



Réf :/UAMOB/FSNVST/DSA/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences agronomiques

Spécialité : Phytopathologie

Présenté par :

AZERAR Fatiha

Thème

**Etude de pouvoir phytopathogène de quelques souches de
Pseudomonas savastanoi pv savastanoi et essais de la lutte.**

Soutenu le: 06 /07 /2022

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

MECELLEM Dalila

MCA

Univ. de Bouira

Président

MEBDOUA Samira

MCB

Univ. de Bouira

Promoteur

HASSOUNA Mohamed A.

Doctorant

Univ. de Bouira

Co-Promoteur

LAMINE Salim

MCA

Univ. de Bouira

Examineur

Année Universitaire : 2021/2022



Remerciements

Après les louanges à **DIEU** l'unique, l'éternel je tiens à exprimé mes sincères remerciements aux tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté, la foi et la force de réaliser ce travail et de réaliser mon rêve et celui de mes chers parents.

Je tiens à remercier vivement et chaleureusement Madame **MEBDOUA.S** Maitre de conférences à l'université de Bouira pour avoir accepté de diriger ce travail pour leur soutien, pour la confiance qu'elle m'a témoigné aussi que pour sa bienveillance et son affection ressenties durant la formation de chercheur qu'elle m'a prodigué. Ce travail m'a permis de déceler ses qualités scientifiques à travers son entière disponibilité, ses importants conseils et ses critiques constructives, malgré incessantes surtout en pratique. Je tiens à vous exprimer madame le professeur ici même, l'expression de mes sentiments de reconnaissance, de grand respect et de profonde admiration pour vos compétences scientifiques et vos valeurs extrêmement humaines.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury :

J'adresse mes sincères remerciements à Mr **Lamine.S** Maitre de conférences à Université de Bouira, pour l'honneur qu'il me fait d'examiner ce travail.

J'exprime également mes remerciements à Mme **Mecellem.D** prof Université de Bouira, d'avoir accepté de présider le jury

Nous remercions Doctorant **HASSOUNA.M** de nous faire l'honneur de juger ce travail

Nos remerciements s'étendent également à Madame **SAYAH.S** Maitre assistant à l'université de Bouira pour ses bonnes explications qui nous ont éclairé le chemin de la recherche et sa collaboration avec nous dans l'accomplissement de ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Nous remercions le directeur de la Directions des Services Agricoles DSA monsieur **HADIOUCHE Boualem** et ses employés surtout Monsieur **MARDOUD Rabah** délégué communal d'El Asnam à Bouira.

Nous remercions Mr **DILMI** et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail. Mon chemin et qui ont partagé avec moi mes moments de joie et de peine.



Merci



Dédicaces

À mes chers parents Mon cher papa Hakim Signe de fierté et d'honneur, ce travail est le vôtre, tu trouveras ici toute mon affection et ma profonde gratitude pour toutes ces années de sacrifice pour moi.

Ma chère Maman Noura Nul mot ne parviendra jamais à exprimer l'amour que je te porte. Ton amour, ta patience, ton encouragement et tes prières ont été pour moi le gage de la réussite. J'espère que ce travail soit pour toi le fruit de tes efforts et n témoignage de ma profonde affection.

La plus belle perle dans le monde, ma grand-mère et ma deuxième mère Ouardia qui m'ont élevé, pour son soutien, son réconfort et tous les efforts qu'elle a fourni pour ma réussite, qui a apaisé mes peines et qui a fait de ma vie un éternel moment de bonheur, d'amour et d'affection. Puisse Dieu lui prêter bonne santé et longue vie et me permettre de la rendre heureuse et de la combler.

A ma famille mes chers frères Nour Eddine, Lounes et à mes sœurs Yassilia et Lydia, Daikha, Milissa.

Amon cher oncle Larbi et sa famille, ma tante qui a pris soin de moi Ghlima et ma tante Nouara. A mon cher Papi Abdellah et oncle Nasser que dieu ait pitié de vous et vous accorde son paradis.

A mes amies Kahina et cylvia et ceux qui ont aidé de près ou de loin et à tous ceux qui ont croisé mon chemin et qui ont partagé avec moi mes moments de joie et de peine.



Azerar Fatiha

Liste des Tableaux

Tableaux	Titre	Page
Tableau n 01	Etapes de cycle végétatif de l'olivier.	7
Tableau n 02	Principales caractéristiques des variétés les plus cultivées en Algérie	10
Tableau n 03	Les maladies d'origine abiotiques de l'olivier.	11
Tableau n 04	a. Les principales maladies fongiques et bactériennes de l'olivier.	11
	b. Les principaux ravageurs de l'olivier.	12
	c. Les ravageurs occasionnels de l'olivier.	13
Tableau n 05	Caractéristiques des souches bactériennes étudiées sur le milieu King B après 72h d'incubation à 26°C.	31
Tableau n 06	Caractéristiques des souches bactériennes étudiées sur le milieu Levane (NAS) après 72h d'incubation à 26°C.	33
Tableau n 07	Résultats du test de LOPAT.	34
Tableau n 08	Résultats des autres tests biochimiques.	38
Tableau n 09	Diamètres de zone d'inhibition (cm) d'essais d'antagonisme après 24h.	40
Tableau n 10	Diamètres de zone d'inhibition (cm) d'essais d'antagonisme après 48h.	41
Tableau n 11	Dimensions des nœuds obtenus dans l'essai pathogénicité de souche PS13 vis à vis des quatre cultivars de l'olivier.	42

Liste des Figures

Figures	Titre	Page
Figure n 01	Origine de l'olivier dans la région méditerranéenne (Dissémination de l'olivier cultivé de l'Est à l'Ouest de la Méditerranée.	4
Figure n 02	Fleurs, fleurs et fruits d'olivier.	6
Figure n 03	Coupe longitudinale et transversale d'une olive.	7
Figure n 04	Top 10 des pays producteurs d'olives dans le monde.	9
Figure n 05	Evolution de la production d'olive en Algérie durant la période 1961-2019.	10
Figure n 06	Des tumeurs formées sur le tronc.	15
Figure n 07	Des tumeurs formées sur les rameaux.	15
Figure n 08	Des tumeurs formées sur les feuilles.	16
Figure n 09	la chute des feuilles et des branches.	16
Figure n 10	Flacons contenant de milieu King B.	22
Figure n 11	Matériels utilisés pour la caractérisation des colonies bactériennes.	23
Figure n 12	Matériel utilisé dans test oxydase.	24
Figure n 13	(A) Matériel utilisé dans test pectinase. (B) Colonies bactériennes déposées sur des tranches de PDT.	25
Figure n 14	Injection des suspensions bactériennes dans les feuilles du Tabac.	25
Figure n 15	Test de pathogénicité effectué sur les différentes variétés de l'olivier.	28
Figure n 16	Test de gamme d'hôte réalisé sur les plants de jasmin blanc, jasmin d'hiver, laurier rose.	29
Figure n 17	Quelques étapes de cette teste Essai de l'antagonisme.	30
Figure n 18	Aspect macroscopique des souches B27, PS13 et B21 sur le milieu King B.	32
Figure n 19	Aspect macroscopique des colonies formées sur le milieu Levane.	33
Figure n 20	Colonies en dômes formées par la souche PS27.	34
Figure n 21	Résultat de test oxydase négatif	35
Figure n 22	Résultat de test oxydase positive.	35
Figure n 23	Résultat de test pectinase	36
Figure n 24	Résultat de test d'hypersensibilité sur feuilles de Tabac : A, B, C, D, E: Réactions observées après 18h. F, G: Réaction observée après 7 jours.	37
Figure n 25	Résultat de test KOH : formation filament contenu.	38
Figure n 26	Résultat positif du test catalase.	39
Figure n 27	Souches fluorescente sous la lampe UV.	39
Figure n 28	Résultats de Test d'activité protéase.	40
Figure n 29	Résultats d'essai de l'antagonisme de quelques souches bactériennes vis a vis de <i>Pseudomonas savastanoi</i> .	41
Figure n 30	Résultats de test phytopathogénésité de l'olivier.	42

