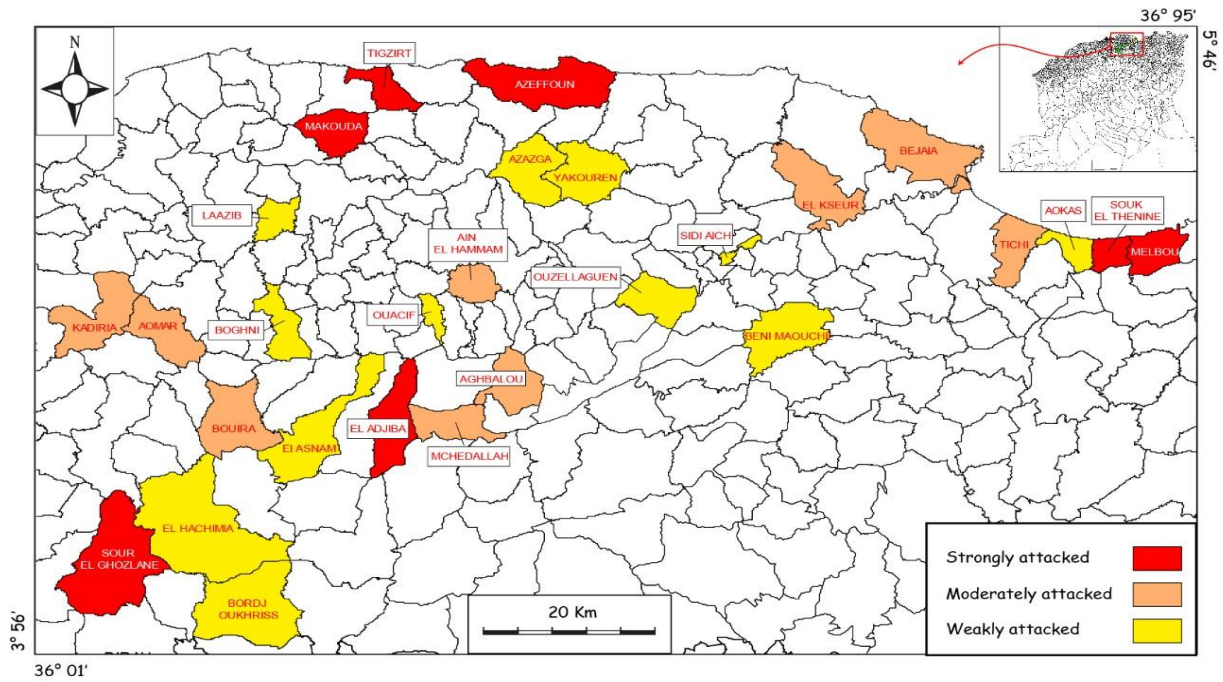


Figure 30 : Cartographie de la tuberculose de l’olivier dans les sites prospectés.

Dans notre étude les vergers ayant servi d’évaluation d’intensité d’attaque ont été pour la plupart (57%, soit 16/28 communes) moyennement à fortement attaqués par la maladie (figure 31), ce qui n’est pas différent des observations de Oulebsir-Mohandkaci et *al.* (2017) ayant noté un taux d’infestation élevé dépassant 50% dans la majorité des oliveraies prospectées(9 communes prospectées ; parmi lesquelles des sites visités lors de nos prospections dans les wilayas de Bouira et Tizi-Ouzou).

Les travaux de Krid et *al.* (2011) ont permis l’identification de quatre degrés d’attaque dans la région nord de la Tunisie à savoir infestation forte, moyenne, faible et très faible. Cette étude a révélé que l’intensité d’attaque est corrélée positivement avec la taille et le nombre des nœuds.

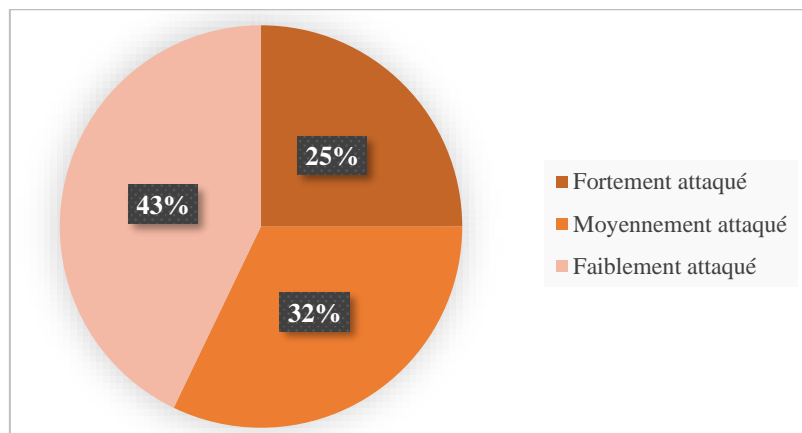


Figure 31 : Intensité d'attaque globale dans la région d'étude.

Le tableau XII représente un récapitulatif des degrés de l'intensité d'attaque de l'arbre dans toutes les communes de la région d'étude.

Tableau XII : Intensité d'attaque des arbres en fonction de la wilaya.

Wilaya	Faiblement attaqué	Fortement attaqué	Moyennement attaqué	Total
Bejaïa	4	2	3	9
Bouira	3	2	5	10
Tizi-ouzou	5	3	1	9
Total	12	7	9	28

Selon les travaux de Benjama (2003), une corrélation étroite existe entre le nombre de tumeurs par mètre linéaire et la croissance des pousses. Au fur et à mesure que le nombre de tumeurs augmente, la croissance du rameau est retardée et le nombre de grappes fruitières se trouve affecté. La maladie provoque aussi le dessèchement foliaire, pour la variété Meslala, le dessèchement et la défoliation commencent dès que le nombre de tumeurs par arbre atteint dépasse un seuil de 600 tumeurs.

La présente étude a montré que l'intensité d'attaque de l'arbre ne suit pas forcément l'incidence de la maladie, en effet, la wilaya de Tizi-Ouzou qui a montré les incidences les plus élevées a présenté une intensité d'attaque moins considérable, 56% des arbres des vergers échantillonnés se sont avérés faiblement attaqués. A titre d'exemple la région de Ouacif ayant présenté une incidence globale et une incidence par verger de 60% et 24% respectivement, était faiblement attaquée.

Même observation dans la wilaya de Bouira, pour la commune de El Asnam, faiblement attaquée, a présenté une incidence globale et une incidence par verger de 60% et 50% respectivement.

Dans le sens inverse, les communes de Melbou et Sour El Ghozlane fortement attaquées ont présenté une incidence globale respective de 20% et une incidence par verger de 10% et 8% respectivement.

Ces observations nous mènent à déduire que le moyen de dissémination de l'agent pathogène, dans le verger entre arbres ou d'un verger à un verger voisin serait différent à celui de la propagation de la maladie dans l'arbre lui-même, d'autres facteurs seraient responsables du degré d'expression de la maladie dans un arbre donné. Citons les conditions pédoclimatiques relatives à l'exposition (vent, courants d'air et soleil) ainsi que l'emplacement de l'arbre et la nature du sol (stagnation des eaux dans les points bas des sols lourds), et l'adaptation variétale. Les souches algériennes isolées lors d'une étude réalisée par Moretti et *al.* (2017) sur des échantillons de tumeurs provenant de 15 pays différents ont été classées parmi les plus virulentes. Selon Nguyen et *al.* (2017), le nombre des tumeurs formé sur un arbre dépend du cultivar de l'olivier, de la souche bactérienne et de la concentration de l'inoculum (figure 32).

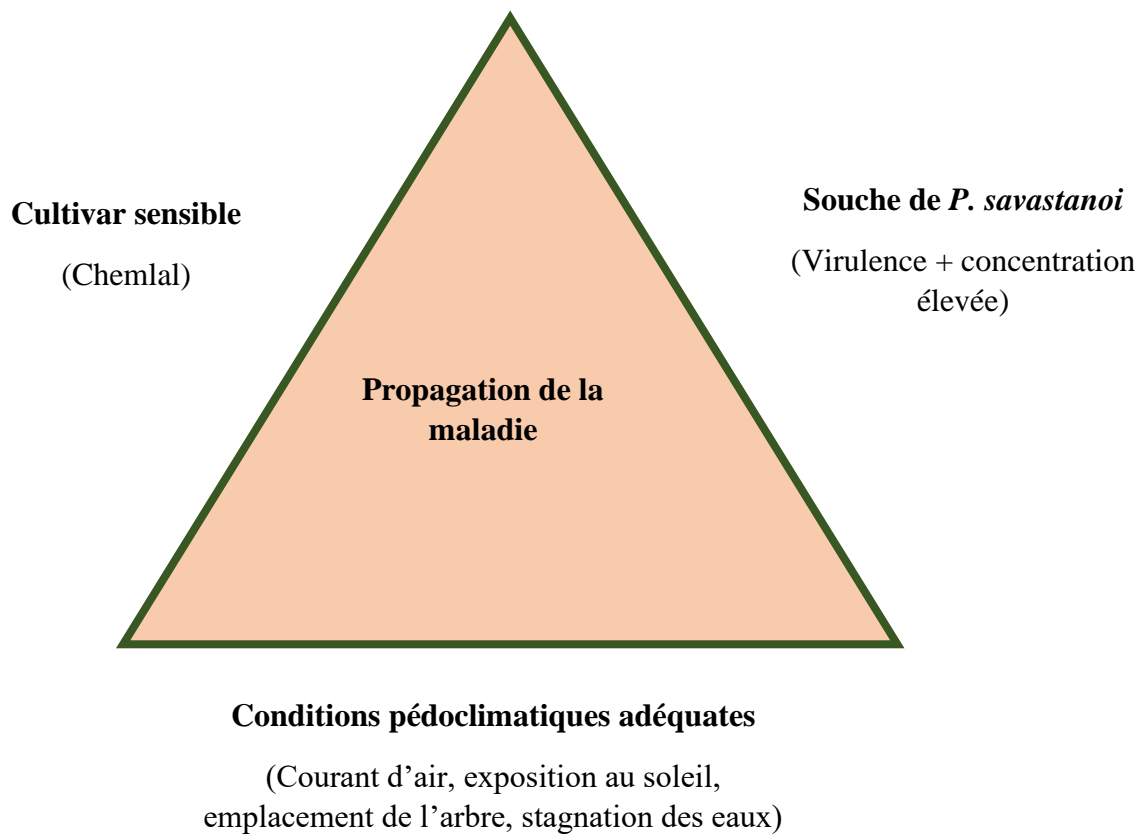


Figure 32 : Triangle de la maladie expliquant la propagation des symptômes dans un arbre.

2.3. Isolement et caractérisation phénotypique de l'agent pathogène

Au total 36 souches ont été isolées à partir des 28 sites échantillonnés. Les cultures isolées sur milieu sélectif après ensemencement des macéras de nœuds prélevés des branches échantillonnées ont fait l'objet de plusieurs tests phénotypiques ; macroscopiques et microscopique d'identification et de confirmation.

2.3.1. Aspect des cultures

Sur le milieu King B, différents types de colonies sont observées lors de l'isolement, les colonies présentant les caractéristiques morphologiques de *P. savastanoi* sont retenues, il s'agit de colonies blanches à jaune pâle mesurant 1 à 3 mm de diamètre après 3 jours d'incubation à 25°C, ressemblant à des œufs au plat, crémeuses à contours réguliers, bien circulaires avec une légère élévation (figure 33a). Il est à noter que des colonies jaunes à croissance rapide avec une production abondante de muqueuse sont souvent isolées à partir des nœuds sur le milieu King B.

Sur le milieu PVF, de petites colonies (1 à 2mm), lisses, blanc-grisâtre, légèrement surélevées sont formées après 4 jours d'incubation (figure 33b). Ces colonies correspondent bien aux descriptions de *P. savastanoi* rapportées par Surico et Livermicocca (1989).

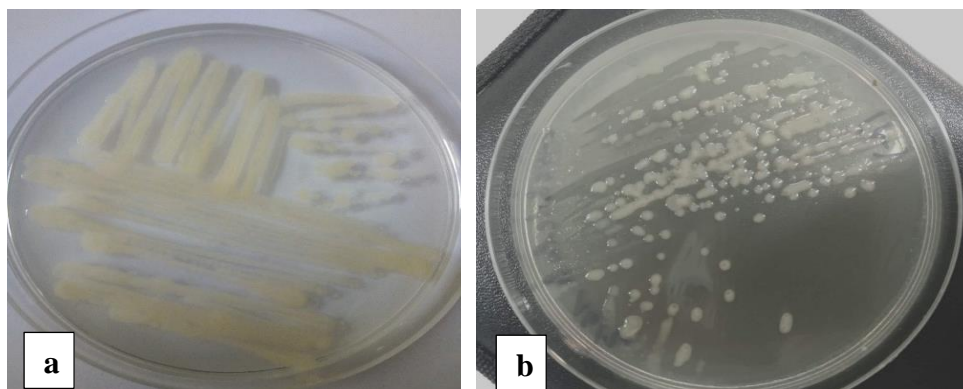


Figure 33 : Aspect de cultures sur milieu solide (a- sur King B, b- sur PVF).

2.3.2. Fluorescence

Les colonies retenues sur le milieu King B ont présenté pour la plupart une fluorescence caractéristique typique de *P. savastanoi*, jaune-vert détectable sous ultraviolets à une longueur d'onde de 360 nm (figure 34).

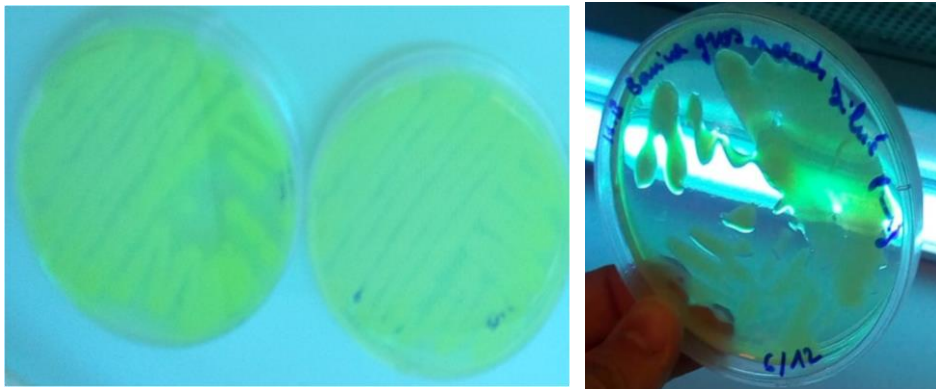


Figure 34 : Cultures ayant présenté une fluorescence caractéristique.

Le test de fluorescence est utilisé principalement pour la détection et la différenciation des *Pseudomonas*, donc celles ayant présenté cette fluorescence sont considérées comme positives et présumées *P. savastanoi*, cependant, certains isolats ne présentaient pas de fluorescence. D'après Surico et Marchi (2003), ces populations sont de plus en plus fréquentes, et présentent une capacité de croissance fractale dans des conditions environnementales limitantes (adaptation à des conditions défavorables).

La gélose King B favorise la production de pyoverdine et inhibe par ailleurs la production de pyocyanine, le phosphate dipotassique augmente la concentration en phosphore apporté par la peptone et stimule ainsi la production de fluorescéine, et le sulfate de magnésium apporte les cations nécessaires à la production de pyoverdine et inhibant la production de pyocyanine.

2.3.3. Test Gram

Les résultats obtenus pour ce test indiquent que tous les isolats appartiennent au Gram négatif, pour tous les isolats nous avons observé la formation d'un filament continu en présence d'une solution de KOH à 3 % sur la lame (figure 35).



Figure 35 : Test de Gram positif.

2.3.4. Examen microscopique par coloration de Gram

L'examen microscopique des isolats (après coloration de Gram) a montré que tous les isolats sont des bacilles à Gram négatif fins droits comme indiqués dans la figure 36. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles.

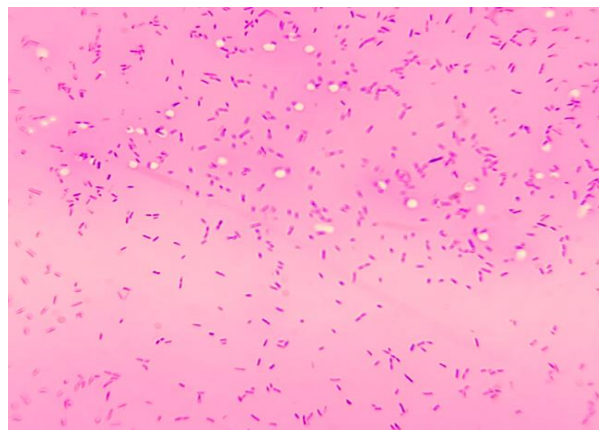


Figure 36 : Aspect microscopique de *P. savastanoi*.

Selon Suslow *et al.* (1982), l'utilisation de ce test a été très utile pour la différenciation rapide et précise d'un grand nombre de bactéries provenant des tissus végétaux. Cette méthode utilise une rupture rapide de la paroi cellulaire du gram négatif en solution alcaline libérant de l'acide désoxyribonucléique qui provoque le filetage visqueux.