Sommaire	
Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01
Chapitre I. Données bibliographique sur l'olivier	
I.1. Histoire et origine.	03
I.2. Systématique de l'Olivier.	03
I.3. Description de l'Olivier.	05
I.3.1. Système racinaire.	05
I.3.2. Système aérien.	05
I.4. Cycle végétatif de l'olivier.	07
I.5. Intérêt de l'olivier.	08
I.6. Importance de l'olivier.	09
I.7. Principales variétés algérienne de l'olivier.	10
1.8. Les principales maladies de l'olivier.	11
1.8.1. Maladies d'origine abiotique.	11
1.8.2. Les maladies biotiques.	11
Chapitre II. Données bibliographique sur la tuberculose de l'olivier	
II.1. Définition.	13
II.2. Classification de <i>Pseudomonas savastanoi</i> .	13
II.3. Plantes hôtes.	14
II.4. Les symptômes.	14
II.5. Pouvoir pathogène de l'agent causal.	17
II.6. Cycle de la maladie.	18
II.7. Conservation de la bactérie.	18
II.8. Impact et dégâts.	19
II.9. La répartition géographique de la tuberculose d'olivier.	19
II.10. Gestion de la maladie.	19
Chapitre IV. Matériels et méthodes	
III.1. Matériel utilisé.	21
III.1.1. Matériel microbien.	21
III.1.2. Matériel végétal.	21
III.2. Méthodologie.	21
III.2.1. Préparation des milieux de culture.	21
III.2.2. Caractérisation des souches sur milieu Levane et King B.	22
III.2.3. Tests biochimiques.	23
III.2.4 Conservation des souches bactériennes.	27
III.2.5. Étude de pouvoir phytopathogène des souches <i>Pseudomonas savastanoi</i> .	27
III.2.5.1. Test phytopathogénicité sur les plantes d'olivier (essais variétal).	27
III.2.5.2. Test de pathogénicité sur d'autres plantes hôtes (test de gamme d'hôte).	28
III.2.6. Essai de l'antagonisme de quelques souches bactériennes vis-à-vis de <i>Pseudomonas savastanoi</i> .	29

III-2.7. Test d'activité protéase.	30
Chapitre IV. Résultats et discussions	
IV .1. Description macroscopique des souches bactériennes étudiées.	31
IV.1.1. Caractéristiques macroscopiques sur le milieu King B.	31
IV.1.2. Caractéristiques macroscopiques sur le milieu Levane (NAS).	32
IV.2. Résultats des Tests biochimiques.	33
IV.3. Résultats des essais de l'antagonisme des cinq souches bactériennes vis-à-vis des <i>Pseudomonas savastanoi</i> .	40
IV.4. Etude de pouvoir phytopathogène des souches <i>Pseudomonas savastanoi</i> .	41
IV.4.1. Résultats du test phytopathogénicité sur les plantes d'olivier (essais variétal).	41
IV.4.2. Test de pathogénicité sur d'autre plantes hôtes (test de gamme d'hôte).	42
Conclusion	44
Références bibliographiques	
Annexes	

INTRODUCTION



Introduction

L'olivier, arbre ancestral profondément ancré dans les civilisations méditerranéennes et arabo-musulmanes, a toujours constitué, de part sa forte charge emblématique en terme de paix et de prospérité, un facteur d'atténuation des clivages culturels des peuples du bassin méditerranéen (Saad, 2009).

L'oléiculture est la deuxième plus importante culture fruitière et oléagineuse cultivée à travers le monde après le palmier à huile. Sa culture est liée à la région méditerranéenne où elle revêt une grande importance économique, sociale et écologique. En effet, 95% des oliveraies mondiales se concentrent dans cette région assurant plus de 95% de la production mondiale (Pineli et al., 2003).

En Algérie, l'olivier compte environ 32 millions d'arbres située principalement dans la partie Nord du pays, où la plupart des vergers (80%) sont situés dans des zones montagneuses avec des sols pauvres (Bensemmane, 2009 ; Mendil, 2009). La production des olives est limitée par plusieurs maladies et ravageurs, conduisant à des pertes de la récolte (El Hadrami et Nezha, 2001).

Malheureusement, l'olivier est sujet à différents types d'attaques d'origine fongique ou bactérienne ou ravageurs qui peuvent réduire la capacité de production, par conséquent, causer de lourdes pertes économique. C'est l'exemple de la tuberculose de l'olivier, une maladie causée par *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi*.

En 2012, plus de 5.000 oliviers ont été touchés par la tuberculose à Tébessa, et en 2013, 16% des oliviers à Oran et 45% à Ain-Temouchent ont été enregistrés. Jusqu'à présent, et en absence de statistique officielle, les régions atteintes par l'infection pourraient être beaucoup plus vaste. A Bouira, la maladie a été signalée dans dix communes avec une incidence qui varie entre 5 et 34% (Hassouna et al., 2022).

Pseudomonas savastanoi est une bactérie largement répandue dans le sol, l'eau et l'air, c'est un agent phytopathogène causant des excroissances, dénommé galles, des nœuds ou des tumeurs, principalement sur les parties aériennes des plantes (Benjama, 2003). Résident commun dans la phyllo sphère d'olivier, elle a la capacité de passer d'un mode de vie épiphytique à un mode de vie parasite à chaque fois que des blessures de nature diverse lui permettent d'envahir les tissus de l'hôte (Ercolani, 1978).

Introduction

L'objectif de la présente recherche est :

- La caractérisation macroscopique et biochimique de deux souches de *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* isolées à partir des nœuds d'olivier dans la wilaya de Bouira.
- L'étude de pouvoir phytopathogène de ces souches vis à vis de quatre cultivars d'olivier et vis-à-vis d'autres plantes hôtes alternatives.
- La caractérisation macroscopique et biochimique de cinq souches bactériennes endophytes de l'olivier.
- L'évaluation de la capacité antagoniste de ces souches endophytes vis-à-vis de *P. savastanoi*.

Le présent travail s'articule autour de quatre chapitres, dont le premier développe les données bibliographiques sur l'olivier, sa description morphologique, son importance, ainsi que ses principales maladies et ravageurs. Le deuxième chapitre est consacré aux données bibliographiques sur la tuberculose de l'olivier. Le matériel utilisé et les différentes méthodes employées au laboratoire sont regroupés dans le troisième chapitre. Le quatrième chapitre est consacré à l'interprétation des résultats obtenus et à la discussion. Et à la fin, nous terminons cette étude par une conclusion générale accompagnée de perspectives.

CHAPITRE I

Données bibliographiques sur l'olivier



Chapitre I : Données bibliographique sur l'Olivier**I.1. Histoire et origine**

Selon la bible, les graines de l'olivier viennent du paradis, elles ont été placées dans la bouche d'Adam jusqu'à sa mort (Ingrid et Schofelder, 1988). Quelque temps plus tard, c'est un rameau d'olivier qui a été rapporté à Noé sur son arche, la colombe expédiée pour observer la décrète des eaux, les vertus de cet arbre sont mentionnés par le Coran où il est dit « Dieu est la lumière des cieux et de la terre. Sa lumière est comparable à une niche ou se trouve une lampe. La lampe est dans un verre; le verre est semblable à une étoile brillante. Cette lampe est allumée à un arbre béni : L'olivier qui ne provient ni de l'Orient ni de l'Occident et dont l'huile est près d'éclairer sans que le feu la touche » (Sourate La Lumière 35).

Des feuilles d'olive fossilisées, datant d'environ 50000 ans ont été découvertes dans le cratère de l'île de Santorin en Grèce. Des pollens fossiles à tautavel datent d'au moins 20000 ans, des fossiles de feuilles et de noyaux d'olives datant du paléolithique supérieur ont été mis au jour en Afrique du Nord, en Italie et en Espagne (Chevalier, 1948; Breton et al., 2007). Toutes ces découvertes démontrent que l'histoire de l'olivier sur le pourtour méditerranéen se perd dans la nuit des temps (Angiolillo et al., 1999 ; Baldoni et al., 2006 ; Belaj et al., 2010).

Selon ces auteurs, à l'origine, il y a l'oléastre, un olivier sauvage, ancêtre de l'olivier cultivé que l'on connaît aujourd'hui. Il y a encore peu de temps les scientifiques situaient son berceau à l'Est de bassin méditerranéen, en Asie Mineure (Anatolie) et faisaient remonter sa domestication à 3700 ans avant J.-C. D'après (Kaniewski et al., 2009), en Mésopotamie (Syrie), c'est de là que l'olivier cultivé, en grand conquérant, aurait par la suite été étendu vers l'Occident par les deux bords de la méditerranée au gré des principales civilisations telles que les phéniciens, les grecs, les romains et les arabes (Figure 01). Ce n'est qu'au 19ème siècle, que la culture de l'olivier colonise progressivement tout le bassin méditerranéen (Civatons, 2008 ; Carrion et al., 2010). Plus tard, la culture de l'olivier fait un bon en dehors du bassin méditerranéen pour s'introduire dans le nouveau monde (Pérou, Chili, Mexique, Argentine, Brésil et les Etats Unis) (Garcia-verdugo et al., 2010). Elle s'est introduite également en Afrique du Sud, en Australie, au Japon, en Chine et plus récemment en Nouvelle- Calédonie (Rhizoupoulou, 2004; bottani, 2011).