2.3.5. Test de Levane

Tous les isolats retenus étaient négatifs pour le test de Levane (figure 37), mis à part l'isolat du verger de la commune d'El Asnam ayant présenté un résultat positif (figure 38) pour le test de Levane. Plusieurs auteurs ont détecté des souches levane positif à partir de souches isolées dans plusieurs pays tels que l'Espagne et l'Italie (Alvarez et al., 1998 ; Guido et al., 2005 ; Janse, 1981 ; Khezri et al., 2019; Marchi et al., 2005 ; Scortichini et al., 2004).

L'aspect négatif du test a été basé sur l'observation de stries formées de crèmes bactériennes après 4 jours ne présentant pas l'aspect luisant, et l'élévation n'est pas en dôme. La plupart des colonies formées étaient circulaires ou irrégulièrement rondes, lisses, très visqueuses et de couleur jaune pâle de relief légèrement surélevées avec un diamètre relativement grand de 3-5 mm. Ces observations sont en accord avec celles rapportés par Moretti et al. (2008) qui ont étudié 53 isolats de *P. savastano* provenant de 05 pays différents : Albanie, Italie, Maroc, Portugal et Turquie.

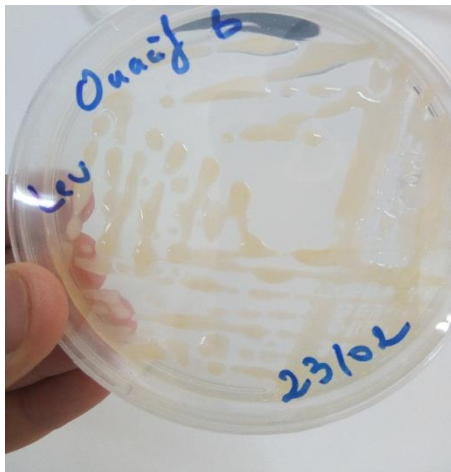


Figure 37 : Test Levane négatif



Figure 38 : Test Levane positif

2.3.6. Test oxydase

Tous les isolats étaient négatifs pour ce test (figure 39).

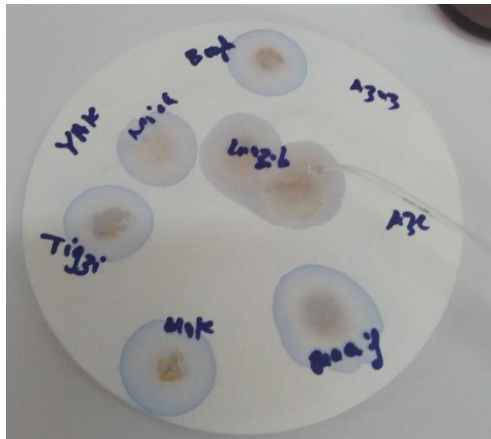


Figure 39 : Réaction d'oxydase négative.

Cette réaction négative traduit l'absence de l'enzyme oxydase intracellulaire. Ce test n'a pas permis de mettre en évidence la capacité des isolats à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacé. Les résultats obtenus sont en accord avec les données bibliographiques qui confirment que toutes les souches de *Pseudomonas savastanoi* isolées jusqu'à maintenant sont toutes oxydase négatifs (Khezri et *al.*, 2019; Lamichhane et Varvaro, 2013).

2.2.7. Test pectinase

Tous les isolats étaient négatifs pour l'activité pectinolytique après cinq jours d'incubation (figure 40).

Cette réaction négative traduit que les isolats n'ont pas montré la capacité à dégrader la pectine présente dans les rondelles de la pomme de terre. Ces résultats sont en concordance avec ceux obtenus par Guido et *al.* (2005) et qui ont rapporté que les *Pseudomonas savastanoi* ne dégradent pas les pectines.

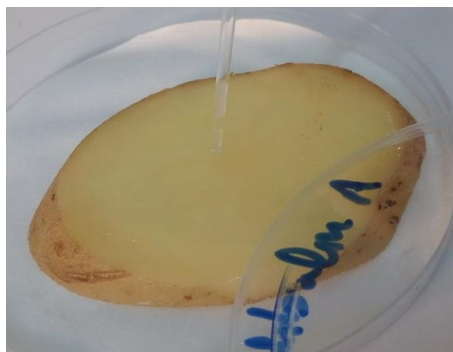


Figure 40 : Réaction négative au test de pectinase.

2.2.8. Test arginine dihydrolase

Le test est complètement négatif pour l'ensemble des isolats, Après incubation des isolats, nous avons observé le virage de la couleur du pourpre vers le jaune (figure 41), et donc ils se révèlent incapables de transformer l'arginine, ce qui indique l'absence de l'enzyme arginine déshydrolase chez ces isolats. Les données bibliographiques rapportent que toutes les souches de *Pseudomonas savastanoi* isolées jusqu'à maintenant sont toutes arginine déshydrolase négatifs (Khezri et al., 2019 ; Lamichhane et Varvaro, 2013 ; Quesada et al., 2010).



Figure 41 : Test ADH négatif sur galerie Api 20E.

2.2.9. Test de l'hypersensibilité sur feuilles de tabac

Le test d'hypersensibilité réalisé sur feuille de tabac s'est révélé positif pour tous les isolats avec des réactions variables entre lentes (plus de 48h) à très rapide (moins de 24h), et des plages de nécroses plus au moins étendues (figure 42). Les résultats obtenus pour nos souches sont en concordance avec ceux observés sur les souches de *Pseudomonas savastanoi* (Khezri et al., 2019 ; Marchi et al., 2005).



Figure 42 : Réaction d'hypersensibilité sur feuille de Tabac positive.

2.2.10. Test catalase

Le test catalase était positif pour la totalité de nos isolats en présence du réactif de H_2O_2 (figure 43).



Figure 43 : Réaction d'oxydase positive.

Une réaction positive se traduit par le dégagement des bulles d'air, résultant de la dégradation du H_2O_2 en eau et en oxygène (Khezri et *al.*, 2019). Les données bibliographiques confirment que toutes les souches de *Pseudomonas savastanoi* possèdent l'activité catalase.

2.3.11. Tests biochimiques sur galerie Api 20^E

D'après la galerie biochimique Api 20E, l'utilisation des sucres était variable d'un isolat à l'autre, 93% sont capables de dégrader le glucose, et 64% ont dégradé le mannose et le saccharose, seulement un isolat a dégradé le melibiose.

Plusieurs auteurs ont rapporté des réactions variables vis-à-vis de l'utilisation des sucres au sein des souches de *P. savastanoi* (Ghasemi et al., 2006 ;Khezri et al., 2019; Taghavi et Hasani, 2012).

Il existe une hétérogénéité phénotypique claire dans les souches de *P. savastanoi*, et cette hétérogénéité des caractères biochimiques peut être due à des facteurs environnementaux, à la disponibilité des ressources dans la plante hôte, ou au fait qu'il s'agisse de pathovars différents (Alvarez, 1998).

L'ensemble des tests préliminaires laissent penser que les isolats sont présumés des *P. savastanoi*, mais le test de phytopathogénéicité sur plan d'olivier sain reste le meilleur moyen de diagnostic de confirmation, en plus de la biologie moléculaire.

2.4. Test de phytopathogénéicité

Le test de phytopathogénéicité a été fait sur 2 hôtes différents, l'un habituellement utilisé ; le test classique sur plan d'olivier sain permettant de confirmer l'effet phytopathogène, et le deuxième utilisé très récemment sur des tranches de carottes servant d'après ses confectionneurs à une identification rapide de l'effet phytopathogène.

2.4.1. Test sur plant d'olivier

Les plants d'olivier inoculés ont été inspectés périodiquement pour l'apparition des symptômes de la pathologie. 14 inoculas ont permis le développement de nœuds caractéristiques, les symptômes sont apparus après un intervalle de 25 à 70 jours (5-10 semaines) pour *O. europaea* (figure 44),



Figure 44 : Test de phytopathogénéicité positif sur plant d'olivier.

Cette réaction est relativement plus longue comparée à celle remarquée par d'autres auteurs ; citons Lamichhane et Varvaro (2013), ayant observé la production des nœuds après 4 à 5 semaines d'inoculation. Et après un maximum de 6 semaines lors d'une autre étude (Campos et *al.*, 2009). Par contre, Saadi (2009) a rapporté une durée de 90 jours après l'infection pour l'apparition des nœuds sur plants d'olivier sains.

Les 14 isolats ayant permis le développement des symptômes sur plants d'olivier appartenaient à 14 sites parmi les sites échantillonnés localisés dans plusieurs communes des trois wilayas ; la wilaya de Bouira (Bireghbalou, Hachimia, Sour El Ghozlane, Bouira, Mehdallah, El

Asnam), la wilaya de Tizi-Ouzou (Ouacif, Azazga, Yakouren, Azefoun, Ain El Hammam), la wilaya de Bejaïa (Beni Maouche, Souk Thnin, El Kseur).

2.4.2. Test sur les tranches de carotte

Les tranches de carottes inoculées ont été inspectées plus fréquemment pour l'apparition des symptômes de la pathologie. Pour ce test de carotte, des excroissances blanches (figure 45a) sont apparues pour seulement 4 isolats après environ 25 jours d'inoculation, les 4 isolats positifs sont issus de 4 sites ; Ain El Hammam, Beni Maouche, Souk Thnin, El Kseur, ces sites sont inclus parmi ceux positifs au test de phytopathogénéicité sur plants d'oliviers. Les autres tranches restaient négatives quelle que soit la prolongation de la durée d'incubation (figure 45b).

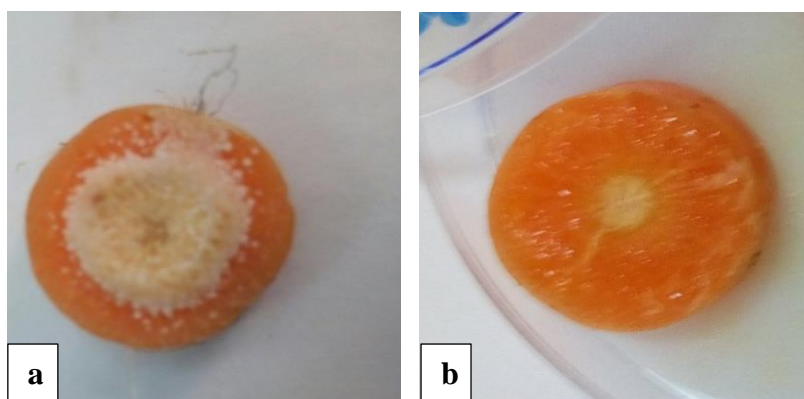


Figure 45 : Test de phytopathogénéicité sur les tranches de carotte (a- positif, b- négatif).

Selon FelizDoksöz et Bozkurt (2020) qui ont mis en place ce test, la première formation de nœuds sur les tranches de carottes a été observée une semaine après l'inoculation et les nœuds typiques ont été développés complètement dans les deux semaines après l'inoculation, les auteurs attestent que cette technique pourrait être utilisée avec succès pour la pathogénicité de *P. savastanoi*. Ce qui est relativement différent de nos résultats, en effet, les excroissances n'apparaissaient complètement qu'après 4 semaines d'inoculation et pas sur toutes les matrices.

Il est à noter que les résultats de ce test mis en place par les auteurs cités précédemment n'ont pas été vérifiés à grande échelle par d'autres auteurs et sur une grande gamme de souches.

2.4.3. Résultats des tests complémentaires

2.4.3.1. Test de phytopathogénéicité sur les plants d'olivier (essai variétal)

Les plants des différentes variétés d'olivier inoculés ont été inspectés périodiquement pour l'apparition des symptômes de la pathologie de la même manière.

Les résultats montrent que la souche de *Pseudomonas savastanoi* est capable d'induire la formation des nœuds (tumeurs) sur les quatre cultivars d'olivier testés (Chemlal, Sigoise, Azaradj, Arbequina) (figure 46).

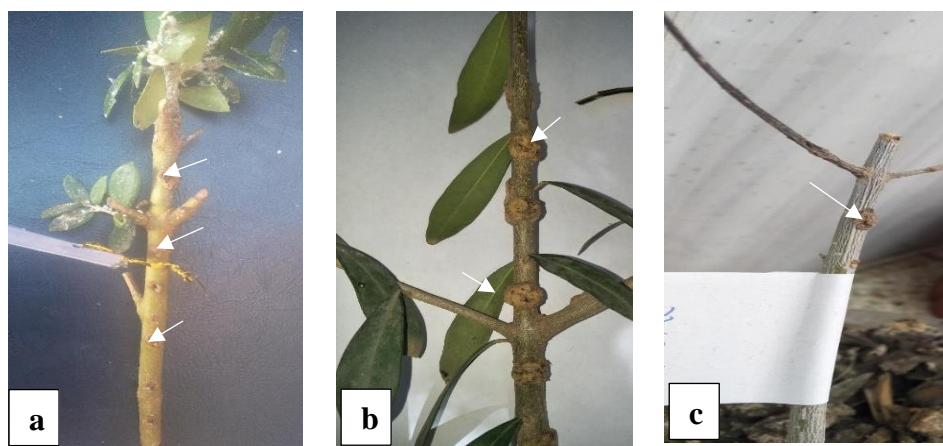


Figure 46 : les nœuds formés sur les différentes variétés d'olivier :

(a- Arbequina, b- Chemlal, c-Sigoise).

La figure 47 montre la variation des dimensions des nœuds formés sur les 4 cultivars après deux mois d'inoculation par la souche *P. savastanoi* isolée de la région de Bouira (*Bou*).

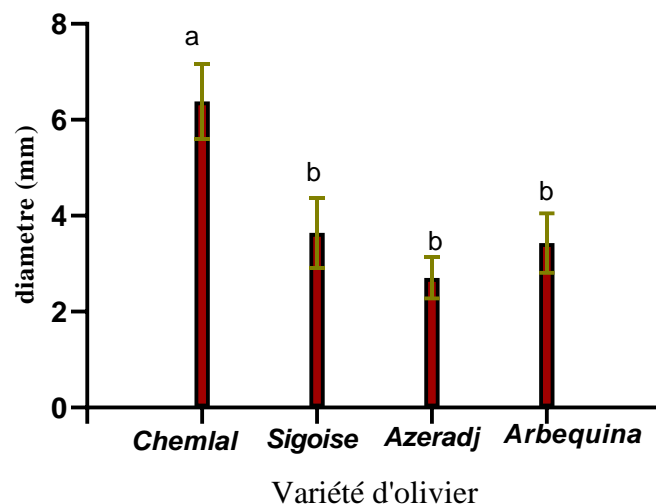


Figure 47 : Diamètres moyens des nœuds obtenus dans l'essai pathogénicité de souche *Bouvis* à vis des quatre cultivars de l'olivier.

La variété Chemlal s'avère la plus sensible à cette souche car elle présente la taille des nœuds la plus grande suivie de variété Sigoise et Arbequina, la variété Azeradj est la moins sensible et donc la plus résistante à cette souche de *P. savastanoi*. L'analyse de variance a révélé un effet significatif de la variété sur le diamètre des nœuds formés, la comparaison des moyens par le test de tukey a montré que le diamètre moyen des nœuds formés par la variété Chemlal diffère significativement de toutes les autres variétés, alors qu'il n'y a pas de différence significative entre le diamètre moyen des nœuds formés par les variétés sigoise, Azeradj et Arbequina.

Ce test nous a permis de confirmer les résultats obtenus lors des prospections sur terrain suggérant que la variété Azeradj est plus résistante que la variété Chemlal qui a montré une sensibilité plus au moins remarquable.

La variété Arbequina quant à elle est nouvellement introduite en Algérie dans le but de lancer les programmes d'intensification par le fait qu'elle a une faible vigueur qui facilitera la mécanisation de tous les travaux d'entretien et de récolte, le nombre très élevé d'arbres et la mécanisation fréquente peuvent constituer les causes d'infection de cette variété par le pathogène (Roca et al., 2014).

Elle est moins présente par rapport aux autres variétés (absente dans notre région d'étude), cette variété a présenté aussi une sensibilité à la maladie à travers le test de phytopathogénicité.

La variété Sigoise localisée au niveau des plaines de l'Ouest, et plus exactement dans la plaine de Sig dont elle porte le nom Sigoise, plusieurs études ont démontré la sensibilité de cette variété à *P. savastanoi*, tel que démontré par l'étude de Benyoub (2011).

2.4.3.2. Test de phytopathogénéicité sur les plantes hôtes

L'espèce *Pseudomonas savastanoi* peut infecter aussi d'autres hôtes, en particulier le laurier-rose (*Nerium oleander*), le frêne (*Fraxinus excelsior*), le troène (*Ligustrum japonicum*), le jasmin (*Jasminum officinale L.*) sur lesquels ils provoquent la formation des tumeurs (Marchi et al., 2005). Dans notre essai, deux souches de *Pseudomonas savastanoi* ont été utilisées (souche Bouetsouche EAs). Aucun nœud n'a été formé sur les trois plantes hôtes alternatives testées (jasmin blanc, jasmin d'hiver, laurier rose) dans les deux mois qui ont suivi l'inoculation (figure 48). Dans d'autres études telles que celles de Tsuji et al. (2017) qui ont étudié des isolats de *Pseudomonas savastanoi* obtenus à partir des nœuds d'oliviers au Japon, les auteurs ont trouvé que parmi les plantes hôtes alternative, seules le jasmin rose étaient capables de développer des nœuds.