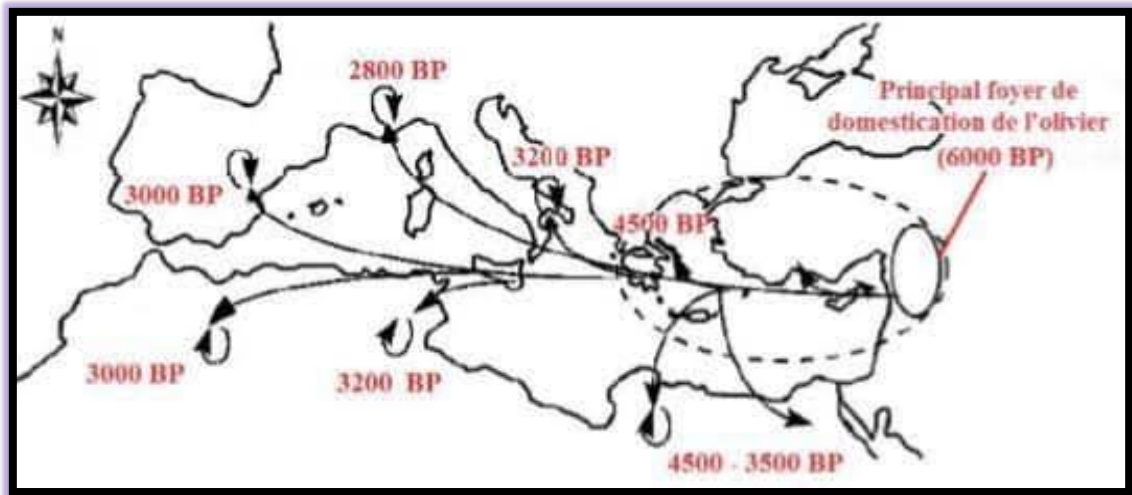


Figure 01 : Origine de l'olivier dans la région méditerranéenne (Dissémination de l'olivier cultivé de l'Est à l'Ouest de la Méditerranée d'après (Besnard, 2009) (BP: Befor Present).

I.2. Systématique de l'Olivier

L'olivier méditerranéen (*Olea europaea* sub sp. *europaea* var. *europaea*) fait partie de la famille des Oleaceae, qui contient environ 25 genres et au moins 600 espèces différentes réparties dans les zones tempérées et tropicales (Besnard et al., 2018). Selon (Young, 2004).

✓ La classification botanique de l'olivier est la suivante:

- Règne : *Plantae*.
- Sous règne : Tracheobionate.
- Division : Magnoliphytes.
- Embranchement : Spermaphytes.
- Sous embranchement : Angiospermes.
- Classe : Dicotylédones.
- Sous classe : Astéridées.
- Ordre : Lamiales.
- Famille : Oléacées.
- Genre : *Olea*.
- Espèce : *Olea europaea*.

L'espèce *Olea europaea* a longtemps été subdivisée en deux sous-espèces, *Ola europaea* var. *Europaea* pour l'olivier domestique, et *Olea europaea* var. *sylvestris* pour l'oléastre, ou olivier sauvage.

I.3. Description de l'Olivier

L'aspect général de l'olivier est celui d'un arbre toujours vert dont les dimensions et les formes sont extrêmement variables. L'olivier se distingue par sa longévité, il peut devenir plusieurs fois centenaires, voire même millénaire. Il est de 6 à 8 m de hauteur (pouvant atteindre 10 m), à tronc tortueux et à écorce grisâtre, crevassée, ses nombreux rameaux tortueux portent des feuilles persistantes. Ces dernières sont disposées de façon opposée, de forme oblongue et lancéolée, de 5 à 6 cm de long en moyenne. Elles sont de couleur vert foncé à leur face supérieure et présentent un aspect argenté, dû à la pruine, à leur face inférieure. Les fleurs, petites et blanches jaunâtres, à quatre pétales, sont réunies en grappes à l'aisselle des feuilles. Le fruit ou olive est une drupe ellipsoïde, verte puis noire à maturité, à noyau dur fusiforme. Les racines bandées et avec beaucoup de ramifications superficielles s'étendent de 2 à 3 fois la hauteur de la plante et poussent en profondeur dans les sols fertiles, jusqu'à 1,5-2 mètres (Amouretti et Brun, 1993).

I.3.1. Système racinaire

Le développement du système racinaire dépend des caractéristiques physico-chimiques du sol, des réserves d'eau et l'aération du sol et du type de reproduction. Dans les sols profonds très imperméables, aères et légers, le système racinaire est à tendance pivotant. Les racines peuvent atteindre 6 à 7 m en profondeur. En revanche, dans les sols lourds, peu ou non aères et peu profonds, le système racinaire est à tendance fascicule. Les racines se développent latéralement, elles sont très ramifiées et portent un nombre élève des radicelles (Saad, 2009).

I.3.2. Système aérien

➤ Tronc

Lisse et circulaire, de couleur grise verdâtre jusqu'à la deuxième année environ. Il devient noueux et crevassé, fendu et élargi à la base. Il prend une teinte grise foncé presque noire (Pagnol, 1975). Pour faciliter la récolte, les troncs ne doivent pas être hauts, l'idéal semble être une hauteur de 80 à 120 cm (Civantos, 1998).

➤ Les rameaux

Ce sont des rameaux d'une année ou de l'année précédente. Ils sont de couleur grise-verdâtre, leur croissance s'est poursuivie tout au long du printemps et de l'automne. Mesurant

quelques dizaines de cm, selon la vigueur de l'arbre et de la variété, ils portent des fleurs puis des fruits (Loussert et Brousse, 1978).

➤ **Les feuilles**

Les feuilles sont épaisses, lancéolées, simples, opposées et de couleur verte. La taille varie (de 3 à 5 cm de long sur 1 à 1.5 de large). Le feuillage est persistant et toujours vert. Les feuilles vivent au moyenne 3 ans (Figure 02), puis jaunissent et tombent principalement en été (Bartolozzi et Fontanazza, 1999).

Le limbe coriace présente une face supérieure gris-verte, lisse et brillante. La face inférieure est recouverte d'un duvet qui lui donne un aspect argenté et facilement détachable par grattage (Cresti et al., 1996).

➤ **Les fleurs**

Les fleurs sont regroupées en petites grappes dressées à l'aisselle des feuilles. La fleur est constituée de 4 sépales, 4 pétales, 2 étamines et 2 carpelles (Gharabi, 2018). La plupart des oliviers sont auto-fertiles, c'est-à-dire que leur propre pollen peut féconder leur s propre ovaire. La fécondation se fait principalement par l'action du vent et la période de fertilité ne dure qu'une petite semaine par année. S'il ne pleut pas trop durant cette période, 5% des fleurs produiront des fruits pour une bonne production. (Barbara et al., 2006) (Figure 02).



Figure 02 : Fleurs, fleurs et fruits d'olivier (Polese, 2007 ; Le Driant, 2012).

➤ **Les fruits**

La période de la mise à fruit s'étale d'octobre à novembre les fruits sont ovoïdes gros (1,5 à 2 cm), longtemps verts, puis noirs à complète maturité (Zitouni et al., 2019). Elle se compose de l'extérieur vers l'intérieur d'un épicarpe (peau), d'un mésocarpe (pulpe) dont les cellules se gorgent d'huile à partir du mois d'aout, et d'un endocarpe (noyau) refermant une graine (Villa, 2003). (Figure 02).

Selon (Fantanazza, 1988), la composition du fruit est la suivante :

- ❖ **Épicarpe** : représente 1,5 à 2 % du poids total du fruit.
- ❖ **Mésocarpe** : représente 65 à 83 % du poids total de fruit.
- ❖ **Endocarpe** : représente 13 à 30 % du poids total de fruit.
- ❖ **L'huile** : représente 15 à 30 % du poids total du fruit.
- ❖ **L'eau dans la pulpe**: représente 15 à 30 % du poids total du fruit.