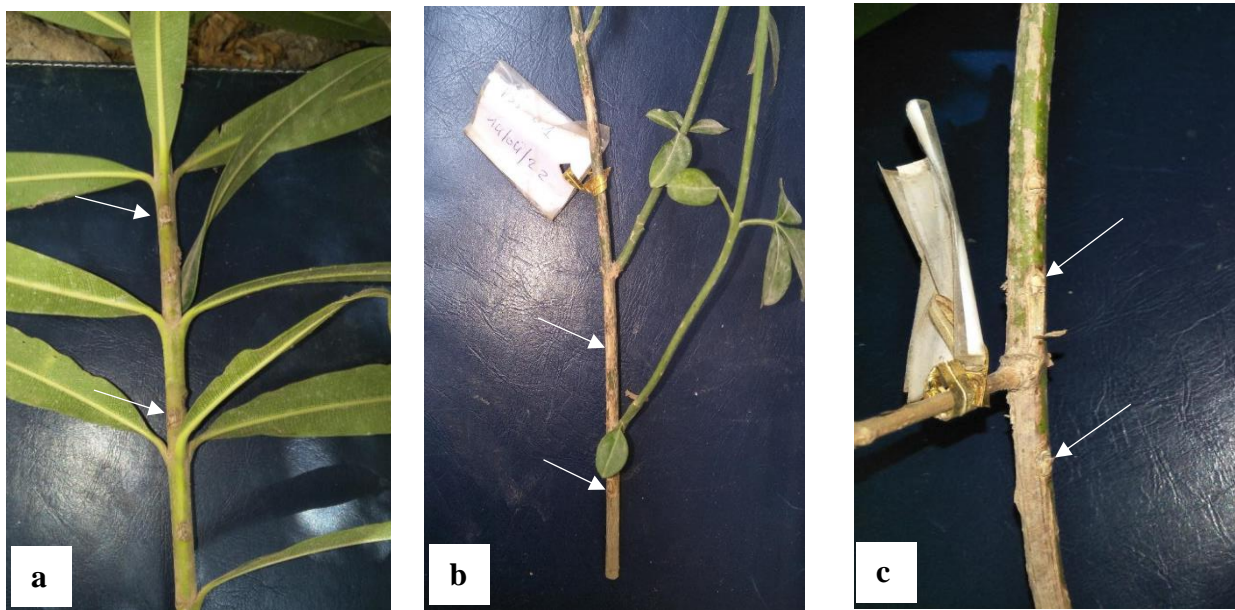


Figure 48 : Résultats négatifs de tests de phytopathogénéicité
(a-laurier rose, b- jasmin d'hiver,c- jasmin blanc).

2.5. Confirmation moléculaire par Test PCR

Uniquement les 14 isolats positifs pour le test de phytopathogénéité sur les plants d'olivier ont été positifs au test PCR, en induisant une amplification du gène *iaaL* (454 pb) confirmant la présence de *P. savastanoi* (figure 49).



Figure 49 : Visualisation des produits d'amplification PCR du gène *iaaL* provenant de quelques souches *P. savastanoi* isolées dans la région d'étude (1 : Bouira, 2 : El Asnam, 3 : Ain El Hammam, 4 : Tighzirt, 5 : Souk Thnin, T+ : Témoin positif, T- : Témoin négatif).

Benyoub et *al.* (2019) lors d'une étude faite sur deux régions de l'Ouest algérien ont rapporté l'isolement de 15 souches du pathogène sur 80 échantillons de nœuds d'oliviers. Lors de cette même étude, des *P. fluorescens* ont été isolées à partir de la rhizosphère des oliviers échantillonnés.

Les caractéristiques biochimiques et biologiques, ainsi que les tests d'assimilation des sucres des 14 souches identifiées et confirmées par une réaction positive de test de phytopathogénéité sur plant d'olivier et par test PCR sont répertoriées dans le tableau XII.

Tableau XIII : Identification phénotypiques des souches confirmées par la PCR.

Localités	Code	Tests LOPAT					Cat	Utilisation des sucres								
		Lev	Oxy	Pec	Adh	Ht		Glu	Man	Ino	Sor	Rha	Sac	Mel	Amy	Ara
Bireghbalou	<i>Bir</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Hachimia,	<i>Hac</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Sour El Ghozlane	<i>SEG</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+
Bouira	<i>Bou</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-
Mechdallah	<i>Mec</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
El Asnam	<i>EAs</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ouacif	<i>Oua</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
Azazga	<i>Aza</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
Yakouren	<i>Yak</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
Azefoun	<i>Aze</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
Ain El Hammam	<i>AEI</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
Beni Maouche	<i>BMa</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
Souk Thnin	<i>STh</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
El Kseur	<i>EKs</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-

Lev : levane, *Oxy* : oxydase, *Pec* : pectinase, *Adh* : arginine dihydrolase, *Ht* : hypersensibilité sur feuilles de tabac, *Cat* : catalase, *Glu* : glucose, *Man* : mannose, *Ino* : inositol, *Sor* : sorbitol, *Rha* : rhamnose, *Sac* : sucrose, *Mel* : melibiose, *Amy* : amygdalin *Ara* : arabinose.

En interprétation de ces résultats ; toutes les souches identifiées appartenant à *P.savastanoi* sont levane négatif mis à part une, cette observation a été notée par certains auteurs notamment en Italie mais pas en Algérie jusqu'à présent. Pour ce qui est d'autres critères du LOPAT ils étaient tous identiques à savoir une réaction d'hyper sensibilité au tabac positive, et des réactions négatives vis-à-vis de l'oxydase, la pectinase et l'arginine dihydrolase.

L'utilisation des sucres quant à elle était variable pour la plupart ; toutes les souches ont dégradé le glucose mis à part celle isolée de la région de El Asnam et c'est la même souche qui s'est

avérée levane positive, cette dernière se trouve aussi la seule à avoir dégradé le melibiose, donc présentant un profil phénotypique relativement particulier.

2.5. Bactéries associées aux nœuds d'olivier

Les colonies bactériennes isolées des nœuds d'oliviers ayant causé des réactions d'hypersensibilité sur les feuilles de tabac indiquant que les germes en question sont phytopathogènes (une caractéristique partagée par de nombreuses bactéries phytopathogènes) (Buonaurio, 2008 ; Hosni, 2010 ; Marchi et *al.*, 2006), mais sans qu'ils entraînent la formation de symptômes caractéristiques sur plants d'oliviers ont été identifiés aux moyens de tests biochimiques sur galerie Api 20 E.

L'étude des différents paramètres a permis de dire que les bactéries associées aux nœuds d'olivier semblent être des *Pantoea spp* seules ou associées à d'autres telles que *Stenotrophomonas*, *Rahnella*, *Serratia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*.

Au total 23 isolats ont été identifiés, parmi lesquels 12 semblent être des *Pantoea spp* soit plus de la moitié (55%) des bactéries associées aux nœuds d'olivier autre que *P. savastanoi* (figure 50).

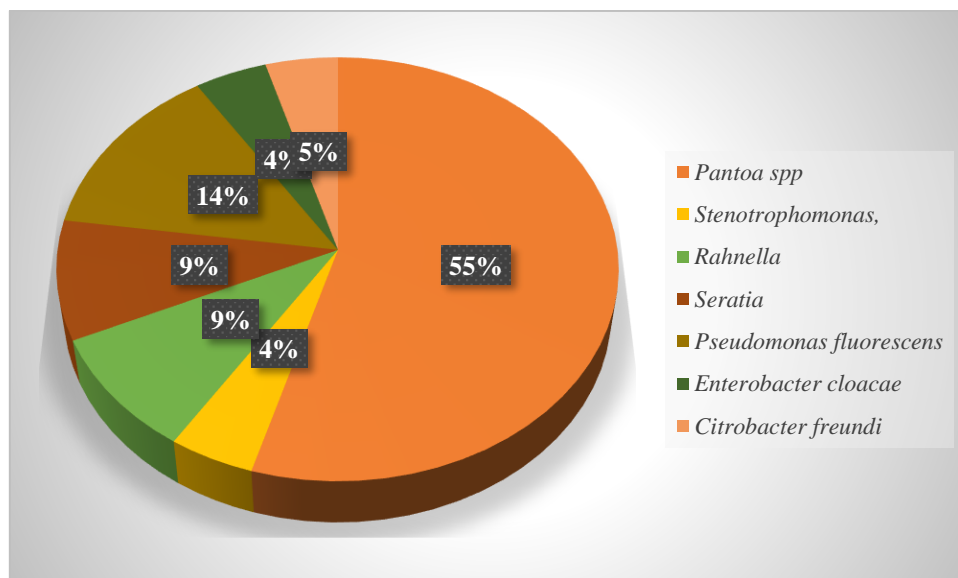


Figure 50 : Répartition des bactéries associées aux nœuds d'olivier.

Des travaux de co-inoculations de certaines de ces espèces avec du *P. savastanoi* ont montré qu'il en résulte des nœuds plus gros et une meilleure colonisation bactérienne par rapport aux inoculations uniques de *P. savastanoi*. Ces bactéries cohabitent avec l'agent pathogène à l'intérieur des nœuds, ce qui induit la formation de groupements bactériens stables pouvant faciliter l'échange de signaux de détection de groupe, et de métabolites. On s'intéresse de plus en plus à la tuberculose de l'olivier en tant que système modèle moléculaire pour l'étude du rôle des communautés bactériennes dans le développement des maladies des plantes, en effet, le nœud est considéré comme un microbiome (Buonaurio et al., 2015 ; Moretti et al., 2021).

Il est à noter que *Pantoea agglomerans* a été identifié par Savastano comme agent causal de la tuberculose de l'olivier, jusqu'aux travaux de Smith et Petri qui ont rejeté l'identité de la bactérie isolée en l'appelant *P. savastanoi* et en annonçant son association avec *Pantoea* (Moretti et al., 2014 ; Surico et Marchi, 2003).

Pantoea agglomerans a souvent été signalée comme associée aux nœuds l'olivier, elle est considérée comme épiphyte et très commune sur les parties aériennes des plantes (Azad et Cooksey, 1995; Bouaichi, 2015 ; Fernandes et Marcelo, 2002; Surico et Lavermicocca, 1989).

Il se trouve que *P. agglomerans* bien qu'elle serait impliquée dans l'augmentation de la taille du nœud induit par *P. savastanoi*, elle est en compétition avec cette dernière probablement pour les nutriments et l'espace occupé, et peut même produire des antibiotiques (Cimmino et al., 2006 ; Marchi et al., 2006). Des études menées par Fernandez et Marcelo (2002) ont noté un nombre de colonies de *P. agglomerans* 15 fois plus élevé que celui de *P. savastanoi* isolées d'un même nœud ; cela pourrait expliquer l'absence de *P. savastanoi* sur le nœud après qu'il soit formé. De plus Buonaurio et al. (2015) affirment que le co-isolement d'espèces bactériennes d'une niche donnée n'implique pas automatiquement une coopération ou une synergie entre elles, il indique qu'un certain type de réaction a lieu comme la compétition dans notre cas.

da Silva et al. (2014) ; Ercolani (1978) ; Krid et al. (2010) lors d'isolement de bactéries endophytes associées aux tumeurs d'olivier ont rapporté la présence d'autres espèces à côté de *P. savastanoi* appartenant à la famille d'entérobactérie ou autres, entre autres *Pantoea*, *Stenotrophomonas*, *Enterobacter*, et *P. fluorescens*.

P. fluorescens pourrait avoir une activité antagoniste contre *P. savastanoi* (Krueger et al., 1999), cette activité est peut-être due à la production de sidérophores. Plusieurs souches de

P. fluorescens produisent différents antibiotiques comme le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG) ayant des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales et antihelminthiques (Velusamy et al., 2006). Lors de l'étude menée par Benyoub et al. (2019) dans l'ouest algérien, les *P. fluorescens* isolées ont exprimé une activité inhibitrice vis-à-vis de *P. savastanoi*.

La présence de *Citrobacter freundii* dans le verger situé à Sour El Ghozlane serait due à la localisation de ce dernier près d'une source d'eau (Puits).

Discussion générale

La présente étude a démontré que la maladie est répandue dans toute la région d'étude. Nos résultats peuvent être expliqués par le pouvoir de dissémination élevé du pathogène. En effet, les populations de *P. savastanoi* sur les oliviers peuvent diffuser sur de longues distances (Ercolani, 1978). Si le nœud est observé dans les arbres d'un bloc de verger, on peut supposer que le bloc entier est à risque, et que la transmission du pathogène se fait dans un rayon d'environ 500 m (Young, 2004).

Sur un total de 140 vergers prospectés, 65 sont infectés (46%) ce qui représente près de la moitié, ce taux est plus élevé que celui rapporté au Maroc (13%) par Barguigua et al. (2020) ayant travaillé sur 9 communes. Cependant, nous avons noté une variabilité dans la distribution, les vergers des wilayas de Bouira et de Tizi-Ouzou sont très infectés, dans la plupart des communes prospectées plus de 3 vergers sur 5 sont touchés par la maladie, et avec une incidence plus élevée allant jusqu'à 69% dans le verger échantillonné de la région de Tizirt, alors que ceux de la wilaya de Bejaïa s'avèrent les moins infectés dans laquelle, l'incidence de la maladie variait de 8 à 30%.

Des travaux de prospection allant dans le même sens dans plusieurs régions marocaines révèlent que l'incidence de la maladie est variable d'une région à l'autre et même d'une commune à l'autre allant de 1% jusqu'à 100% (Barguigua et al., 2020).

La progression de la maladie est favorisée par les conditions climatiques telles que l'humidité et la température (Bouaichi et al., 2015). Les températures élevées et les fortes précipitations augmentent la dissémination des pathogènes bactériens en général. Les tumeurs d'olivier semblent être plus sévères au printemps et à l'automne, ce qui serait dû à l'influence climatique, à l'état physiologique des arbres (Ercolani, 1978 ; Lavermicocca et Surico, 1987 ; Surico, 1977).

L'humidité influence le développement de la tuberculose de l'olivier, et semble contribuer dans l'hétérogénéité de la distribution, nous avons remarqué que l'orientation des parcelles influence le développement de la tuberculose ainsi l'exposition Nord et Ouest favorise l'infection et augmente l'incidence de la maladie dans un verger de même que l'intensité d'attaque, étant une zone humide qui reçoit plus de précipitations et moins exposée au soleil. Comme remarqué par Rhimini et *al.* (2018) ; l'incidence de la tuberculose était de 68 % et 28 % pour l'orientation Nord et Ouest respectivement, de plus, la condensation résultant de quelques oliveraies non taillées crée de l'ombre donc de l'humidité.

Nous avons prospecté des zones d'altitude allant de moins de 100m (région de Melbou au bord de la mer) à plus de 1200 m (les hauteurs de Ain El Hammam). L'altitude semble être un facteur limitant de l'intensité d'attaque, telle que démontrée par Rhimini et *al.* (2018) ayant remarqué que dans les hautes et moyennes altitudes, les oliviers présentent un nombre plus élevé de nœuds, les mêmes observations ont été constaté en Californie (Fayard et *al.*, 2011). Pour notre étude, les oliviers situés au bord de la mer étaient fortement infectés, ce qui serait dû à un taux d'humidité relative élevé dans cette zone (Young, 2004). De même que les zones à altitude élevée, les oliviers étaient moyennement à fortement infectés probablement à cause des courants d'air qui ont provoqué à ces niveaux des blessures aux rameaux d'olivier et par conséquent la pénétration facile des bactéries. Par ailleurs, l'infection du végétal nécessite la présence des ouvertures comme des cicatrices foliaires, des plaies de taille, des fissures dues au gel et grêle ou des opérations de récolte (Benjama, 1990 ; Bouaichi et *al.*, 2019). Les points d'abscission des feuilles, des fleurs et des fruits sont aussi des points d'entrée pour la bactérie (Benjama, 1990).

L'Algérie grâce à sa situation géographique, et sa diversité pédoclimatique dispose d'un assortiment assez riche de variétés marquant chacune les traits édaphiques et climatiques qui caractérisent sa zone d'implantation (Douzane et *al.*, 2010), les principales variétés cultivées sont Chemlal occupant 45% du verger oléicole national localisée principalement dans la région de la grande kabylie et Azeraj avec 10% localisée dans la région de Bejaïa (Mendil et Sebai, 2006).

La variété Chemlal qu'on trouve majoritairement implantée est autostérile et se trouve toujours associée à d'autres variétés qui assurent sa pollinisation comme Azeradj. La plupart des arbres sont greffés sur semis d'Oléastre.

Notre étude a montré que toutes les variétés d'olivier testés peuvent être touchées, mais à des niveaux de sensibilité très variables. La virulence de la maladie et sa diffusion au sein du verger semblent être davantage liées à la souche bactérienne, telle que démontrée dans plusieurs études antérieures notamment en Italie, et toutes ces études s'accordent pour dire qu'il n'existe pas de cultivarrésistant jusqu'à présent (Hassani et al., 2003 ; Panagopoulos, 1993 ; Penyalver et al. 2006 ; Quesada et al., 2010 ; Valverde et al., 2020).

L'incidence de la maladie diffère selon la variété d'olivier bien que les nœuds se développent dans toutes les conditions évaluées (Nguyen et al., 2017).

Malgré son pouvoir d'adaptation, la variété Chemlal présente l'inconvénient d'être sensible aux maladies (Abdelguerfi, 2003), et aux attaques de la bactérie *P. savastanoi* (Msallem, 2002).

La variété Azeradj quant à elle s'avère plus résistante d'après les prospections, pour la plupart des vergers visités, seulement 1/5 étaient contaminés et avec de faibles degrés d'attaque.

Nous avons aussi observé l'infection de l'oléastre dans quelques vergers visités de différents sites à Bouira et Tizi-Ouzou (et non à Bejaïa), cela a été déjà rapporté par la littérature, l'oléastre a été identifié comme plante hôte du pathogène (Bradbury, 1986).

De plus, les souches de *P. savastanoi* s'avèrent virulentes pour tous les oliviers, tant chez les plantes adultes que chez les jeunes plantes ; sachant que notre échantillonnage présentait une hétérogénéité d'âges allant de 8 à 100 ans, cela a été aussi observé par les travaux de Perez-Martínez et al. (2010).

Les vergers non atteints lors des prospections étaient des oliveraies conduites en extensif et à échelle familiale dont la mécanisation et les travaux d'entretien sont presque nuls, les oliviers n'étaient jamais taillés d'après leurs propriétaires, ce qui aurait contribué fortement à leur état sanitaire comme expliqué plus haut que l'opération et les outils de taille présentent un facteur déclenchant de la maladie.

A l'occasion de cette étude, nous avons isolé 14 souches de *P. savastanoi* dont l'identité a été confirmée par le test de phytopathogénicité et par PCR, ces souches sont toutes négatives pour le test oxydase, pectinase et Arginine dihydrolase, et positive pour le test d'hypersensibilité sur feuilles de tabac. Toutes les souches également sont négatives pour le test levane à l'exception de la souche isolée du verger de l'El Asnam. Les résultats de ces tests sont en accord avec toutes les données bibliographiques, publiées sur *P. savastanoi* à l'exception de résultats de test levane pour la souche de El Asnam (Khezri et al., 2019 ; Marchi et al., 2005).

Le test de pathogénicité effectué sur des plantes hôtes alternatives a montré que les deux souches de *P. savastanoi* (Bou, EAs) testées sont incapables de provoquer la formation des nœuds sur laurier rose, ce qui prouve que nos souches sont bien de pathovar *savastanoi* car selon Ramos et al. (2012), le pathovar *savastanoi* peut former des tumeurs sur l'olivier cultivé et sauvage et sur le frêne mais incapable de provoquer des tumeurs sur laurier rose. Contrairement au pathovar *varnerii* qui est capable de causer des tumeurs sur laurier rose, olivier et frêne. Selon Tsuji et al. (2017), certains isolats de *Pseudomonas savastanoi* peuvent former des nœuds sur jasmin rose.

Nos isolats de *P. savastanoi* ne sont pas les seuls organismes vivants dans les nœuds, ils sont souvent associés avec d'autres bactéries endophytes. Ces endophytes ont été identifiés comme *Pantoea*, *Stenotrophomonas*, *Rahnella*, *Serratia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter cloacae* et *Citrobacter freundii*.

Les bactéries endophytes sont définies comme étant des bactéries vivant dans les tissus végétaux sans faire préjudice substantiel ou obtenir un avantage autre que la résidence (Kado, 1992). La colonisation par les endophytes des plantes est probablement fondamentale pour le développement des bactéries épiphytes associées (Manceau et Kasempour, 2002). Et la maladie de la tuberculose de l'olivier est considérée comme un système modèle pour étudier le rôle des communautés bactériennes interspécifiques dans le développement des maladies des plantes (Buonaurio et al., 2015; da Silva et al., 2014 ; Hosni, 2010).

Pendant de nombreuses années, les phytohormones produites par *P. savastanoi* étaient considérées comme principaux facteurs de virulence (Surico et Iacobellis 1992). Plus récemment, d'autres bactéries, telles que *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *P. fluorescens*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Burkholderia cepacia* semblent interagir avec le *P. savastanoi* et contribuent à sa pathogénicité (Bouaichiet al., 2021; Cimmino et al., 2006 ; Krid et al., 2010 ; Marchi et al., 2006 ; Ouzari et al., 2008).

Conclusion

Conclusion

Les prospections effectuées dans les différentes oliveraies ont permis d'observer des excroissances tumorales de 0.5 à plus de 10 cm de diamètre, survenant sur les rameaux, les branches et les troncs de l'arbre caractéristiques de la maladie de la tuberculose de l'olivier. Sur un total de 140 vergers prospectés, 65 sont infectés soit 46% ce qui représente près de la moitié de la zone prospectée.

La maladie est distribuée d'une manière hétérogène dans la région d'étude, des différences ont été notées entre les trois wilayas prospectées, entre communes et même au sein des sites de la même commune. Les vergers des wilayas de Bouira et de Tizi-Ouzou sont très infectés, dans la plupart des communes prospectées plus de 3 vergers sur 5 sont touchés par la maladie, et avec une incidence plus élevée allant jusqu'à 69%, alors que ceux de la wilaya de Bejaïa s'avèrent les moins infectés dans laquelle, l'incidence de la maladie variait de 8 à 30%.

La progression de la maladie est favorisée par les conditions climatiques telles que l'humidité et la température. Les températures élevées et les fortes précipitations augmentent l'effet des pathogènes bactériens en général.

Les oliviers situés à proximité de la mer étaient fortement infectés du fait du taux d'humidité relative élevé dans cet étage bioclimatique. De même que les zones à altitude élevée à moyennement élevée, les oliviers étaient moyennement à fortement infectés probablement à cause des courants d'air causant des blessures sur rameaux d'olivier constituant un point d'entrée du pathogène.

Le test de phytopathonémiécité sur plant d'olivier sain n'a permis le développement de symptômes que dans la moitié des échantillons (14/28). Le test sur tranche de carotte quant à lui ne s'est pas avéré un test rapide pour notre étude, et ne présente pas une bonne sensibilité (29%), seulement 4 souches sur les 14 souches positives ont présenté une réaction positive, mais l'avantage que pourrait avoir ce test, c'est la disponibilité de l'hôte (racines de carottes), comparant aux plants d'oliviers certifiés sains pas toujours disponibles et accessibles.

Les 14 isolats ayant permis en plus des tests phénotypiques, le développement des symptômes sur plants d'olivier et ayant donné une réaction positive à l'amplification du gène *ial* appartenaient à 14 sites parmi les sites échantillonnés localisés dans plusieurs communes des

trois wilayas ; la wilaya de Bouira (Bireghbalou, Hachimia, Sour El Ghoulane, Bouira, Mehdallah, El Asnam), la wilaya de Tizi-Ouzou (Ouacif, Azazga, Yakouren, Azefoun, Ain El Hammam), la wilaya de Bejaïa (Beni Maouche, Souk Thnin, El Kseur).

En plus des 14 souches confirmées appartenant à *P. savastanoi*, 22 autres isolats ont été identifiés aux moyens de tests biochimiques et sembleraient être des bactéries endophytes associées ; majoritairement *Pantoea* spp, à laquelle s'ajoute *Stenotrophomonas*, *Rahnella*, *Serratia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter cloacae* et *Citrobacter freundii*.

En perspectives, il serait intéressant d'approfondir cette recherche par :

- Une étude de la variabilité génétique des souches de *Pseudomonas savastanoi* isolées dans notre région d'étude, ainsi que les souches provenant de tout le territoire national pour pouvoir évaluer l'agressivité de ces souches.
- La compréhension du rôle des bactéries endophytes isolées dans cette étude dans la formation et l'évolution de la maladie, et dans d'autres interactions plantes-pathogènes à travers des tests de co-inoculation bactérie endophyte-*Pseudomonas savastanoi*.

A la fin de ce document, il est à noter que bien qu'il s'agît d'un organisme de quarantaine de la liste II dans les textes législatifs algériens, sur le terrain rien ne se fait contre la propagation de ce pathogène mis à part le dispositif de surveillance appliqué à l'égard des pépinières et aux frontières. Les deux dispositifs ; surveillance et lutte sont totalement absents dans les oliveraies contrairement à d'autres agents de quarantaine de liste II tels que l'agent de Feu bactérien des rosacées à pépins qui est bien pris en charge sur les deux plans surveillance et lutte. A cet effet, nous avons jugé utile de proposer quelques recommandations aux autorités phytosanitaires algériennes pour une bonne prise en charge de cette maladie :

- Activer le dispositif de lutte dans les oliveraies algériennes contre cette bactérie du fait qu'elle appartient à la liste II du Décret exécutif N° 93-286. Ce dispositif doit être basé sur les mesures préventives et sur la sensibilisation des oléiculteurs.
- Le dispositif de lutte que nous proposons doit écarter l'obligation de l'arrachage et l'incinération des arbres adultes atteints sanctionnés par la loi ; car les dégâts engendrés par cette maladie sont faibles à moyen terme, l'arbre atteint reste productif pendant une longue période. La lutte doit être basée essentiellement sur la taille et l'incinération des parties atteintes avec l'application de l'hydroxyde de cuivre (déjà autorisé sur l'olivier en Algérie) juste après la taille et après la récolte sur les arbres atteints et adjacents.

- Encourager la culture des cultivars peu sensible à cette maladie (exemple Azeradj, Arbequina) et éviter de planter seul et sur des grandes surfaces le cultivar Chemlal très sensible.

Les pistes de recherche empruntées par les chercheurs pour essayer de lutter et prévenir la maladie consistent en :

- L'application des antibiotiques tels que la kasugamycine (produit par *Streptomyces kasagiensis*), ou des fongicides tels que le mancozèbe seuls ou en association avec un produit cuprique peut être aussi efficace.
- L'introduction de bactéries du genre *Bacillus* (*B. mojavensis*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*), ou *Pseudomonas* (*P. koreensis*) capables de réduire le poids des nœuds et la taille de la population d'agents pathogènes, produisant moins de tumeurs nécrotiques.
- De nombreuses espèces fongiques isolées de la phyllosphère de l'olivier telles que *Dothiorella iberica*, *Epicoccum nigrum* et *Aspergillus felis* ont montré une activité antagoniste contre *P. savastanoi*.
- Les polyphénols extraits des feuilles de *Pistacia* et *Schinus* spp. sont des sources potentielles de composés antimicrobiens contre certaines maladies bactériennes notamment *P. savastanoi*.
- Des méthodes de détection sensibles, spécifiques et faciles à mettre en œuvre sont nécessaires pour la détection rapide d'éventuelles infections bactériennes latentes, permettant de contrôler la propagation de la maladie à des stades précoces. Le développement de techniques non invasives de diagnostic du stress des plantes utilisées dans l'étude par imagerie de fluorescence rouge, fluorescence multicolore, réflectance ou de température, a considérablement augmenté la compréhension de la réponse des plantes et des cultures aux pathogènes et aux ravageurs.

Références

Références bibliographiques

A

1. Abdelguerfi, A. (2003). Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité pour l'agriculture. Rapport de synthèse. Projet ALG/97/G31 FEM/PNUD, Alger, (Algérie), 22-23/01/2003, pp 13-20.
2. Abderrahmani, F. (1992). Etude du comportement variétal de l'olivier vis-à-vis de *Verticillium dahliae* et dynamique saisonnière des populations de microsclérotos dans la station oléicole de Cap-Djinet. *Mémoire Ingénieur d'état. INES Blida*. 77 p
3. Adaskaveg, J. E., Duncan, R. A., & Day, K. R. (2012). Peach leaf curl. *Peach leaf curl*. 34-51.
4. AFIDOL. (2021). Enseignement Géographie, l'olivier. 16p
[file:///C:/Users/Client/Downloads/G%C3%A9ographie,%20l'olivier%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Client/Downloads/G%C3%A9ographie,%20l'olivier%20(1).pdf)
(consulté le 10/05/2021)
5. Agrios, G. N. (2005). Plant diseases caused by prokaryotes: Bacteria and Mollicutes. In: G.N. Agrios. *Plant pathology*. Elsevier, Amsterdam, 667-674.
6. Alcántara, J. M., & Rey, P. J. (2003). Conflicting selection pressures on seed size: evolutionary ecology of fruit size in a bird-dispersed tree, *Olea europaea*. *Journal of Evolutionary Biology*, 16(6), 1168-1176.
7. Alexander, D. J., Zinkle, S. J., & Rowcliffe, A. F. (1999). Fracture toughness of copper-base alloys for fusion energy applications. *Journal of nuclear materials*, 271, 429-434.
8. Alia, A. (1991). La verticilliose dans les oliveraies de la Kabylie: Estimation du taux d'infection, caractérisation de l'agent causal et analyse quantitative des microsclérotos dans le sol. *Mémoire Ingénieur d'état. INES Blida*. 60 p.
9. Alissandrakis, E., Psirofonia, P., Kavallieratos, N. G., Stanković, S. S., & Žikić, V. (2018). Parasitic wasps related to *Prays oleae* (Bernard, 1788) (Lepidoptera, Praydidae) in olive orchards in Greece. *ZooKeys*, (773), 143.
10. Allouche, Y., Warleta, F., Campos, M., Sanchez-Quesada, C., Uceda, M., Beltran, G., & Gaforio, J. J. (2011). Antioxidant, antiproliferative, and pro-apoptotic capacities of pentacyclic triterpenes found in the skin of olives on MCF-7 human breast cancer cells and their effects on DNA damage. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(1), 121-13
11. Alloum, D. (1974). L'oléiculture algérienne. *Options méditerranéennes*, (24)
12. Alvarez, F., De Los Ríos. J.G., Jimenez, P., Rojas, A., Reche, P & Troya, M.T. (1998). Phenotypic variability in different strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* isolated from different hosts. *Eur. Journal of Plant Pathology*, 104(6), 603-609.

13. Amarni, A. (2015). Algérie 360°. Huile d'olive, L'Algérie est le septième producteur mondial. <https://www.algerie360.com/huile-dolive-lalgerie-est-le-septieme-producteur-mondial/> (consulté le 02/03/2020)
14. Andrés, F. De. (1991). Enfermedades y plagas del olivo. 2° ed. Riquelme y Vargas Ediciones, Jaén. 646 pp.
15. ANIREFA. (2021). Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière, Algérie (Ministère de l'Industrie). Monographie par wilaya. <https://www.aniref.dz/index.php/2-uncategorised/35-test-carte-interactive> (consulté le 05/05/2021)
16. Aragüés, R., Guillén, M., & Royo, A. (2010). Five-year growth and yield response of two young olive cultivars (*Olea europaea* L., cvs. Arbequina and Empeltre) to soil salinity. *Plant and soil*, 334(1), 423-432.
17. Argenson, C. (2004). La culture de l'olivier sans le monde ses productions, les tendances. *Le nouvel olivier*, 61, 8-11.
18. Argenson, C., Régis, S., Jourdain, J. M., & Vaysse, P. (1999). *L'olivier*. Ed. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes. Ed CTIFL. p 204.
19. Athar, M. (2005). Infestation of olive fruit fly, *Bactrocera oleae*, in California and taxonomy of its host trees. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 70(4), 135-138.
20. Aybar, V. (2010). Floración en olivo (*Olea europaea* L.): evaluación del ajuste de un modelo predictivo para las condiciones del Chaco Árido Argentino y utilización de hormonas exógenas. *Thèse de Master, Université de Buenos Aires*.
21. Aybar, V. E., De Melo-Abreu, J. P., Searles, P. S., Matias, A. C., Del Rio, C., Caballero, J. M., & Rousseaux, M. C. (2015). Evaluation of olive flowering at low latitude sites in Argentina using a chilling requirement model. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(1), e0901-e0901.
22. Azad, H. R., & Cooksey, D. A. (1995). A semiselective medium for detecting epiphytic and systemic populations of *Pseudomonas savastanoi* from oleander. *Phytopathology*, 85(7), 740-745.

B

23. Balestra, G. M., Mazzaglia, A., Quattrucci, A., Renzi, M., & Rossetti, A. (2009). Occurrence of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Jin Tao kiwi plants in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 48(2), 299-301.
24. Bandino, G., & Dettori, S. (2003). Manuale di olivicoltura. Consorzio Interprovinciale per la Frutticoltura, CagliariOristano-Nuoro. *Regione Autonoma Della Sardegna*, 387(22).