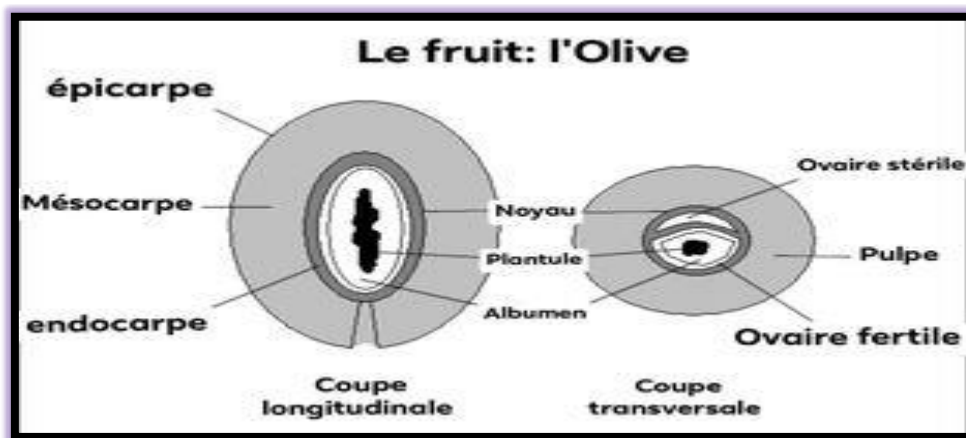


Figure 03 : Coupe longitudinale et transversale d'une olive (Fontanazza et Baldoni, 1990).

Les fruits de l'oléastre sont petits et peu charnus par rapport à ceux des variétés cultivées (Boucher et al., 2011).

I.4. Cycle végétatif de l'olivier

L'olivier se développe dans le climat méditerranéen. Le déroulement annuel de son cycle (Tableau 01), est en étroite relation avec son aire d'adaptation (Loussert et Brousse, 1978).

Tableau 01 : Etapes de cycle végétatif de l'olivier.

Phases végétative	Période / Durée	Manifestations
Repos végétatif	Novembre - février (4 mois)	Activité végétative, germination : arrêtée ou ralentie. Floraison et fructification ne se produisent pas à -2°C
Réveil végétatif	Février – mars (20 - 25 jours)	Apparition de nouvelles pousses terminales et éclosion des bourgeons axillaires.
L'inflorescence. Apparition de boutons floraux	Mars – avril (18_23 jours)	Différenciation des bourgeons, donnant soit de jeunes pousses, soit des fleurs (inflorescences) se développent et prennent une couleur verte-blanchâtre à maturité).

Floraison	Mai - 10 juin (7 jours)	Fleurs ouvertes et bien apparentes pollinisation et fécondation.
Fructification	Fin mai - juin	Chute des pétales, hécatombe précoce des fleurs et des fruits.
Développement du fruit	Juillet - aout (3 - 5 semaines)	Sclérisation de l'endocarpe. Fin de la formation des fruits.
Croissance des fruits	Aout - Septembre (1.5 - 2 mois)	Augmentation considérable de la taille des fruits et apparition des lenticelles.
Début de maturation	Mi - Septembre – décembre	Récolte des variétés à olive de table de couleur vert au rouge violacé.
Maturation complète	Fin octobre – février	Fruits avec coloration uniforme, violette à noire pour les variétés à l'huile.

I.5. Intérêt de l'olivier

Bien que l'huile d'olive soit souvent associée aux traitements des affections respiratoires, cardiovasculaires et cutanées, ses bienfaits sont sous estimés ou ignorés (Ghedira, 2008). Les feuilles ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays européens et méditerranéens en extraits, en tisanes et en poudres. Ils contiennent plusieurs composés potentiellement bioactifs (Saied et Hussein, 2017). La composition chimique de l'huile est très proche de la graisse du lait maternel, elle stimule la sécrétion des sucs digestifs, protège les muqueuses gastriques et intestinales, agit comme anti-cholestérols, prévient les maladies cardiaques, les tuberculoses et même la radioactivité (Ghanbari et al., 2012). Elle ralentit le vieillissement et soigne les colites et gastro-entérites. Elle est très utilisée dans l'alimentation des bébés. L'huile entre dans la préparation des médicaments d'oto-rhino-laryngologie, des affections respiratoires et des infections cutanées. L'olive de table stimule les sécrétions biliaires, aide au fonctionnement du foie et des reins. Les feuilles de l'olivier possèdent aussi de très grandes vertus médicinales (Ater et al., 2016). Selon (Pagnol, 1975) la culture de l'olivier offre les avantages suivants: La production des huiles d'olive pour lesquelles les spécialistes ont confirmé leurs vertus thérapeutiques et de leurs bienfaits sur la santé de l'homme. La production d'olive de table, olive de conservation comme produits alimentaires.

D'après (Pagnol, 1975) l'olivier donne selon l'utilisation de ses parties des sous-produits au nombre de trois : Les produits de la taille : rameaux ou feuilles de la récolte utilisés dans l'alimentation du bétail, ainsi que pour la restitution de matière verte aux sols. Les grignons d'olives qui sont utilisés dans l'alimentation du bétail, comme amendement organique en agriculture et pour la fabrication du savon ; la margine « eau de végétation » utilisée comme

eau de boisson (à la place de l'eau potable pour les poules); Ces nombreuses utilisations permettent d'améliorer toujours la valorisation de ces sous- produits.

I.6. Importance de l'olivier

a. Au monde :

Selon les dernières études (Faostat, 2022) les tops 10 des pays producteurs d'olives dans le monde pour l'année 2019 (Figure 04) sont : Espagne, Italie Maroc Turquie, Grèce, Egypte, Portugal, Tunisie, Algérie, république arabe syrienne.

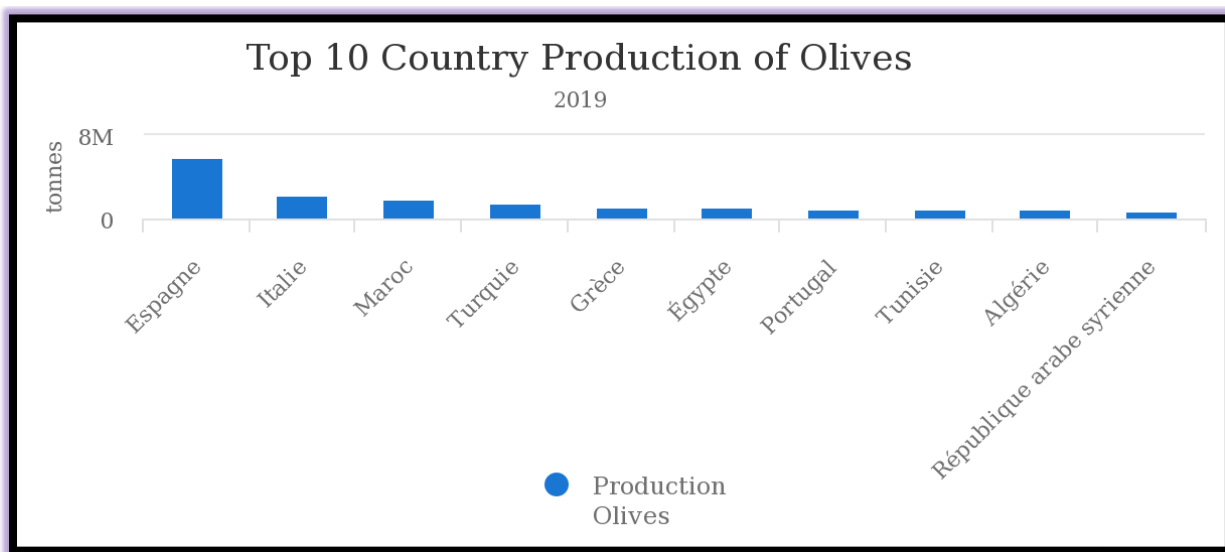


Figure 04 : Top 10 des pays producteurs d'olives dans le monde.

b. En Algérie :

L'olivier représente la plus importante culture arbustive de l'Algérie, couvrant environ 431 634 ha durant l'année 2019 (Faostat, 2022). Les zones traditionnelles de culture de l'olivier sont la grande Kabylie (Tizi-Ouzou, Bouira), la petite Kabylie (Bejaia, Bordj Bou Arredj, Jijel), Relizane (Jediouia, en irrigué) et Mascara (Sig en irrigué). Mais la culture s'est étendue vers d'autres régions du pays (Djelfa, Laghouat, El-Oued, M'Sila, Biskra). La culture de l'olivier n'a pas cessé de s'intensifier, d'une année à l'autre, à travers toute l'Algérie même au sud du pays, cette extension a permis de doubler la production en olives ainsi selon Faostat, la production d'olive a atteint jusqu'à 1079508 tones en 2020 (Figure 05), alors que celle de l'huile d'olive vierge est de 96 632 tonnes (Faostat, 2022).