25. Banger, M. G., & Thomashow, L. S. (1999). Identification and characterization of a gene cluster for synthesis of the polyketide antibiotic 2, 4-diacetylphloroglucinol from *Pseudomonas fluorescens* Q2-87. *Journal of bacteriology*, 181(10), 3155-3163.
26. Baraka, A. (2016). *The System of Dante's Hell: A Novel*. Akashic Books.
27. Barguigua, A., Zahir, I., Youss, S., Fikri, N., & Youss, B. (2020). Prospection des maladies microbiennes de l'olivier dans la région Tadla-Azilal. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 8(3).
28. Barone, E., Gullo, G., Zappia, R., & Inglese, P. (1994). Effect of crop load on fruit ripening and olive oil (*Olea europea* L.) quality. *Journal of Horticultural Science*, 69(1), 67-73.
29. Barranco, D., Rapoport, H.F., Fernández-Escobar, R., & Rallo, L. (2008). El cultivo del olivo. Coed. *Junta de Andalucía/Mundi-Prensa*, Madrid.
30. Bellahcene, M., Fortas, Z., Fernandez, D., & Nicole, M. (2005). Vegetative compatibility of *Verticillium dahlia* isolated from olive trees (*Olea europea* L.) in Algeria. *African Journal of biotechnology*, 4(9).
31. Bellahcene, M., Fortas, Z., Geiger, J. P., Matallah, A., & Henni, D. (2000). *Verticillium* in olive tree in Algeria: geographic distribution and importance of disease. *Science and Technology Olivae*, 82, 41-43.
32. Belhoucine, S. (2003). Etude de l'éventualité d'un contrôle biologique contre la mouche de l'olive *Bactrocera oleae* (Diptera - Tephritidae) dans cinq stations de la W. de Tlemcen. *Mémoire de Magister*. Université de Tlemcen.
33. Benadjal, M. (2007). Etude de la verticilliose de l'olivier : Epidémiologie et essais de lutte par la solarisation. *Mémoire Ingénieur d'état. Département Agro*. Université de Blida, 57p
34. Benchabane, M. (1990). Observation des cas de verticilliose de l'olivier à Cap-Djinet et Sidi-Aïch. *Rapport de mission, ITAF Algérie*, 5p.
35. Benjama, A. (1990). Isolation and identification of the causal agent of olive knot in Morocco. *Al Awamia*, (72), 57-69.
36. Benjama, A. (2003). Méthode d'évaluation rapide du degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose causée par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, en verger au Maroc. *Fruits*, 58(4), 213-219.
37. Benyoub, K. (2011). Isolement de souches de *Pseudomonas* à partir des sols et des nécroses d'oliviers de l'Ouest Algérien : Identification et caractérisation biochimique, sérotypique et phytopathologique. Recherche de l'antibiorésistance, d'antagonisme (bactériocine) et d'ADN plasmidique. *Mémoire de Magister en Biotechnologie végétale*. Université d'Oran. 156p.

38. Benyoub, K., Kacem M., & Kaid-Harche, M. (2019). Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *Savastanoi*, causal agent of olive tuberculosis in two regions of western Algeria (Ain Témouchent and Sig). *South Asian Journal of Experimental Biology*, 9(2), 64-71.
39. Bertolini, E., Penyalver, R., Garcfa, A., Olmos, A., Quesada, J.M., Cambra, M., & Lopez M.M. (2003). Highly sensitive detection of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in asymptomatic olive plants by nested-PCR in a single closed tube. *Journal of Microbiological Methods*, 52(2), 261-266.
40. Besnard, G., Khadari, B., Navascués, M., Fernández-Mazuecos, M., El Bakkali, A., Arrigo, N., ...& Savolainen, V. (2013). The complex history of the olive tree: from Late Quaternary diversification of Mediterranean lineages to primary domestication in the northern Levant. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1756), 20122833.
41. Besnard, G., Rubio de Casas, R., Christin, P. A., & Vargas, P. (2009). Phylogenetics of *Olea* (Oleaceae) based on plastid and nuclear ribosomal DNA sequences: tertiary Bossis, E., Lemanceau, P. P., Latour, X., & Gardan, L. (2000). The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie*, 20(1), 51-63.
42. Bossis, E., Lemanceau, P. P., Latour, X., & Gardan, L. (2000). The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie*, 20(1), 51-63.
43. Bouaichi, A., Benkirane, R., El-kinany, S., Habbadi, K., Lougramzi, H., Sadik, S., ... & Achbani, E. H. (2021). Potential effect of antagonistic bacteria in the management of olive knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 1035-1040.
44. Bouaichi, A., Benkirane, R., Habbadi, K., Benbouazza, A., & Achbani, E. H. (2015). Antibacterial activities of the essential oils from medicinal plants against the growth of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* causal agent of olive knot. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 8(12), 41-55.
45. Bouaichi, A., Merrouni, A. A., Hajjaj, C., Messaoudi, C., Ghennioui, A., Benlarabi, A., ... & Zitouni, H. (2019). In-situ evaluation of the early PV module degradation of various technologies under harsh climatic conditions: The case of Morocco. *Renewable Energy*, 143, 1500-1518.
46. Boulila, M., & Mahjoub, M. (1994). Inventory of olive disease in Tunisia. *Bulletin EPPO*, 24(4), 817-823.
47. Boukhari, R., & Gaouar, S. B. (2018). *Caractérisation de quelques variétés d'olivier Algériennes (TiziOuzou)*. Éditions universitaires européennes. ISBN 978-3-639-54678-1.

48. Boulouha, B. (2006). Les acquis de la recherche agronomique en matière d'amélioration variétale de l'olivier au Maroc. *La recherche agronomique et la profession, ensemble pour un développement durable de l'oléiculture nationale, Actes de Journée Olivier Meknès, INRA Procceding*, 26, 38-41.
49. Bozkurt, I. A., Soylu, S., Mirik, M., Ulubas Serce, C., & Baysal, Ö. (2014). Characterization of bacterial knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* on pomegranate (*Punica granatum* L.) trees: a new host of the pathogen. *Letters in applied microbiology*, 59(5), 520-527.
50. Bradbury, J.F., 1986. Guide to plant pathogenic bacteria. CAB international. *National Agricultural Library*, pp 331-332.
51. Breton, C., Médail, F., Pinatel, C., & Bervillé, A. (2006). De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures*, 15(4), 329-336.
52. Brisset, M. N., Cesbron, S., Thomson, S. V., & Paulin, J. P. (2000). Acibenzolar-S-methyl induces the accumulation of defense-related enzymes in apple and protects from fire blight. *European Journal of Plant Pathology*, 106(6), 529-536.
53. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. *Lavoisier, Paris*, 1120.
54. Buonauro, R. (2008). Infection and plant defense responses during plant-bacterial interaction. *Plant-microbe interactions*, 169-197.
55. Buonauro, R., Moretti, C., da Silva, D. P., Cortese, C., Ramos, C., & Venturi, V. (2015). The olive knot disease as a model to study the role of interspecies bacterial communities in plant disease. *Frontiers in Plant Science*, 6(434).
56. Bull, C. T., & Koike, S. T. (2015). Practical benefits of knowing the enemy: modern molecular tools for diagnosing the etiology of bacterial diseases and understanding the taxonomy and diversity of plant-pathogenic bacteria. *Annual review of phytopathology*, 53, 157-180.

C

57. Caballo-Ponce, E., Murillo, J., Martínez-Gil, M., Moreno-Pérez, A., Pintado, A., & Ramos, C. (2017). Knots untie: molecular determinants involved in knot formation induced by *Pseudomonas savastanoi* in woody hosts. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1089.
58. Caballo-Ponce, E., Pintado, A., Moreno-Pérez, A., Murillo, J., Smalla, K., & Ramos, C. (2021). *Pseudomonas savastanoi* pv. *mandevillae* pv. nov. a Clonal Pathogen Causing an Emerging,

- Devastating Disease of the Ornamental Plant *Mandevilla* spp. *Phytopathology*, 111(8), 1277-1288.
59. CABI. (2022). *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*. In Invasive Species compendium. Wallingford, UK.
<https://www.cabi.org/isc/datasheet/45004#toDistributionMaps>
(consulté le 12/01/2022)
60. Campos, A., Da Costa, G., Coelho, A. V., & Fevereiro, P. (2009). Identification of bacterial protein markers and enolase as a plant response protein in the infection of *Olea europaea* subsp. *europaea* by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *European journal of plant pathology*, 125(4), 603-616.
61. Camps-Fabrer, H. (1974). L'olivier et son importance économique dans l'Afrique antique. *Options méditerranéennes*, 24, 21-28.
62. Carrión, Y., Ntinou, M., & Badal, E. (2010). *Olea europaea* L. in the north Mediterranean Basin during the Pleniglacial and the Early–Middle Holocene. *Quaternary Science Reviews*, 29(7-8), 952-968.
63. Castellar-Sánchez, M. A. (2011). Plagas y enfermedades del olivo (*Olea europaea*). *Prot. Masas For*, 1, 1-20.
64. Cavallès, H. (1938). L'olivier dans le bassin méditerranéen. *Annales de Géographie*, 270(47), 617-620.
65. Cazorla, F. M., Arrebola, E., Sesma, A., Pérez-García, A., Codina, J. C., Murillo, J., & de Vicente, A. (2002). Copper resistance in *Pseudomonas syringae* strains isolated from mango is encoded mainly by plasmids. *Phytopathology*, 92(8), 909-916.
66. Cazorla, F. M., Duckett, S. B., Bergström, E. T., Noreen, S., Odijk, R., Lugtenberg, B. J., ...& Bloemberg, G. V. (2006). Biocontrol of avocado dematophora root rot by antagonistic *Pseudomonas fluorescens* PCL1606 correlates with the production of 2-hexyl 5-propyl resorcinol. *Molecular plant-microbe interactions*, 19(4), 418-428.
67. Chermiti, B. (1983). [Contribution to the bio-ecological study of the olive psyllid *Euphyllura olivina* Costa, Homoptera Psyllidae, and of its endoparasite *Psyllaephagus euphyllurae* Silv. Hymenoptera, Encyrtidae]. *Thèse de Docteur Ingénieur*. Université Aix Marseille 3.
68. Chliyeh, M., Touhami, A. O., Selmaoui, K., Benkirane, R., & Douira, A. (2017). Inventory and world geographical distribution of the olive tree (*Olea europaea* L.) diseases caused by viruses, bacteria and phytoplasma. *International Journal of Agriculture Environment*, 2(3), 1410-1440.
69. Chol, P., & Laury, P. In Lespinasse, J. M., Leterme, E., & Adgié, G. (2005). « Olivier .De la taille à la conduite des arbres fruitières ». Pp193- 207.

70. Cimmino, A., Andolfi, A., Evidente, A., Surico, G., & Marchi, G. (2006). Phytohormone Production by Strains of " *Pantoea agglomerans*" from Knots on Olive Plants Caused by " *Pseudomonas savastanoi*" pv. " *savastanoi*". *Phytohormone Production by Strains of " Pantoea agglomerans" from Knots on Olive Plants Caused by " Pseudomonas savastanoi" pv. " savastanoi"*, 1000-1006.
71. Civantos, L. (1998). L'olivier, l'huile d'olive et l'olive. *Conseil oléicole international*, p130.
72. Civantos, L. (2008). La olivicultura en el mundo y en España. *El cultivo del olivo*, 17-35.
73. COI. (2021). International Olive Council. IOC News.
<https://www.internationaloliveoil.org/>
(consulté le 22/09/2020)
74. Colbrant, P., & Fabre, P. (1975). Stades reperes de l'olivier. *L'Olivier. Invuflec, Paris*, 24-25.
75. Comai, L. U. C. A., & Kosuge, T. S. U. N. E. (1980). Involvement of plasmid deoxyribonucleic acid in indoleacetic acid synthesis in *Pseudomonas savastanoi*. *Journal of Bacteriology*, 143(2), 950-957.
76. Conde, P., & Leoni, C. (2007). "Enfermedades del olivo. en Uruguay". *INIA Jornada de divulgación. Resultados experimentales en olivos. Serie de Actividades de Difusión*, 512.
77. Connor, D. J. (2005). Adaptation of olive (*Olea europaea* L.) to water-limited environments. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56(11), 1181-1189.
78. Cruz, A., & Tavares, R. M. (2005). Evaluation of programmed cell death in *Olea europaea* var. galega vulgar suspension cell cultures elicited with *Pseudomonas savastanoi*. *IXème Congrès 'Luso-Espanhol' en physiologie végétale*. Portugal.

D

79. da Silva, D. P., Castañeda-Ojeda, M. P., Moretti, C., Buonauro, R., Ramos, C., & Venturi, V. (2014). Bacterial multispecies studies and microbiome analysis of a plant disease. *Microbiology*, 160(3), 556-566.
80. De la Rosa, R., León, L., Moreno, I., Barranco, D., & Rallo, L. (2008). Ripening time and fruit characteristics of advanced olive selections for oil production. *Australian journal of agricultural research*, 59(1), 46-51.
81. Deidda, P., Nieddu, G., Spano, D., Bandino, G., Orrù, V., Solinas, M., & Serraiocco, A. (1993, September). Olive oil quality in relation to environmental conditions. In *II International Symposium on Olive Growing*, 356, 354-357.

82. Dickey, R. S., & Zumoff, C. H. (1988). Emended description of *Enterobacter cancerogenus* comb. nov. (formerly *Erwinia cancerogena*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 38(4), 371-374.
83. Djellouli, Y., Louail, A., Messner, F., Missaoui, K., & Gharzouli, R. (2020). Les écosystèmes naturels de l'Est algérien face au risque du changement climatique. *Geo-Eco-Trop*, 44(4), 609-621.
84. Douzane, A., Nouani, A., Brahmi, A., Bellal, M. M. (2010). Influence de la variété, de la campagne oléicole et de la région sur la composition en acide gras de quelques huiles d'olives vierges Algérienne. *European Journal of Scientific Research*, 46(3), 339-351.
85. Durrant, W. E., & Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annual review of phytopathology*, 42(1), 185-209.
86. Emberger, L. (1955). Une classification biogéographique des climats. *Recueil Travaux Laboratoire Botanique Geologie Zoologie. Université de Montpellier*, 7(3.43).

E

87. EPPO. (2006). Pathogen-tested olive trees and rootstocks. *EPPO Bull* 36, 77-83.
88. Ercolani, G. L. (1971). Presenza epifitica di *Pseudomonas savastanoi* (E. f. smith) Stevens sull'Olivio, in Puglia. *Phytopathol Mediter*, 130-132.
89. Ercolani, G. L. (1978). *Pseudomonas savastanoi* and other bacteria colonizing the surface of olive leaves in the field. *Microbiology* 109(2), 245-257.

F

90. FAOSTAT, 2021. Crops and livestock products data in Algeria
<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
(Consulté 08/01/2021).
91. Fayard, L. M. (2011). Olive knot agriculture and natural resources. *Integrated Pest management Program*. University of California. Statwide, 1-3.
92. Fernandes, A., & Marcelo, M. (2002). A possible synergistic effect of *Erwinia* sp on the development of olive knot symptoms caused by *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* in *Olea europea*. *Acta Horticulturae*, 586, 729-731.
93. Ferreira, J. (1979). Explotaciones olivareras colaboradoras, nº 5. Ministerio de Agricultura, Madrid. erties of Cv. Nostrava di Brisighella Extra Virgin Olive Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3649-3654.

94. Filiz Doksöz, S., & Bozkurt, I. A. (2020). A new and simple pathogenicity test using carrot slices for *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, causal disease agent of olive knot. *Journal of plant pathology*, 102(4), 1173-1177.
95. Filiz Doksöz, S., & Bozkurt, I. A. (2022). Biological control of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* causing the olive knot disease with epiphytic and endophytic bacteria. *Journal of Plant Pathology*, 104(1), 65-78.
96. Frey, B., Pesaro, M., Rüdter, A., & Widmer, F. (2008). Resilience of the rhizosphere *Pseudomonas* and ammonia-oxidizing bacterial populations during phytoextraction of heavy metal polluted soil with poplar. *Environmental Microbiology*, 10(6), 1433-1449.

G

97. Ganino, T., Bartolini, G., & Fabbri, A. (2006). The classification of olive germplasm. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81(3), 319-334.
98. Gaouar, N., & Debouzie, D. (1991). Olive fruit fly, *Dacus oleae* Gmel.(Diptera, Tephritidae) damage in Tlemcen region, Algeria. *Journal of Applied Entomology*, 112 (1-5), 288-297.
99. Gardan, L., Bollet, C., Ghorrah, M. A., Grimont, F., & Grimont, P. A. D. (1992). DNA Relatedness among the Pathovar Strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* Janse (1982) and Proposal of *Pseudomonas savastanoi* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 42(4), 606-612.
100. Gargouri, K., Sarbeji, M., & Barone, E. (2006). Assessment of soil fertility variation in an olive orchard and its influence on olive tree nutrition. In *Second international seminar on biotechnology and quality of olive tree products around the mediterranean basin* Italy: Marsala-MazaradelVallo, 5-10.
101. Ghasemi, A., Salehi, S., Shahriari, D., & Baniameri, V. (2006). Occurrence of oleander knot disease (*Nerium oleander*) in Tehran. *Iranian journal of Plant Pathology*, 42, 703-704.
102. Godena, S., Dminić, I., & Đermić, E. (2012). Differential susceptibility of olive varieties to olive knot disease in Istria. *Journal of Central European Agriculture*, 13(1), 0-0.
103. Gomila, M., Busquets, A., Mulet, M., García-Valdés, E., & Lalucat, J. (2017). Clarification of taxonomic status within the *Pseudomonas syringae* species group based on a phylogenomic analysis. *Frontiers in microbiology*, 8, 2422.
104. Gómez-del-Campo, M., & Rapoport, H. (2008). Descripción de la iniciación floral, floración, cuajado, caída de frutos y endurecimiento del hueso. *Agricultura Revista Agropecuaria*, (907), 400-406.

105. Goszczynska, T., Serfontein, J. J., & Serfontein, S. (2000). *Introduction to practical phytobacteriology* (No. 589.9/G682). First edition: Safrinet. Johannesburg. 81p.
106. Graham, J. H., & Leite Jr, R. P. (2004). Lack of control of citrus canker by induced systemic resistance compounds. *Plant Disease*, 88(7), 745-750.
107. Granara de Willink, M. C. (1990). Conociendo nuestra fauna I. Superfamilia Coccoidea (Homopt. Sternor.). *Serie Monográfica y Didáctica*, 6, 1-43
108. Granara de Willink, M. C. (1999). Las cochinillas blandas de la República Argentina (Homoptera: Coccoidea: Coccidae). *Contributions on Entomology, International* 3.
109. Green, P. S., (2002). A revision of *Olea*. (Oleaceae). *Kew Bull*, 57, 91-140.
110. Guido, M., Carlo, V., Luciana, G., & Guisepe, S. (2005). Spread of levan positive populations of *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi*, the causal agent of olive knot, in central Italy, *European Journal of Plant Pathology*, 112, 101-112.
111. Guignard, J. L., & Dupont, F. (2004). *Botanique Systématique et moléculaire* 13^èm Ed Masson. Paris. Pp 284.
112. Guo, Z., Jia, X., Zheng, Z., Lu, X., Zheng, Y., Zheng, B., & Xiao, J. (2018). Chemical composition and nutritional function of olive (*Olea europaea* L.): A review. *Phytochemistry Reviews*, 17(5), 1091-1110.

H

113. Hancock, R. E., & Brinkman, F. S. (2002). Function of *Pseudomonas* porins in uptake and efflux. *Annual review of microbiology*, 56(1), 17-38.
114. Haniotakis, G. E. (2005). Olive pest control: present status and prospects. *IOBC wprs Bulletin*, 28(9), 1.
115. Hassani, D., Buonauro, R., & Tombesi, A. (2003). Response of some olive cultivars, hybrid and open pollinated seedlings to *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. In *Pseudomonas syringae and related pathogens*. Springer, Dordrecht. Pp. 489-494.
116. Hedidi, D. (2020). Étude phytoécologique des groupements végétaux de la subéraie de Djebel saadia. *Thèse de Doctorat*. Université de Chlef. 129 p.
117. Hegazi, E. M., Konstantopoulou, M. A., Herz, A., Mazomenos, B. E., Khafagi, W. E., Agamy, E., ... & Abdel-Rahman, S. M. (2009). Is mating disruption effective in controlling the olive moth, *Prays oleae*?. *Crop Protection*, 28(2), 181-189.
118. Henry, S. (2003). *L'huile d'olive : son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique*. *Thèse de Doctorat*. Université Henri Poincaré.

119. Hirano, S. S., & Upper, C. D. (1983). Ecology and epidemiology of foliar bacterial plant pathogens. *Annual review of phytopathology*, 21(1), 243-270.
120. Hirano, S. S., & Upper, C. D. (2000). Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae* a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64(3), 624-653.
121. Hmimina, M. (2009). Les principaux ravageurs de l'olivier, la mouche, la teigne, le psylle et la cochenille noire. *Bull. Men. Inf. et Liaison du PNTTA*, 4 p.
122. Holgado, M. G., & Gasparini, M. L. (2008). Insectos plaga del olivo y sus enemigos naturales, 2^{ème} edition, *Sociedad Entomologica Argentina*, Mendoza, Argentina.
123. Hosni, T. (2010). *Interaction between Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi, the causal agent of olive knot, and the endophytic bacterial species associated with the knot. Thèse de Doctorat*. Université de Perugia, Italy.
124. Hugh, R., & Leifson, E. (1964). The proposed neotype strains of *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter 1872) Migula 1900. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 14(2), 69-84.
125. Hulin, M. T., Jackson, R. W., Harrison, R. J., & Mansfield, J. W. (2020). Cherry picking by pseudomonads: After a century of research on canker, genomics provides insights into the evolution of pathogenicity towards stone fruits. *Plant pathology*, 69(6), 962-978.

I

126. Iacobellis, N. S. (2001) Olive knot. In *Encyclopedia of PlantPathology*. Maloy, O.C., and Murray, T.D. (eds). New York, USA: John Wiley & Sons, pp 714–715.
127. Iacobellis, N. S., Sisto, A., Surico, G., Evidente, A., & DiMaio, E. (1994). Pathogenicity of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* mutants defective in phytohormone production. *Journal of Phytopathology*, 140(3), 238-248.
128. Idrissi, A., & Ouazzani, N. (2003). Contribution of morphological descriptors to the inventory and identification of olive (*Olea europaea* L.) varieties. *Plant Genetic Resources Newsletter*.
129. INRA. (2005). Institut National de Recherche Agronomiques Maroc. Séminaire international sur l'olivier, acquis de recherche et contraintes du secteur oléicole. Marrakech, 14 au 16 mars 2002. <https://www.inra.org.ma/sites/default/files/publications/ouvrages/actesolivier.pdf> (consulté le 10/10/2019).

J

130. Jabnoun-Khiareddine, H., Daami-Remadi, M., Ayed, F., Jebari, H., & El Mahjoub, M. (2007). Incidence of *Verticillium* wilt of melon in Tunisia. *The African Journal of Plant Science and Biotechnology*, 1, 10-15.
131. Janse, J. D. (1981). The bacterial disease of ash (*Fraxinus excelsior*), caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* pv. *fraxini* II. Etiology and taxonomic considerations.
132. Janse, J. D. (1982). *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* (ex Smith) subsp. nov., nom. rev., the bacterium causing excrescences on Oleaceae and Nerium oleander L. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 32(2), 166-169.
133. Jardak, T., Jerraya, A., & Mahjoub, M. (2004). La protection intégrée de l'oléiculture dans les pays de l'Afrique du Nord. *FAO*, Bureau sous régional pour l'Afrique du Nord, SNEA-Tunis. Tunisie, pp 69-71.
134. JOEU, (1992). Council Directive 92/34/EEC of 28 April 1992 on the marketing of fruit plant propagating material and fruit plants intended for fruit production *Official Journal L 157*, 10/06/1992, pp 0010-0018.
<https://eurlex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:31992L0034&from=en>
(consulté le 10/12/2021).
135. JORA. (1993). Décret exécutif n° 93-284 du 9 Joumada Ethania 1414 correspondant au 23 novembre 1993, règlementant le contrôle phytosanitaire aux frontières du journal officiel de la république algérienne N° 78 parut le 28 novembre 1993. *Imprimerie officielle*, Alger, 31p.

K

136. Kado, C. I. (1992). Plant pathogenic bacteria. In: Ballows, A., Truper, G.G., Dworkin, M., Harden, W., Schleifer, K.H. (Eds.), *The Prokaryotes*. Springerverlang, New York, pp 660-662
137. Kessmann, H., Staub, T., Ligon, J. I. M., Oostendorp, M., & Ryals, J. (1994). Activation of systemic acquired disease resistance in plants. *European Journal of Plant Pathology*, 100(6), 359-369.
138. Khavazi, K., Asgharzadeh, A., Hosseini-Mazinani, M., & De Mot, R. (2008). Biocontrol of *Pseudomonas savastanoi*, causative agent of olive knot disease: antagonistic potential of non-pathogenic rhizosphere isolates of fluorescent *Pseudomonas*. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 73(1), 199-203.

139. Khezri, M., Ghasemi, A., & Ahangaran, A. (2019). Detection and characterization of endophytic bacteria causing knot in young olive trees. *Acta agriculturae Slovenica*, 113(1), 109-119.
140. King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 44(2), 301-307.
141. Klement, Z. (1964). Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in tobacco leaf. *Phytopathology*, 54, 475-477.
142. Krid, S., Gharsallaoui, M., Triki, M., & Rahouma, A. (2011). Epidémiologie et étiologie de *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, agent causal de la tuberculose de l'olivier en Tunisie. *Rev. Ezzaitouna*, 12(1), 1-10.
143. Krid, S., Rhouma, A., Mogou, I., Quesada, J. M., Nesme, X., & Gargouri, A. (2010). *Pseudomonas savastanoi* endophytic bacteria in olive tree knots and antagonistic potential of strains of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. *Journal of plant pathology*, 335-341.
144. Krueger, W. H., Teviotdale, B. L., Schroth, M. N., Metzidakis, I.T., & Voyiaztsis, D.G. (1999). Improvements in the control of olive knot disease. *Acta Horticulturae*, 474, 567-571.

L

145. Lacroix, M., Vézina, L., Desjardins, S., & Beaulieu, C. (1995). Comparaison de techniques d'identification des *Erwinia* et des *Pseudomonas* responsables de la pourriture molle. *Phytoprotection*, 76(1), 27-37.
146. Lamichhane, J. R., & Varvaro, L. (2013). Epiphytic *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* can infect and cause olive knot disease on *Olea europaea* subsp. *cuspidata*. *Australasian Plant Pathology*, 42(2), 219-225.
147. Lamichhane, J. R., Varvaro, L., Parisi, L., Audergon, J. M., & Morris, C. E. (2014). Disease and frost damage of woody plants caused by *Pseudomonas syringae*: seeing the forest for the trees. *Advances in agronomy*, 126, 235-295.
148. Lavee, S., Rallo, L., Rapoport, H. F., & Troncoso, A. (1996). The floral biology of the olive: effect of flower number, type and distribution on fruitset. *Scientia horticulturae*, 66(3-4), 149-158.
149. Lavermicocca, P., Lonigro, S. L., Valerio, F., Evidente, A., & Visconti, A. (2002). Reduction of olive knot disease by a bacteriocin from *Pseudomonas syringae* pv. *ciccaronei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(3), 1403-1407.
150. Lavermicocca, P., & Surico, G. (1987). Occurrence of *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* and other bacteria on olive and oleander plants. *Phytopathologia Mediterranea*, 26(2), 136-141.

151. Lavermicocca, P., Valerio, F., & Visconti, A. (2003). Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1), 634-640.
152. Lelliott, R. A., Billing, E., & Hayward, A. C. (1966). A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. *Journal of applied bacteriology*, 29(3), 470-489.
153. Lepoivre, 2007. *Phytopathologie*, chapitre 4: les procaryotes phtopathogènes, Ed 2. Les presses agrono,iques de Gemblou, Bruelles Belgium, pp 79-103.
154. Levin, A. G., & Lavee, S. (2003a). Epidemiology and effects of *Verticillium* wilt on yield of olive trees (cvs. Barnea and Souri) irrigated with saline water in Israel. *Phytoparasitica*, 31(4), 333-343.
155. Levin, A. G., Lavee, S., & Tsrer, L. (2003b). Epidemiology of *Verticillium dahliae* on olive (cv. Picual) and its effect on yield under saline conditions. *Plant Pathology*, 52(2), 212-218.
156. Lindow, S. E., & Brandl, M. T. (2003). Microbiology of the phyllosphere. *Applied and environmental microbiology*, 69(4), 1875-1883.
157. López-Doncel, L. M., Trapero Casas, A., & Viruega Puente, J. R. (2000). Respuesta del olivo a la inoculación con " *Spilocaea oleagina*", agente del repilo. *Boletin de Sanidad Vegetale Plagas*. 26, 349-363.
158. López-Escudero, F. J., & Mercado-Blanco, J. (2011). *Verticillium* wilt of olive: a case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen. *Plant and soil*, 344(1), 1-50.
159. Loussert, R., & Brousse, G. (1978). L'olivier. Techniques agricoles et production méditerranéennes. *Maisonneuve et Larose, Paris*, 460.

M

160. MADR. (2021). Ministère de l'agriculture et du développement durable. Direction des Statistiques Agricoles et des Systèmes d'Information, "Serie B", 2013 ; "Serie B", 2019 ; "Serie B", 2020.
161. Maldonado-González, M. M., Prieto, P., Ramos, C., & Mercado-Blanco, J. (2013). From the root to the stem: interaction between the biocontrol root endophyte *Pseudomonas fluorescens* PICF 7 and the pathogen *Pseudomonas savastanoi* NCPPB 3335 in olive knots. *Microbial biotechnology*, 6(3), 275-287.
162. Manceau, C. R., & Kasempour, M. N. (2002). Endophytic versus epiphytic colonization of plants: what comes first? *Phyllosphere microbiology*, 115-123.

163. MAPM. (2009). Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime du Royaume du Maroc, Bulletin mensuel d'information et de liaison, les principaux ravageurs de l'olivier ; la mouche, la teigne, le psylle et la cochenille noire. Sommaire n° 183. 4p
https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_183.pdf
(consulté le 15/06/2020)
164. Marchi, G., Mori, B., Pollacci, P., Mencuccini, M., & Surico, G. (2009). Systemic spread of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive explants. *Plant Pathology*, 58(1), 152-158.
165. Marchi, G., Sisto, A., Cimmino, A., Andolfi, A., Cipriani, M. G., Evidente, A., & Surico, G. (2006). Interaction between *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* and *Pantoea agglomerans* in olive knots. *Plant Pathology*, 55(5), 614-624.
166. Marchi, G., Viti, C., Giovannetti, L., & Surico, G. (2005). Spread of levan-positive populations of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, the causal agent of olive knot, in central Italy. *European Journal of Plant Pathology*, 112, 101-112.
167. Martín, M. P., & García-Figueres, F. (1999). *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* cause anthracnose on olives. *European Journal of Plant Pathology*, 105(8), 733-741.
168. Martinez Raya, A. (1984). Suitable land for olive cultivation. Inter. Course on the Ferti. and Intens. Cult. of the Olive, Spain 1983, pp 26-29.
169. Mataix, J., & Barbancho, F. J. (2006). Olive oil in Mediterranean food. *Olive oil and health*, 1-44.
170. Marzouk, B., & Cherif, A. (1981). Formation des lipides dans l'olive: I-Formation des lipides neutres. *Oléag*, 36, 77-81.
171. Matas, I. M., Pérez-Martínez, I., Quesada, J. M., Rodríguez-Herva, J. J., Penyalver, R., & Ramos, C. (2009). *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* contains two *iaaL* paralogs, one of which exhibits a variable number of a trinucleotide (TAC) tandem repeat. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(4), 1030-1035.
172. Mendil, M., & Sebai A. (2006). Catalogue of Algerian variety of the Olive Tree. (Ministry of Agriculture and Rural Development). *ITAF*, Algeria, 100p.
173. Miner J. M. M. (1995). L'huile d'olive, un luxe quasi éternel. *Revue Olivae*, 59, 36-37.
174. Montesinos, E., & López, M.M. (1996). Métodos de control de las bacteriosis, In: Patología Vegetal. *Sociedad Española de Fitopatología- Phytoma España*, S.L.- Grupo Mundi-Prensa, 653-678.

- 175.** Moretti, C., Cortese, C., da Silva, D., Devescovi, G., Torelli, E., Venturi, V. E., Firrao, G., & Buonauro, R. (2014). Draft genome sequence of a hypersensitive reaction-inducing *Pantoea agglomerans* strain isolated from olive knots caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *Genome Announc* 2(4), e00774-14.
- 176.** Moretti, C., Ferrante, P., Hosni, T., Valentini, F., D'Onghia, A., Fatmi, M. B., & Buonauro, R. (2008). Characterization of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* strains collected from olive trees in different countries. In *Pseudomonas syringae Pathovars and Related Pathogens—Identification, Epidemiology and Genomics* (pp. 321-329). Springer, Dordrecht.
- 177.** Moretti, C., Hosni, T., Vandemeulebroecke, K., Brady, C., De Vos, P., Buonauro, R., & Cleenwerck, I. (2011). *Erwinia oleae* sp. nov., isolated from olive knots caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(11), 2745-2752.
- 178.** Moretti, C., Rezzonico, F., Orfei, B., Cortese, C., Moreno-Pérez, A., van den Burg, H. A., ... & Buonauro, R. (2021). Synergistic interaction between the type III secretion system of the endophytic bacterium *Pantoea agglomerans* DAPP-PG 734 and the virulence of the causal agent of olive knot *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* DAPP-PG 722. *Molecular plant pathology*, 22(10), 1209-1225.
- 179.** Moretti, C., Vinatzer, B. A., Onofri, A., Valentini, F., & Buonauro, R. (2017). Genetic and phenotypic diversity of Mediterranean populations of the olive knot pathogen, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *Plant Pathology*, 66(4), 595-605.
- 180.** Msallem, M. (2002). Étude de la juvénilité chez l'olivier (*Olea europaea* L.). Aspects morphologiques, anatomiques, physiologiques et biochimiques. *Thèse de Doctorat, Institut National Agronomique de Tunisie*. 219p ?
- 181.** Mugnai, L., Giovannetti, L., Ventura, S., & Surico, G. (1994). The grouping of strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* by DNA restriction fingerprinting. *Journal of Phytopathology*, 142(4), 209-218.

N

- 182.** Nguyen, K. A., Förster, H., & Adaskaveg, J. E. (2017). Quaternary ammonium compounds as new sanitizers for reducing the spread of the olive knot pathogen on orchard equipment. *Plant Disease*, 101(7), 1188-1193.

O

183. Ordax, M., Marco-Noales, E., López, M. M., & Biosca, E. G. (2006). Survival strategy of *Erwinia amylovora* against copper: induction of the viable-but-nonculturable state. *Applied and environmental microbiology*, 72(5), 3482-3488.
184. Oriolani, E., Pérez, B. A., Massigoge, J., Brancher, N., Matías, C., Otero, L., ... & Roca, M. (2012). Olive disease and pest surveys in Dorrego area, Buenos Aires, Argentina. *Acta horticulturae*, 949, 297-300.
185. Ortega Nieto, J. M. (1962). La poda del olivo. *Ministerio de Agricultura, Madrid*. In Manual Formativo: Poda del Olivar/ [Daniel Pérez Mohedano et. al.]. - Sevilla: Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible: *Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera*. 2020, 38 p
186. Oulebsir-Mohandkaci, H., Selami, S., & Benzina, F. (2017). Détection de *Pseudomonas savastanoi* pv agent causal de la tuberculose de l'olivier. Evaluation du pouvoir antagoniste de quelques substances végétales bioactives. *The 1st International Congress On Biotechnologies for Sustainable Development- CIBSDD*, Boumerdes- Algeria-ISSN 2661-720X.
187. Ouzari, H., Khsairi, A., Raddadi, N., Jaoua, L., Hassen, A., Zarrouk, M., ... & Boudabous, A. (2008). Diversity of auxin-producing bacteria associated to *Pseudomonas savastanoi*-induced olive knots. *Journal of Basic Microbiology*, 48(5), 370-377.