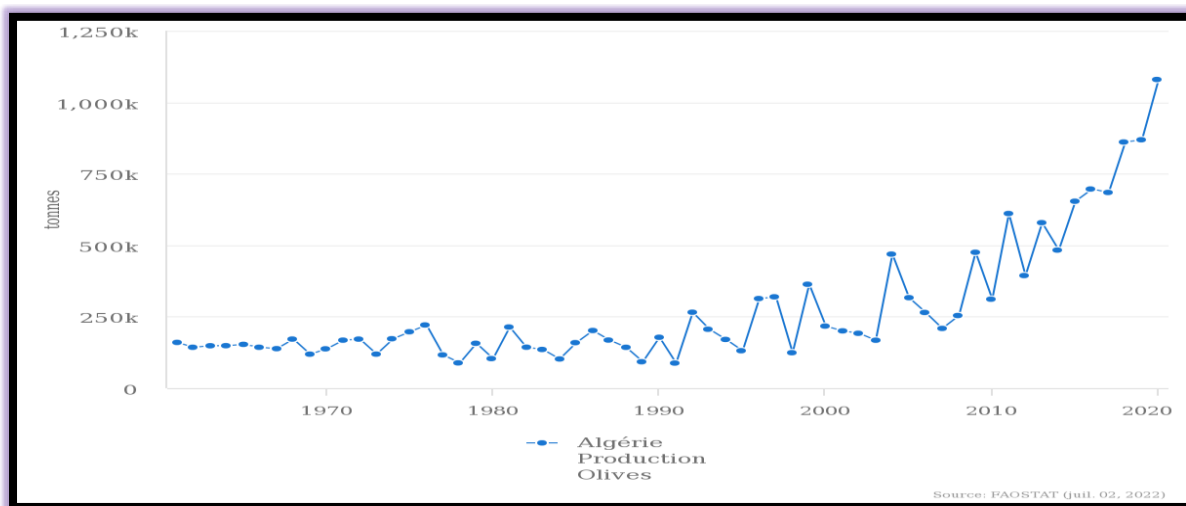


Figure 05 : Evolution de la production d’olive en Algérie durant la période 1961-2020.

I.7. Principales variétés algérienne de l’olivier

Le Tableau 02 regroupe les principales caractéristiques des variétés cultivées en Algérie.

Tableau 02: Principales caractéristiques des variétés les plus cultivées en Algérie

(Abdessamed et al., 2017).

Nom	Région	Rendement huile	Qualité de l’huile	Poids du fruit	Observation
Azeradj	Bejaia Brouira	20 - 28 %	Moyenne	Elevé	Faiblement résistante à la sécheresse. Variété auto fertile.
Sigoise	Oranie Tlemcen	18 %	Moyenne	Elevé	Faiblement résistante à Tlemcen la sécheresse. Variété auto fertile.
Aguenou	Sétif	18 - 22 %	Moyenne	Elevé	Faiblement résistante à la sécheresse. Variété auto fertile.
Rougette et Blanquette	Guelma	15%	Bonne	Moyenne	Moyennement résistante Blanquette à la Variété auto fertile.
Limli	Sidi-aich	18 - 24 %	15%	Moyenne	Faiblement résistante à la sécheresse. Variété auto fertile.
Chemlal	Kabylie	18 - 24 %	Très bonne	Bas	Moyennement résistante à la sécheresse. Variété auto stérile.
Abani	Khenchela	18 - 24 %	Moyenne	Bas	Fortement résistante à la sécheresse. Variété auto fertile.
Teffah	Seddouk	18 - 22 %	Moyenne	Très élevé	Moyennement résistante à la sécheresse. Variété auto fertile.

1.8. Les principales maladies de l'olivier

1.8.1. Maladies d'origine abiotique

Il existe plusieurs maladies d'origine abiotique chez l'olivier dont les principales sont récapitulées dans le Tableau 03.

Tableau 03 : Les maladies d'origine abiotiques de l'olivier (Loussert et Brousse, 1978).

Type d'incidents	Facteurs favorisants	Manifestation des symptômes
Accidents climatiques	le gel brulures par insolation	Chute des feuilles, nécrose des jeunes écorces, infection parasitaire. Dégâts sur jeunes plantations, sur les tissus du tronc et sur charpentières.
Accidents météorologiques	neiges abondantes la grêle les vents violents	Cassure des frondaisons Sur récolte des fruits, cassures et blessures des jeunes écorces, dissémination de la tuberculose. Cassure des charpentières, réduction de la récolte.
Asphyxie racinaire	Terrains trop humides et top argileux	Jaunissement (chlorose), défoliation, arrêt de la croissance végétative, chute précoce des fruites.
Chloroses alimentaires	Carences en éléments indispensables (azote, calcaire et ions Cl et Na ⁺)	Troubles physiologiques graves du végétal.

1.8.2. Les maladies biotiques

L'oléiculture est confrontée à plusieurs problèmes en particulier les attaques causées par des micro-organismes (bactéries, champignons et virus) ainsi que certains ravageurs (insectes). (Tableaux 04a, 04b, 04c).

Tableau 04a : Les principales maladies fongiques et bactériennes de l'olivier. (Guechi et Girre, 2002) (Bellahcene et al., 2000). (Bellahcene et al., 2005a, 2005b). (Civantos, 1999) (Assawah et Ayat, 1985)

Désignation de la maladie	Facteurs favorisants	Dégâts et conséquences	Méthodes de lutte
Œil de paon (<i>Cycloconium oleaginum</i> Cast)	Températures entre 10 et 25° C associée à des pluies Présence de variétés sensibles.	Tâches foliaires circulaires s'accroissant depuis le point de pénétration du champignon. Chute massive des feuilles. Affaiblissement des arbres. Perte de récolte.	Tailler l'olivier régulièrement. Maintenir une protection fongicide avant et au printemps.

Verticilliose (<i>Verticillium dahliae</i> Kleb)	Jeunes vergers de moins de 10 ans avec un précédent cultural. Présence de certains adventices.	Dessèchement rougeâtre des rameaux. Sortie importante de rejets. Perte d'une charpentièrre ou de l'arbre.	Ne pas planter sur un terrain à risque. Ne pas travailler le sol et préférer un enherbement de graminées. Limiter la fertilisation et l'irrigation.
Brunissement	Automne doux et humide. Variétés sensibles. Arbres vigoureux et très poussant, faiblement chargés en fruits. Forte fumure azotée.	Pourrissement des olives et chute prématurée. Perte de récolte et mauvaise qualité d'huile.	Modérer la taille ou taille bisannuelle. Fractionner les apports de phosphore au printemps, apporter le potassium à l'automne. Limiter la fertilisation en azote.
Bactériose (<i>Pseudomonas savastanoi</i> Smith)	Humidité et température supérieure à 18°C. Variétés sensibles. Blessures diverses.	Tumeurs, nodules sur le bois. Eclatement de l'écorce. Baisse de la vigueur et de production.	Désinfection du matériel de taille. Tailler les arbres atteints en dernier. Ne pas gratter le nodule. pulvérisations cupriques après la taille ou un passage de grêle.

Tableau 04b : Les principaux ravageurs de l'olivier. (Loussert et Brousse, 1978 ; Gaouar-Benyelles,1996).

Désignation de la maladie	Biologie	Dégâts et conséquences	Méthodes de lutte
Mouche de l'olive (<i>Dacus oleae</i> Gmel)	Environ 1 génération par mois, de juillet à octobre, la femelle pond dans l'olive et l'asticot creuse une galerie dans la pulpe, déclenchement du traitement par piégeage, traitement préventif ou curatif selon le pourcentage d'olives piquées observées.	Olives véreuses perte de récolte et baisse de qualité	Seuil d'intervention : 2 mouches capturée/piège/jour, appliquer à chaque vol un traitement localisé avec un attractif plus un insecticide autorisé, alterner les produits
Cochenille noire (<i>Saissetia oleae</i> Bern)	1 génération par an, se nourrit de la sève de l'arbre et produit un miellat poisseux, les jeunes larves sont mobiles et de couleur orangée.	Développement de fumagine, affaiblissement de l'olivier.	Seuil d'intervention : 1 cochenille vivante par rameau, appliquer un insecticide autorisé sur jeunes larves (juillet-août), lâchers de métaphycus au printemps ou à l'automne, les coccinelles et les hyménoptères naturels sont très efficaces pour diminuer la population.