P

188. Pagnol, J. (1975). Précis de botanique pharmaceutique TOME 2, édition librairie Maloine.
189. Panagopoulos, C. G. (1993). Olive knot disease in Greece 1. *EPPO Bulletin*, 23(3), 417-422.
190. Paoletti, M. G., & Pimentel, D. (2000). Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 12(3), 279-303.
191. Penyalver, R., García, A., Ferrer, A., Bertolini, E., & López, M. M. (2000). Detection of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive plants by enrichment and PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2673-2677.
192. Penyalver, R., García, A., Ferrer, A., Bertolini, E., Quesada, J. M., Salcedo, C. I., ... & López, M. M. (2006). Factors affecting *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* plant inoculations and their use for evaluation of olive cultivar susceptibility. *Phytopathology*, 96(3), 313-319.

193. Paredes, D., Batuecas, I., Cayuela, L., & Campos, M. (2014). Anthocoris nemoralis: un nuevo aliado en el control biológico por conservación de la generación antófaga de la plaga del olivo Prays oleae. *Agroecología*, 9, 79-84.
194. Pérez-Martínez, I., Rodríguez-Moreno, L., Lambertsen, L., Matas, I. M., Murillo, J., Tegli, S., ... & Ramos, C. (2010). Fate of a Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi type III secretion system mutant in olive plants (Olea europaea L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 76(11), 3611-3619.
195. Pitt, T. L. (2002). Cross infection of cystic fibrosis patients with Pseudomonas aeruginosa. *Thorax*, 57(11), 921-921.
196. Polese J. M., (2015). L'olivier. Padoue Italie. Papergraf. p93.
197. Prota, U. (1995). The diseases of olive tree. *Informatore Fitopatologico (Italy)*. 45(12), 16-26.

Q

198. Quesada, J. M., Garcia, A., Bertolini, E., López, M. M., & Penyalver, R. (2007). Recovery of Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi from symptomless shoots of naturally infected olive trees. *International Microbiology*, 10(2), 77.
199. Quesada, J. M., Penyalver, R., & López, M. M. (2012). Epidemiology and control of plant diseases caused by phytopathogenic bacteria: the case of olive knot disease caused by Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi. *Plant Pathology*, 299-326.
200. Quesada, J. M., Penyalver, R., Pérez-Panadés, J., Salcedo, C. I., Carbonell, E. A., & López, M. M. (2010). Dissemination of Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi populations and subsequent appearance of olive knot disease. *Plant Pathology*, 59(2), 262-269.

R

201. Ramade, F. (1990). Conservation des écosystèmes méditerranéens, enjeux et précipitations. Ed. *Economica. Paris, fasc, 3*, 144.
202. Ramos, C., Matas, I. M., Bardaji, L., Aragón, I. M., & Murillo, J. (2012). Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi: some like it knot. *Molecular plant pathology*, 13(9), 998-1009.
203. Rhimini, Y., Bouaichi, A., Chliyah, M., Msairi, S., Touhami, A. O., Benkirane, R., & Douira, A. (2018). Influence of Variations in Climatic Factors and Some Cultural Practices on Knot Disease Development on Oleaster and Olive Tree (Olea europaea L.) Northwest of Morocco. *Annual Research & Review in Biology*, 1-9.

204. Rhizopoulou, S. (2007). *Olea europaea* L. A botanical contribution to culture. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 2(4), 382-387.
205. Ripa, R., & Rodríguez, F. (1999). Plagas de cítricos, sus enemigos naturales y manejo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile. 151p.
206. Roberto, F. F., Klee, H., White, F., Nordeen, R., & Kosuge, T. (1990). Expression and fine structure of the gene encoding N epsilon-(indole-3-acetyl)-L-lysine synthetase from *Pseudomonas savastanoi*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(15), 5797-5801.
207. Roca, L. F., Moral, J., Viruega, J. R., Ávila, A., Oliveira, R., & Traperó, A. (2007). Copper fungicides in the control of olive diseases. *Olea*, 26, 48-50.
208. Rodríguez-Moreno, L., Barceló-Muñoz, A., & Ramos, C. (2008). In vitro analysis of the interaction of *Pseudomonas savastanoi* pvs. *savastanoi* and *nerii* with micropropagated olive plants. *Phytopathology*, 98(7), 815-822.
209. Rodríguez-Moreno, L., Jiménez, A. J., & Ramos, C. (2009). Endopathogenic lifestyle of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive knots. *Microbial Biotechnology*, 2(4), 476-488.
210. Romero, P. (1967). On the tuberculosis of the olive tree. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 8(1-2), 39-47.

S

211. Saad, A. T., & Hanna, L. (2002). Two new hosts of *Pseudomonas savastanoi* and variability in strains isolated from different hosts. *Phytopathology*, 92, S71.
212. Saadi, S. (2009). Détection et caractérisation de bactériocines produites par des souches de rhizobia contre des souches de *Pseudomonas* (*P. savastanoi* et *P. syringae*) phytopathogènes. *Mémoire de Magister en Biotechnologie*, Université d'Oran. 80p.
213. Sabouni, I. (2005). Estudios agronómicos sobre el uso de la fitohormona etileno como alternativa natural a los insecticidas contra la polilla del olivo (*Prays oleae* BERN). *Thèse de Doctorat*, Université de Granada. 215 p.
214. Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (1988). Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 2nd ed. *APS, st. Poul, Minnesota*, 72p.
215. Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (2001). Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria. Ed 3. *American Phytopathological Society (APS Press)*, pp 1-39.
216. Schroth, M. N., Hildebrand, D. C., & Starr, M. P. (1981). Phytopathogenic members of the genus *Pseudomonas*. In *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 701-718.

217. Scortichini, M., Marchesi, U., Rossi, M. P., & Di Prospero, P. (2002). Bacteria associated with hazelnut (*Corylus avellana* L.) decline are of two groups: *Pseudomonas avellanae* and strains resembling *P. syringae* pv. *syringae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 476-484.
218. Scortichini, M., Rossi, M. P., & Salerno, M. (2004). Relationship of genetic structure of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations from Italian olive trees and patterns of host genetic diversity. *Plant pathology*, 53(4), 491-497.
219. Sebai, A., Sebai, Z., Saibi, Z., Boukari, N., Saidani, F., Belkacemi, S., Bekhouche, N., & Akmouche, H. (2012). La culture de l'olivier, *Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne Tessala El Merdja – Birtouta*, Alger, 32p.
220. Sergeeva, V., Spooner-Hart, R., & Nair, N. G. (2008). First report of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* causing leaf spots of olives (*Olea europaea*) in Australia. *Australasian Plant Disease Notes*, 3(1), 143-144.
221. Serdoun Bekri, N. (2013). Détection de *Pseudomonas savastanoi*, agent causal de la tuberculose de l'olivier Evaluation et comparaison d'une technique d'isolement sur milieu de culture et d'une technique sérologique (immunofluorescence). *Mémoire de Magister en Phytopharmacie*. Université d'Oran, 83p.
222. Sharma, N., Rathore, M., & Sharma, M. (2013). Microbial pectinase: sources, characterization and applications. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 12(1), 45-60.
223. Sheng, J., & Citovsky, V. (1996). Agrobacterium-plant cell DNA transport: have virulence proteins, will travel. *The plant cell*, 8(10), 1699.
224. Silvestri, F. (1908). Cavernicola. Descrizione di una nuova specie di *Lithobius* delle grotte di Sardegna : *Lithobius* (s. s.) *doderoi* sp. *Annali del Museo civico di Storia naturale di Genova*, 43, 647-648.
225. Sisto, A., Cipriani, M. G., & Morea, M. (2004). Knot formation caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* on olive plants is hrp-dependent. *Phytopathology*, 94(5), 484-489.
226. Sisto, A., & Iacobellis, N. S. (1999). Olive knot disease: pathogenic and epidemiological aspects and defence strategies. *Olivo and Olio*, 2, 32-38.
227. Slininger, P. J., Van Cauwenberge, J. E., Bothast, R. J., Weller, D. M., Thomashow, L. S., & Cook, R. J. (1996). Effect of growth culture physiological state, metabolites, and formulation on the viability, phytotoxicity, and efficacy of the take-all biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* 2-79 stored encapsulated on wheat seeds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 45(3), 391-398.
228. Smith, E.F. (1908). Recent studies on the olive-tubercle organism. U.S. Dept. Agr. Bur. *Plant Indust. Bull.* No. 131 Part, IV.

229. Smith, J. A., Hammerschmidt, R., & Fulbright, D. W. (1991). Rapid induction of systemic resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 38(3), 223-235.
230. Sobreiro, J. B. (1993). Guide for the phytosanitary protection of olives. *Guide for the phytosanitary protection of olives*, 4, 55p.
231. Surico, G. (1977). Histological observations on tumours of olive knot. *Phytopathologia Mediterranea*, 16(2/3), 109-125.
232. Surico, G. (1986). Indoleacetic acid and cytokinins in the olive knot disease. An overview of their role and their genetic determinants. In: Bailey J. (ed.). *Biology and Molecular Biology of Plant Pathogen Interactions. NATO ASI Series. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1*, 315- 329.
233. Surico, G. (1993). Scanning electron microscopy of olive and oleander leaves colonized by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*. *Journal of Phytopathology*, 138(1), 31-40.
234. Surico, G., & Lavermicocca, P. (1989). A semiselective medium for the isolation of *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*. *Phytopathology*, 79(2), 185-190.
235. Surico, G., & Marchi, G. (2003). Olive Knot Disease. In *Pseudomonas syringae* and related pathogens. *Kluwer Academic Publishers. Springer, Dordrecht*, pp 17-28.
236. Suslow, T. W., Schrotl, N., & Isaha, M. (1982). Application of a rapid method for Gram differentiation of plant pathogenic bacteria without staining. *Phytopathology*, 72, 917-918.
237. Taghavi, M., & Hasani, S. (2012). Occurrence of *Pseudomonas savastanoi* the causal agent of winter jasmine gall in Iran. *Iran Agricultural Research*, 31(1), 39-48.

T

238. Tajnari, H. (1992). Etude bio-écologique d'*Euphyllura olivina* Costa (Hom. Psyllidae) dans les régions du Haouz et d'Essaouira: mise en évidence d'un état de diapause ovari. Meknès. *Thèse de troisième cycle*, École nationale d'agriculture du Maroc.
239. Tapia, F., Astorga, M., Ibacache, A., Martínez, L., Sierra, C., Quiroz, C., ... & Riveros, F. (2003). Manual del cultivo del olivo. *Boletín INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias*. 101, 11-20.
240. Terral, J. F., Alonso, N., Capdevila, R. B. I., Chatti, N., Fabre, L., Fiorentino, G., ... & Alibert, P. (2004). Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. *Journal of Biogeography*, 31(1), 63-77.

241. Teviotdale, B. L., & Krueger, W. H. (2004). Effects of timing of copper sprays, defoliation, rainfall, and inoculum concentration on incidence of olive knot disease. *Plant disease*, 88(2), 131-135.
242. Tombesi, A., Michelakis, N., & Pastor, M. (1996). Recommendations of the working group on olive farming production Techniques and Productivity. *Olivae*, 63.
243. Tombesi, A., Tombesi, S., Saavedra, M. S., Fernandez-Escobar, R., d'Andria, R., Lavini, A., & Jardak, T. (2007). Conseil Oléicole Internationale. Technique de production en oléiculture. Madrid (Espagne). ISBN. 1^{ère} édition. Pp 348.
244. Trapero, A. (2018). In Tolocka, P., Roca, M., Otero, M. L., & Haelterman, R. M. *Tuberculosis del olivo*. Consejo Federal de Inversiones.
245. Trapero, A. & Blanco, M.A. (1996). Diseases: Tuberculosis. In: Olive cultivation, pp. 489-493, Barranco D., Fernández-Escobar D., and Rallo L. (eds.). Ediciones Mundi-Prensa (Madrid-Barcelona-México), Coedición Junta de Andalucía, Ministry of Agriculture and Fisheries.
246. Trapero, A., & Blanco MA (2004). Enfermedades. In: El cultivo del olivo. Junta de Andalucía y Mundi-Prensa, 557-614.
247. Trapero, A., & Blanco, M. A. (2008). Enfermedades. In: El cultivo de olivo. D. Barranco, R. Fernández-Escobar, L. Rallo, eds. *Coedición Junta de Andalucía / Mundi-Prensa, Madrid*, 595-656.
248. Tsuji, M., Ohta, K., Tanaka, K., & Takikawa, Y. (2017). Comparison among Japanese isolates of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, causal agent of olive knot disease. *Journal of General Plant Pathology*, 83(3), 152-161.
249. Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Valentine, D. H., Moore, D. M., Ball, P. W., & Richardson, I. B. K. (1972). *Flora Europaea: Diapensiaceae to Myoporaceae*. Vol 3. Cambridge University Press.

U

250. USDA, 2021. Oilseeds: World Markets and Trade.
<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>
(consulté 05/04/2022).

V

251. Valverde, P., Zucchini, M., Polverigiani, S., Lodolini, E. M., López-Escudero, F. J., & Neri, D. (2020). Olive knot damages in ten olive cultivars after late-winter frost in central Italy. *Scientia Horticulturae*, 266, 109274.
252. Varvaro, L., & Surico, G. (1978). Comportamento di diverse cultivars di Olivo (*Olea europaea* L.) alla inoculazione artificiale con *Pseudomonas savastanoi* (EF Smith) Stevens. *Phytopathologia mediterranea*, 174-177.
253. Vasilopoulos, C. (2013). Climate change effects on vines should alarm olive oil producers. *Olive Oil Times*.
254. Velusamy, P., Immanuel, J. E., Gnanamanickam, S. S., & Thomashow, L. (2006). Biological control of rice bacterial blight by plant-associated bacteria producing 2, 4-diacetylphloroglucinol. *Canadian journal of microbiology*, 52(1), 56-65.
255. Villa, M., Santos, S. A., Sousa, J. P., Ferreira, A., da Silva, P. M., Patanita, I., ... & Pereira, J. A. (2020). Landscape composition and configuration affect the abundance of the olive moth (*Prays oleae*, Bernard) in olive groves. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 294, 106854.
256. Vincent, J. M. (1970). A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria*.

W

257. Walali, L.D., Skiredj, A., Elattir, H., 2003. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA n°105 (MADER/ DERD), Rabat, Maroc: 4 p.
258. Wang, X. G., Levy, K., Nadel, H., Johnson, M. W., Blanchet, A., Argov, Y., ...& Daane, K. M. (2013). Overwintering survival of olive fruit fly (Diptera: Tephritidae) and two introduced parasitoids in California. *Environmental entomology*, 42(3), 467-476.
259. Wilson, E. E. (1935). The Olive knot disease: its inception, development, and control. *Hilgardia*, 9(4).
260. Williams, D. J., & Watson, G. W. (1990). The scale insects of the tropical South Pacific region. Part 3: the soft scales (Coccidae) and other families. *CAB International*, 595(754), 5.

X

261. Xin, X. F., Kvitko, B., & He, S. Y. (2018). *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen. *Nature Reviews Microbiology*, 16(5), 316-328.

Y

262. Young, J. M. (2004). Olive knot and its pathogens. *Australasian Plant Pathology*, 33(1), 33-39.
263. Young, J. M. (2010). Taxonomy of *Pseudomonas syringae*. *Journal of plant pathology*, S5-S14.

Z

264. Zohary, D., & Spiegel-Roy, P. (1975). Beginnings of Fruit Growing in the Old World: Olive, grape, date, and fig emerge as important Bronze Age additions to grain agriculture in the Near East. *Science*, 187(4174), 319-327.
265. Zoubeidi, M., & Dahane, A. (2020). Une agriculture durable au service d'une alimentation durable. Culture de l'olivier dans la steppe algérienne. Research and innovation as tools for sustainable agriculture, food and nutrition security. CIHEAM (Italy). MEDFORUM 2018 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens, 124, 167-173.
<http://om.ciheam.org/om/pdf/a124/00007817.pdf>
(consulté le 22/10/2022).

Annexes

Annexe 1

Matériel de bactériologie

A/ Petit matériel

- Anse de platine.
- Boîtes de Pétri stériles à 90 mm de diamètre.
- Barreaux magnétiques.
- Cotton,
- Ecouvillons stériles.
- Eppendorfs.
- Eprouvettes.
- Eppendorfs et cryotubes.
- Erlenmeyers.
- Gel d'agarose.
- Gants en latex à usage unique.
- Lames et lamelles.
- Micropipettes.
- Parafilm
- Pied à coulisse.
- Pince et ciseaux.
- Pipettes Pasteur stériles.
- Portoirs pour lame et pour tubes.
- Poire
- Scalpel.
- Tubes à essai, et flacons de 250 ml.

B/ Equipements

- Autoclave.
- Bain Marie.
- Balance de précision.
- Bec bunsen.
- Bloc chauffant.
- Centrifugeuse.
- Congélateur : -20°C.
- Electrophorèse.

- Etuve réglable à 26°C.
- Hotte à flux laminaire.
- Microscope optique à immersion.
- pH mètre.
- Plaque chauffante avec Agitateur magnétique
- Réfrigérateur : +4°C.
- Spectrophotomètre.
- Thermocycleur (SimpliAmp 9600).
- Vortex.

C/ Réactifs

- Eau physiologique et eau distillée stériles.
- Ethanol.
- Galeries Api 20E.
- Glycérol.
- Huile à immersion.
- Réactifs pour la coloration de Gram : violet de Gentiane, lugol, fushine.
- Réactifs pour galerie : Perchlorure de Fer (TDA), réactif de Kovacs (IND), réactif de KOH et d' α -naphthol (VP1 et VP2), réactif de Griess et poudre zinc (NIT 1 et NIT 2), huile de vaseline.
- Réactifs pour le test Arginine dihydrolase
- Réactif pour la recherche de l'oxydase.
- Réactif pour la recherche de la catalase (Peroxyde d'hydrogène).
- Amorces pour la recherche de gène *iaaL* (*iaaL* F /*iaaL* R), Taq polymérase, et réactifs nécessaires pour la PCR (Tampon pour la Tq polymérase, MgCl₂, dNTPs,).

Annexe 2

La localisation géographique des vergers échantillonnés est représentée dans les figures 51, 52 et 53.





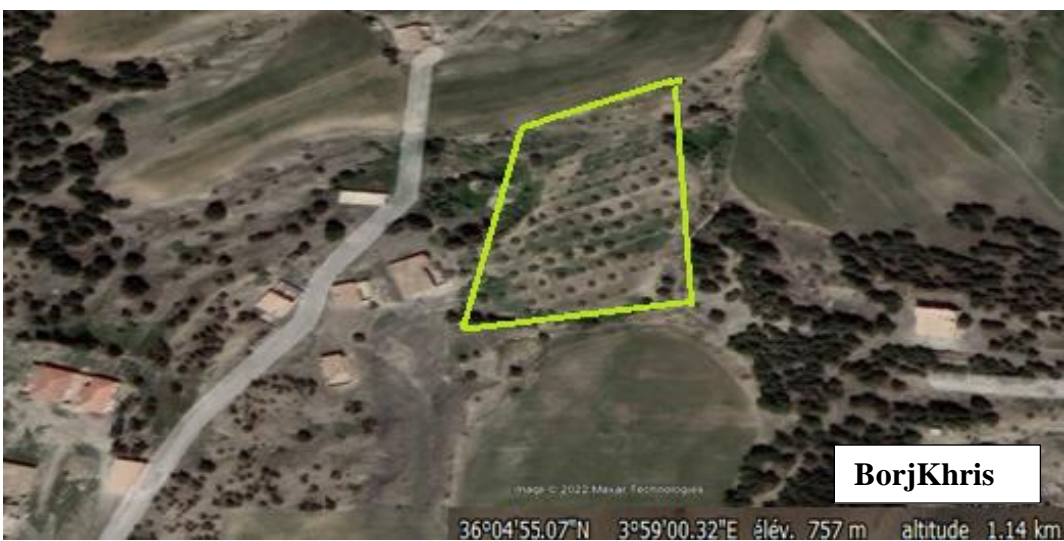




Figure 51 : Localisation géographique des vergers échantillonnés de la wilaya de Bouira.

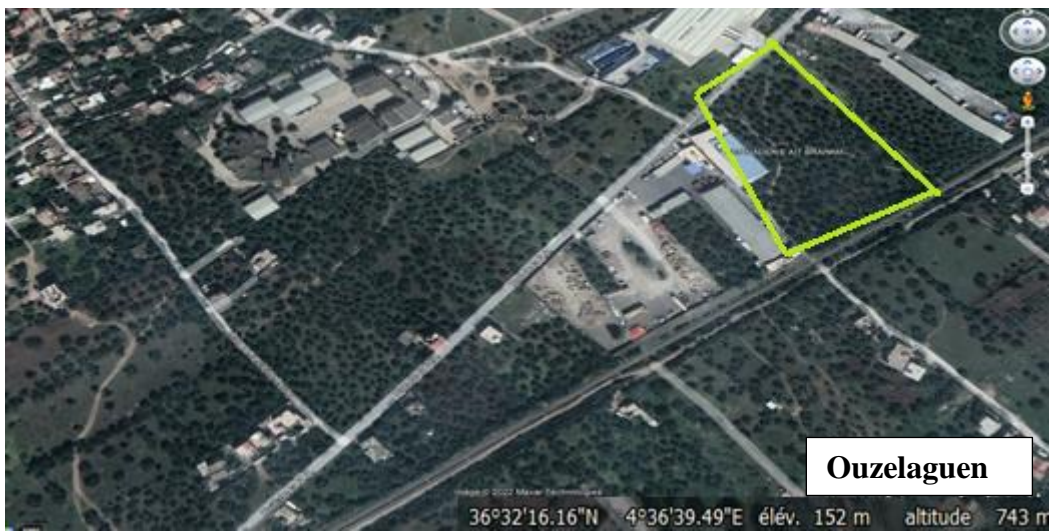






Figure 52 : Localisation géographique des vergers échantillonnés de la wilaya de Tizi-Ouzou.





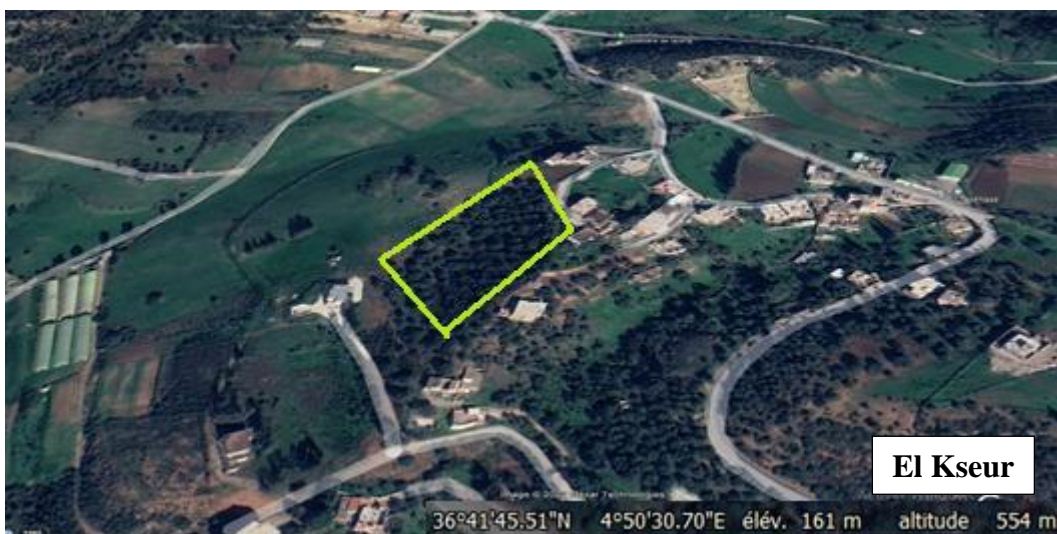
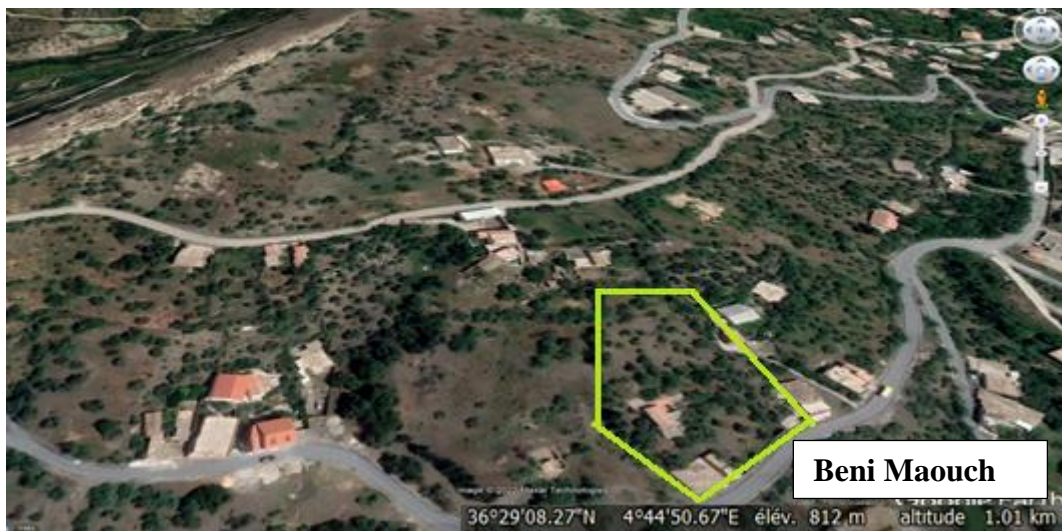


Figure 53 : Localisation géographique des vergers échantillonnés de la wilaya de Bejaïa.

Annexe 3

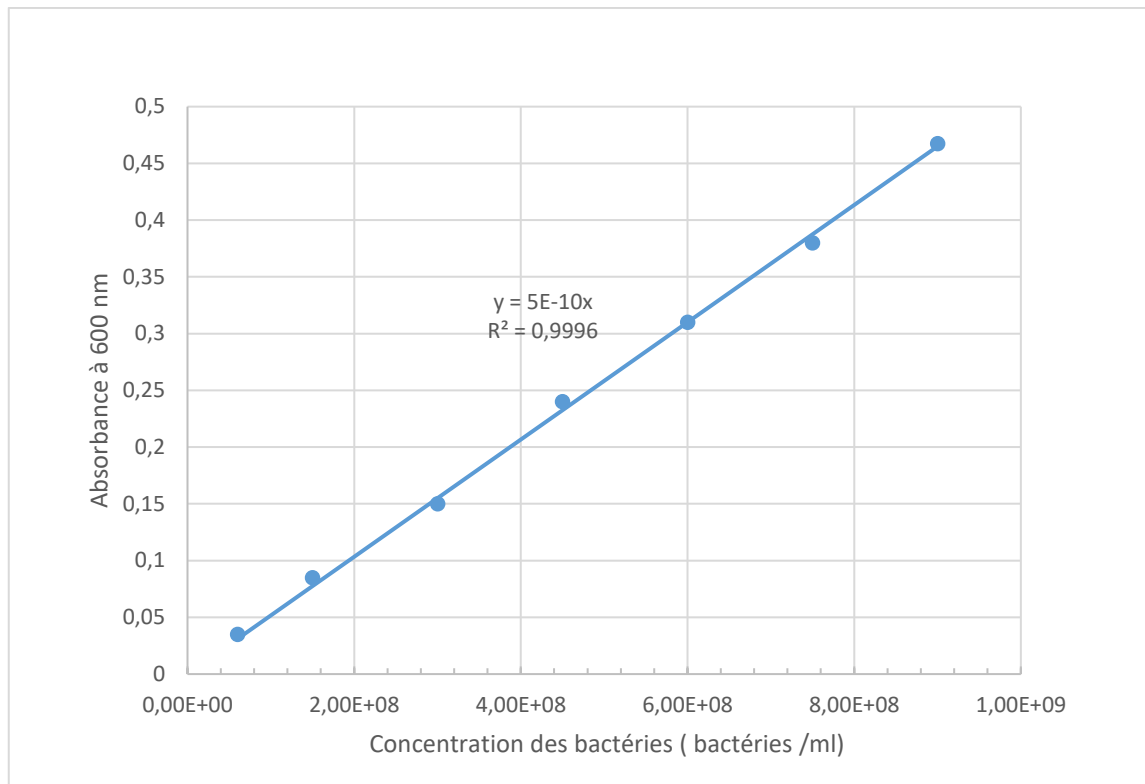


Figure 54 : Courbe d'étalonnage utilisée pour le dénombrement des bactéries.

Résumé

La tuberculose de l'olivier est l'une des maladies les plus importantes affectant la culture de l'olivier. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* est reconnu comme l'agent causal de cette maladie.

Durant la période 2019-2020, des prospections ont été réalisées dans plusieurs oliveraies dans la région de la Kabylie au centre de l'Algérie (wilayas de Bouira, Tizi-Ouzou et Bejaïa) pour évaluer l'incidence et l'intensité d'attaque de la tuberculose de l'olivier.

L'isolement de *P. savastanoi* a été réalisé sur le milieu King B à partir des nœuds prélevés, l'identification de l'agent pathogène a été faite au moyen de méthodes biochimiques, biologiques et moléculaires.

La prospection a révélé une distribution hétérogène de la maladie selon le site ; cependant, toutes les variétés d'*Olea europaea* cultivées dans la région d'études sont touchées et ceci quel que soit l'âge de la plante. 14 souches bactériennes ont été isolées des tumeurs sur le milieu semi sélectif (King B) et identifiées comme étant *P. savastanoi* en se basant sur les caractéristiques biochimiques (test LOPAT), et le test de phytopathogénicité sur plants d'olivier. L'amplification du gène *iaaL* a confirmé que les souches sélectionnées sont des *P. savastanoi*. La caractérisation biochimique des bactéries associées aux nœuds d'olivier trouvées seules ou en association avec *P. savastanoi* a révélé l'identification de *Pantoea* principalement, à cela s'ajoute *Stenotrophomonas*, *Rahnella*, *Serratia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter cloacae* et *Citrobacter freundii*. Ces bactéries sembleraient contribuer dans la virulence de l'agent causal et/ou ayant une activité antagoniste pouvant le déprécier.

Mots clés : *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, tuberculose de l'olivier, incidence, intensité d'attaque, bactéries associées, centre de l'Algérie.

المخلص:

يعتبر مرض أورام الزيتون من أبرز الأمراض التي تصيب الزيتون أثناء زراعته. ويعتبر *Pseudomonas savastanoi* هو العامل المسبب لهذا المرض.

خلال الفترة 2019-2020 ، أجريت مسوحات في عدة بساتين زيتون بمنطقة القبائل وسط الجزائر (ولايات البويرة وتيزي وزو وبجاية) لتقييم مدى انتشار مرض أورام الزيتون في شجرة الزيتون وشدته. تم عزل البكتيريا المسببة *P. savastanoi* على وسط (King B) من العقد التي تم جمعها، وتم التعرف على العامل الممرض باستخدام الطرق البيوكيميائية والبيولوجية والجزئية.

كشفت المسح عن توزيع غير متجانس للمرض حسب الموقع؛ ومع ذلك، تأثرت جميع أصناف *Olea europea* المزروعة في منطقة الدراسة، بغض النظر عن عمر النبات.

تم عزل 14 سلالة بكتيرية من الأورام على الوسط شبه الانتقائي (King B) وتم تحديدها على أنها *P. savastanoi* بناءً على الخصائص البيوكيميائية (اختبار م LOPAT) واختبار خاصيته الممرضة على نباتات الزيتون. أكدت مضاعفة جينات *iaaL* أن السلالات المختارة هي *P. savastanoi*.

أظهر التوصيف الكيميائي الحيوي للبكتيريات المرتبطة بعقد الزيتون الموجودة بمفردها أو بالاشتراك مع *P. savastanoi* تحديد *Pantoea* بشكل رئيسي ، بالإضافة إلى *Stenotrophomonas* و *Rahnella* و *Serratia* و *Pseudomonas fluorescens* و *Enterobacter cloacae* و *Citrobacter freundii*. يبدو أن هذه البكتيريا تساهم في ضراوة العامل المسبب و / أو أن لها نشاطاً عدائياً يمكن أن يقلل من قيمتها.

الكلمات المفتاحية: (*Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*). ، أمراض أورام شجرة الزيتون ، البكتيريا المصاحبة للإصابة ، وسط الجزائر .

Abstract

Olive knot disease is one of the most important diseases affecting olive cultivation, and *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* is recognised as its causal agent.

Field surveys were carried out during the period 2019-2020 in several olive orchards in the Kabylie area on the northern tip of Algeria to explore the reasons behind the alarming spread of olive knot disease in Algeria for the regions of Bouira, Bejaia and Tizi-ouzou to assess their incidence and attack intensity.

The isolation of *P. savastanoi* was carried out on King-B medium from the sampled knots, the identification of the pathogen was done by biochemical, biological and molecular methods.

The field survey revealed a heterogeneous distribution of the disease depending on the site.

However, all varieties of *Olea europea* grown in the study area were affected regardless of the age of the tree. A total of 14 bacterial strains were isolated from knots on semi-selective medium (King B) and identified as *P. savastanoi* based on biochemical characteristics (LOPAT test), and phyto pathogenicity test on olive plants. The amplification of the *iaaL* gene confirmed that the selected strains concern *P. savastanoi*. The biochemical characterisation of the bacteria associated with olive knots found alone or in association with *P. savastanoi* revealed the identification of mainly *Pantoea*, to which were added *Stenotrophomonas*, *Rahnella*, *Serratia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii*. These associated bacteria would appear to contribute to the virulence of the causal agent and/or have antagonistic activity that may depreciate the disease.

Keywords : *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, olive knot, incidence, attack intensity, bacterial disease, center of Algeria.