Teigne de l'olivier (<i>Prays oleae</i> Bern.)	3 générations par an : printanière la chenille se nourrit des boutons floraux, estivale ou carpophage : la chenille pénètre dans le fruit et se nourrit de l'amandon du noyau, hivernale ou phyllophage. la chenille se développe dans les feuilles.	Chute des boutons floraux et des olives, perte de récolte	Seuil d'intervention : 10/ de feuille minées en début de printemps, traitement avec <i>Bacillus thuringiensis</i> au stade gonflement des boutons floraux
--	--	---	---

Tableau 04c: Les ravageurs occasionnels de l'olivier. (Civantos, 1999 ; Loussert et Brousse, 1978).

Désignation de la maladie	Biologie	Dégâts et conséquences	Méthodes de lutte
Neiroun ou Scolyte (<i>Phloeotribus scaraboeides</i> Bern.)	Oliviers en état de stress (gel, transplantation, verticilliose ...), 2 à 3 générations par an, observé au printemps	Tronc présentant des amas de sciure blanche, mort rapide de l'olivier	Couper et brûler les branches atteintes
Pyrale du jasmin (<i>Euzophera pinguis</i> H.W.)	La chenille se nourrit des bourgeons terminaux et assemble les feuilles atteintes par des fils de soies	Attaque des bourgeons terminaux, difficulté de reprise sur jeunes vergers	Seuil d'intervention: 10% de bourgeons atteints, appliquer un insecticide autorisé au printemps.
Hylésine de l'olivier (<i>Hylesinus oleiperda</i> F.)	1 à 2 générations par an, l'adulte est présent en mai, la larve se développe dans le rameau créant une dépression de couleur brune dans le bois	Dessèchement des rameaux, affaiblissement de l'arbre et perte de récolte	Couper et brûler les branches atteintes
Psylle de l'olivier (<i>Euphyllura olivina</i> Costa.)	Présence permanente sur les inflorescences, les larves sécrètent un miellat cotonneux blanc	Développement de fumagine	La présence d'insectes auxiliaires naturels suffit à maîtriser les populations
Otiorrhynque (<i>Otiorrhynchus cribricollis</i> Gyll.)	Présence permanente, coléoptère se nourrissant des feuilles durant la nuit	Attaque des feuilles et des bourgeons terminaux, difficulté de reprise sur jeunes vergers	Appliquer une bande de glue sur le tronc

CHAPITRE II

**Données bibliographique sur la
tuberculose de l'olivier**



Chapitre II. Données bibliographique sur la tuberculose de l'olivier**II.1. Définition**

C'est une maladie bactérienne omniprésente dans le bassin méditerranéen, en Italie elle est appelée «Rogne» de l'olivier, en Espagne « Verru» ou «Tuberculos» de l'olivier, en France et en Afrique du Nord on lui donne le nom de «Tuberculose» ou chancre de l'olivier (Boulssen et Bouraoui, 2016). Il est considéré comme l'un des plus graves maladies affectant les oliviers (*Olea europaea* L) dans la plupart des régions de culture d'olive. Celle ci est probablement la première maladie clairement décrite dans l'antiquité par Théophrastus (Iacobellis, 2001).

L'agent causal *Pseudomonas savastanoi* a été rapportée pour la première fois par Savastanoi en 1870 puis au début du 20ème siècle par Smith et Rorer 1904 (Guido et al., 2005). Il est considéré comme le seul pathogène responsable de la formation des nœuds (tumeurs) bactériennes des oliviers (*Olea europa* L) (Smith, 1908 ; Janse, 1982 ; Bradbury, 1986 ; Young et al., 1996).

L'attaque commence timidement sur brindilles des rameaux et n'épargne pas les charpentes et le tronc, à l' occasion de blessures provoquées sur le végétal par le grêle, le gelet des plaies banales de la taille. Elle se manifeste par des tumeurs parenchymateuses à forme irrégulière, de couleur verte au début et à surface lisse. Le diamètre de ces tumeurs augmente au fur et à mesure de l'évolution de l'attaque et les fissures deviennent irrégulières. Ensuite, on assiste au brunissement de la surface de ces tumeurs. La réceptivité et la sensibilité des oliviers sont différentielles selon les variétés, ainsi on peut citer comme variétés résistantes : Canino, Grignan, Kalamon et comme variétés sensibles : Chemllal, Frantoio ; meslala. (Graichi, 2020).

La maladie peut conduire à de graves dommages dans les oliveraies, affecte également la taille et la qualité des fruits et donnant naissance à des odeurs indésirable, causant de graves perte dans le terme de production (Hall et al., 2004 ; Quesada et al., 2008).

II.2. Classification de *Pseudomonas savastanoi*

Selon (Janse, 1982) :

Règne :	Bacteria.
Division :	Proteobacteria.
Classe :	Gammaproteobacteria.
Ordre :	Pseudomonadales.
Famille :	Pseudomonadaceae.
Genre :	<i>Pseudomonas</i> .
Espèce :	<i>Pseudomonas savastanoi</i> .

Dont 5 pathovars (Young, 1996) :

- *Pseudomonas savastanoi pathovar savastanoi* qui cause la galle, ou bien la tumeur dans la famille des oléacées.
- *P.savastanoi pathovar glycinea* cause de la rouille bactérienne du soja.
- *P.savastanoi pathovar phasealicola* cause la rouille de halo de l'haricot.
- *P savastanoi pathovar fraxini*.
- *P.savastanoi pathovar nerri*.

II.3. Plantes hôtes

La bactérie s'attaque à toutes les variétés de l'olivier et s'attaque également à d'autres plantes comme le laurier rose, le frêne, le troène, le jasmin, le forsythia, *Retama amarilla* et les espèces du genre *phillyrea sp* (Daniel, 2015).

II.4. Les symptômes

Les symptômes de la maladie apparaissent sous forme de tumeurs (excroissances) sur les différentes parties de la plante. Elles se forment principalement sur les branches de la plante et apparaissent rarement sur les feuilles ou les racines. La taille des tumeurs est généralement variable, ces dernières sont formées de l'extérieur de l'écorce de forme irrégulière et de l'intérieur de cavités qui se remplissent de bactéries. Les galles sont le plus souvent formées au niveau des sites de développement des bourgeons, en raison de l'infection des cicatrices foliaires par la bactérie; cependant, ils peuvent également être formés à d'autres points d'entrée des agents pathogènes, tels que les plaies de taille ou de blessures causés par le gel ou la grêle (Inra, 2016).

Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi entraîne la formation d'une croissance hyperplasique des tissus de l'hôte, l'hyperplasie qui se manifeste par l'apparition de tumeurs d'abord sur le tronc (Figure 06), puis sur les rameaux (Figure 07) et parfois sur les feuilles (Figure 08) et les fruits (Corrado et al., 2016).



Figure 06 : Des tumeurs formées sur le tronc (Originale, 2022).



Figure 07 : Des tumeurs formées sur les rameaux (Originale, 2022).



Figure 08 : Des tumeurs formées sur les feuilles (Serdoun, 2013).

Les tumeurs de la tuberculose de l'olivier peuvent être séparées les unes des autres ou attachées pour former une grande zone enflée sur la branche infectée. Leur développement provoque la lignification des cellules qui bloque le transfert des quantités suffisantes d'eau, ce qui explique la chute des feuilles et des branches lorsque l'attaque est sévère (Figure 09).



Figure 09 : La chute des feuilles et des branches (Originale, 2022).

Les bactéries peuvent se propager sur de longues distances en raison de l'introduction et la plantation de matériel infecté, ou sur de courtes distances transportées par les éclaboussures de pluie, aérosols chablis, insectes et pratiques culturelles (Polese, 2015).

Lorsque les bactéries infectent un olivier à l'automne, les tumeurs vont commencer à se développer plusieurs mois plus tard, mais si l'infection se produit au cours du printemps, le temps nécessaire pour la formation des tumeurs peut être seulement deux semaines (Marchi et al., 2009). Il a été noté que les fruits des arbres infectés ont généralement une odeur indésirable ; de petites taches et de la pourriture apparaissent sur les fruits lorsque les températures et l'humidité sont élevées; l'arbre finit par s'affaiblir et sa production diminue.

II.5. Pouvoir pathogène de l'agent causal

Dans les plaies fraîches d'oliviers, l'agent pathogène colonise initialement les tissus autour de l'infection et à travers des enzymes pectolytiques et hémicellulolytiques, la bactérie perturbe l'intégrité des cellules hôtes, produisant des cavités dans lesquelles le pathogène peut se regrouper; par conséquent, il peut envahir directement les vaisseaux du xylème (Marchi et al., 2009; Rodríguez-Moreno et al., 2009; Maldonado-González et al., 2013).

Les phytohormones de virulence (facteurs de virulence) sont un aspect de la virulence qui activent la tumorigénèse, principalement l'acide indole-3-acétique (AIA), les cytokinines qui sont codés par le plasmide pIAA1 et les gènes *hrp* de *Pseudomonas savastanoi* et d'autres bactéries coexistant en nœuds, provoquent une augmentation de la taille de la cellule végétale (hypertrophie) suivie d'une division cellulaire anormale (Marchi et al., 2009; Rodríguez-Moreno et al., 2009; Quesada et al., 2012 ; Buonauro et al., 2015).

Actuellement, les seuls déterminants connus de *Pseudomonas savastanoi* impliqués dans le développement des galls sont l'acide phytohormone indolacétique et les cytokinines (Comai et Kosuge, 1980 ; 1985 ; Buonauro et al., 2015) ainsi que la biosynthèse d'un système de sécrétion de type III (effecteur type III) fonctionnel (TTSS), codé par les grappes de gènes *hrp* / *hrc*. La production de cytokinines et d'AIA contribue à la formation de nœuds en interférant avec les signaux endogènes pour une prolifération rapide sur le site d'infection (Surico et al., 1985).

Diverses études génétiques confirment l'importance de l'AIA et des cytokinines pour une parfaite virulence bactérienne car il a été prouvé que les mutants dépourvus de ces deux derniers sont largement moins symptomatiques et provoquent seulement des nécroses sur feuilles et gonflements sur tiges.

II.6. Cycle de la maladie

Pseudomonas savastanoi peut être présente tout au long d'un verger : les rameaux, les feuilles, la tige etc. mais il ne peut inciter à la maladie qu'après l'entrée passive de l'hôte par des blessures ou des cicatrices foliaires. Le cycle de vie de la bactérie *Pseudomonas savastanoi* se compose de deux phases : l'une épiphyte et l'autre endophyte

- **La phase épiphyte**

Le terme "épiphyte" est dérivé du grec épi (sur) et phyte (plante), ce qui signifie : sur la plante car l'agent pathogène survit mieux sur des surfaces d'écorce rugueuse que sur les autres parties de la plante. De plus, les populations de cette bactérie pathogène sont plus élevées et concentrées sur les rameaux que sur les feuilles. La source potentielle de l'infection des plantes saines sont les bactéries épiphytiques (Quesada et al., 2010).

- **La phase endophyte**

Le terme "endophyte" est dérivé du grec endo (dans) et phyte (plante), ce qui signifie : dans la plante. Les bactéries endophytes sont définies comme des bactéries vivant dans les tissus végétaux sans faire un préjudice matériel (Kado, 1992). Cette bactérie joue le rôle d'un endophyte en se déplaçant à travers les espaces intercellulaires et même dans les vaisseaux du bois de la première zone infectée (Wilson et al., 1979). Les plaies de taille peuvent rester sensibles à l'infection pendant au moins 14 jours et les cicatrices foliaires eux peuvent rester sensibles à l'infection jusqu'à 7 jours. La transmission de la maladie est liée à la pluie : un événement qui stimule la croissance de l'agent pathogène et facilite sa circulation. Après la chute des feuilles en mai et juin laissant des cicatrices foliaires sensibles aux agents pathogènes, les pluies de printemps tombent et favorisant la transmission de la maladie. Les cicatrices sont plus sensibles à l'infection dans les deux premiers jours et peuvent rester sensibles pendant sept jours après une pluie. Une fois la plante est infectée par la bactérie, cette dernière produit des hormones de croissance des végétaux, l'auxine et cytokinines qui stimulent la prolifération des tissus résultants en une galle (Smidt et Kosuge, 2000).

II.7. Conservation de la bactérie

Le *P. Savastanoi* ne survit pas longtemps dans le sol, se trouvant généralement dans la phyllosphère de l'olivier comme épiphyte (Quesada et al., 2010) et / ou endophyte (Marchi et al 2009). Ce pathogène peut coloniser la surface des feuilles d'oliviers sains tout au long de l'année.

II.8. Impact et dégâts

Les dégâts se traduisent sous divers aspects :

- Perte de feuilles des brindilles du fait de l'étranglement mettant hors circuit l'alimentation des feuilles en aval.
- Dessèchement de bois par suite d'une photosynthèse défailante.
- Réduction même de la taille des arbres
- Réduction du rendement d'olive et sur la qualité de son huile grâce à des caractéristiques organoleptiques inférieures, telles que une odeur désagréable et un goût amer rance (Senhaji, 1999 ; Lavermicocca et al., 2002).
- Il est montré une réduction même de la taille des arbres suivi d'une végétation désordonnée.

II.9. La répartition géographique de la tuberculose d'olivier

La tuberculose d'olivier est une maladie répandue dans les pays où on cultive l'olivier (tout le pourtour méditerranéen, ainsi qu'en Californie). La variété de : Chemlel est celle qui est la plus altérée par La tuberculose de l'olivier causée par *Pseudomonas savastanoi*.

- Les pays concernés (Boulssen et Bouraoui, 2016) :

Elle est répandue actuellement dans tous les pays où l'on cultive l'olivier.

- Europe : France ; Allemagne, Grèce, Italie, Portugal, Espagne, Norvège, Suède, Yougoslavie.
- Asie: Iran, Iraq, Palestine, Liban, Turquie.
- Afrique : Algérie, Libye, Maroc, sud d'Afrique, Tanzanie, Tunisie.
- Nord Amérique : Mexique, USA (Arizona, Californie, Texas, Arkansas).
- Sud Amérique : Argentine, Brésil, Colombie, Pérou, Uruguay.
- Australasie : Australie, Nouvelle Zélande (Bradbury, 1986).

II.10. Gestion de la maladie

Suivant le décret exécutif 93-284 du 23 /11/1993, la tuberculose de l'olivier est considérée comme une quarantaine en Algérie (Jora, 1993). Et malheureusement il n'ya à ce jour là aucun remède connu et efficace contre cette maladie.

- **Les méthodes de lutte préventives**

Il faut donc suivre quelques recommandations pour limiter et minimiser la propagation de cette bactérie phytopathogène dans les vergers oléicoles (Serdoun, 2013) :

- Désinfecter soigneusement tous les outils de la taille.

- Toutes les parties atteintes seront arrachées, sectionnées et incinérées par le feu.
 - Eviter les excès de l'irrigation de l'arbre.
 - Utiliser des bactéricides à base de cuivre au moins deux fois afin de protéger les blessures (encas d'avoir de présence de blessures).
 - Appliquer des produits cupriques au printemps et à la fin de l'automne tel que la bouillie bordelaise à 1% afin de désinfecter et cicatriser les plaies de taille.
 - Des travaux ont montré que les pulvérisations supplémentaires au printemps ainsi que l'application après la récolte habituelle permettront d'améliorer sensiblement le contrôle des maladies (Botelho et Leda, 2006).
- **Les méthodes de lutte curatives et de contrôle**
 - Ces méthodes consiste à enlever les excroissances par la taille des branches mortes, qui contiennent des tumeurs, cette opération doit être effectuée lorsque le taux d'humidité est bas de manière à réduire les risques d'infection par les bactéries ; Puis couvrir les blessures résultant de taille en utilisant le mastic et désinfecter les outils de la taille et les mains a l'hypochlorite de sodium (eau de javel) avant et après chaque intervention (Daniel, 2015).

CHAPITRE III

Matériel et méthodes



Chapitre III : Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale est réalisée au sein du laboratoire pédagogique du département sciences agronomiques faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira, durant la période allant du mois de Mars au mois de Avril de l'année 2022.

III.1 Matériel utilisé

III.1.1 Matériel microbien

On a utilisé dans cette étude 07 souches bactériennes isolées à partir des tumeurs (nœuds) de l'olivier dans des études précédentes (Hassouna et al., 2022 ; Khetari, 2021) il s'agit de :

- Deux souches de *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* (Ps1 et Ps 13).
- Cinq souches bactériennes endophytes utilisées dans les essais d'antagonisme d'olivier (B1, B14, B21, B27, B31).

III.1.2 Matériel végétal

Pour réaliser les différentes tests cités ultérieurement, on a utilisé des plants de tabac, des plants d'oliviers (variétés : Chemlal, Azradj, Sigoise, Arbequina), des plants de laurier rose (*Nerium oleander*), des plants de jasmin blanc (*Jasminum officinale*) et des plants de jasmin d'hiver (*Jasminum nudiflorum*).

III.2. Méthodologie

III.2.1. Préparation des milieux de culture

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés dans cette étude.

▪ Le milieu King B

C'est un milieu semi sélectif utilisé pour la recherche de la production de la pyoverdine qui est un pigment fluorescent élaboré par un groupe d'espèces du genre *Pseudomonas*. La production de ce pigment rends le milieu jaune fluorescent (fluorescence sous rayon UV) (Schaad et al, 2001). Ce milieu est utilisé pour le repiquage, la conservation et pour certains tests des souches de *Pseudomonas savastanoi* et les bactéries utilisées comme antagonistes.

Dans une balance de précision on pèse une quantité de 43 g de Milieu King B déshydraté marque TD MEDIA (20 g protéose peptone, 20g agar, 1.5 g K₂HPO₄, 1.5 g MgSO₄). Et on l'a met dans un bêcher puis on ajoute un volume de 1 litre d'eau distillée au quelle on a additionné 15 ml de glycérol. Le tous est mis sur un agitateur magnétique avec chauffage.

Après homogénéisation du milieu. Celui ci est mis dans des flacons fermant à vis pour être autoclave à 120°C pendant 15 min.

Ce milieu a été préparé également à partir de ces composants de base (voir composition en annexe) pour le test de florescence, et pour avoir le milieu liquide (King B liquide sans agar).



Figures 10 : Flacons contenant de milieu King B.

Après autoclavage le milieu est laissé refroidir à une température de 60 ° C, puis versé dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre aseptiquement à raison de vingt millilitres par boîte.

▪ Autres milieux utilisés

En plus de milieu King B, trois autres milieux ont été utilisé (voir composition en annexe) et qui sont :

- Le milieu YPGA utilisé pour les tests d'antagoniste *in vitro*.
- Le milieu Levane utilisé pour le test sucrase Levane.
- Le milieu SM pour le test d'activité protéasique.

III.2.2. Caractérisation des souches sur milieu Levane et King B

La caractérisations des colonies de sept bactéries étudiées a été réalisée sur deux milieu King B et le milieu Levane. A partir d'une culture bactérienne réalisée sur milieu King B liquide âgée de 48h, des dilutions dans l'eau distillée ont été préparées $D1=10^{-1}$, $D2=10^{-2}$, $D3=10^{-3}$, $D4=10^{-4}$, $D5=10^{-5}$, $D6=10^{-6}$. A l'aide d'une micropipette, on prélève un volume de 100µl de la dilution D5 et D6 et on l'a met sur les boites de pétri contenant le milieu King B et le milieu Levane, et on l'étale en utilisant une pipette pasteur formée en râteau en assurant

d'une distribution homogène sur toute la surface de milieu. Les boîtes sont incubées à 26°C pendant 3 jours. Après cette période, on effectue les notations et qui concernent : le diamètre des colonies formées, leurs formes et leurs couleurs.

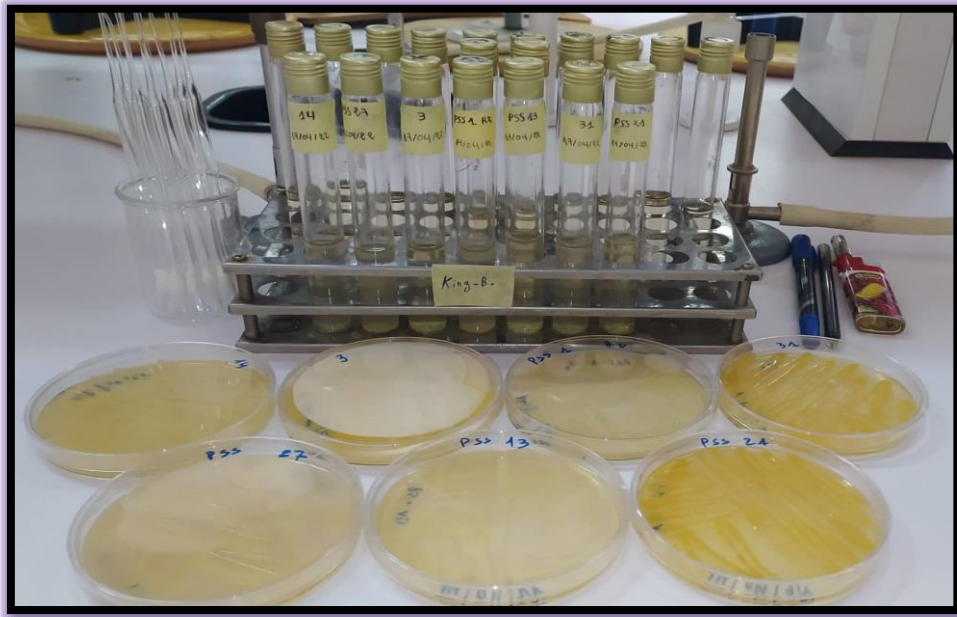


Figure 11 : Matériels utilisés pour la caractérisation des colonies bactériennes.

III.2.3. Tests biochimiques

Ces tests sont très importants et utiles dans l'identification des bactéries phytopathogènes, par la connaissance de certaines caractéristiques. Les souches bactériennes ont fait l'objet d'une série de tests LOPAT : production de Levane, présence de d'Oxydase, présence de Pectinase présence d'Arginine di hydrolase et hypersensibilité sur Tabac (Gonzalez et al, 2003).

✓ Tests de LOPAT

➤ Test de Production de Levane

Le but de ce test est de vérifier si la bactérie possède l'enzyme Levane sucrase capable de polymériser le fructose en un composé poly fructose appelé Levane. Ce test est réalisé sur un milieu de culture Levane. A l'aide d'une pipette pasteur on prélève une colonie bactérienne et on l'inocule sur des boîtes de pétri contenant le milieu Levane par des stries. Les boîtes sont incubées à 26°C pendant 48 heures. La bactérie est dite Levane positif (possède l'enzyme Levane sucrase), si elle forme des colonies luisantes bombées (forme en dôme) (Marchi et *al.*, 2005).

➤ **Le test oxydase**

C'est un test rapide qui a pour but de déterminer si la bactérie produit un enzyme oxydase intracellulaire en présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C.

Sur un papier filtre stérile, on dépose une goutte de la réactif oxydase (préparé avec 0.25g de NNN tetraméthyle paraphénylène diamine et 25 ml d'eau distillée stérile), puis à l'aide d'une pipette pasteur stérile, on prélève une quantité de la crème bactérienne et on la pose sur le papier imbibé du réactif, on l'étale un peu, et on lit la réaction après 30 secondes. S'il ya apparition d'une tache violette, la bactérie est oxydase positive et elle possède le cytochrome oxydase et l'absence de la coloration violette est due à l'absence de l'enzyme recherchée, cela indique que la bactérie est dépourvue de cette enzyme.

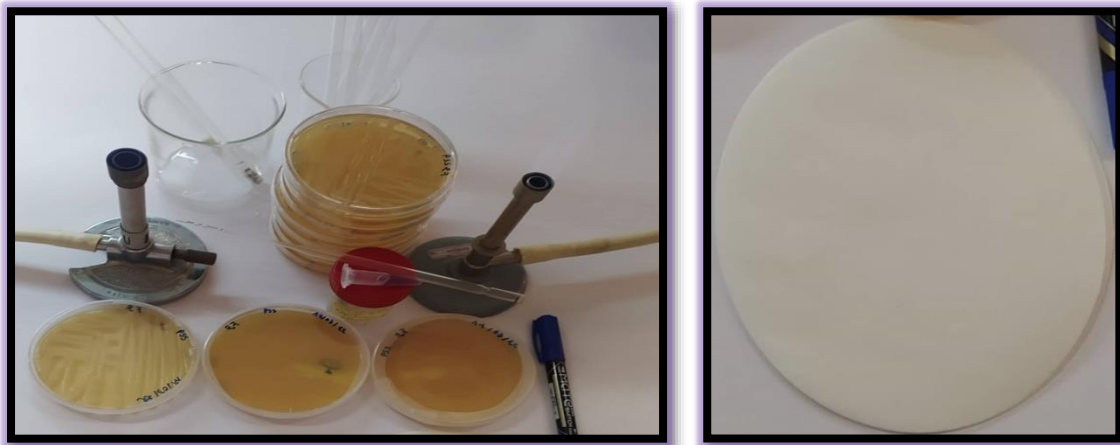


Figure 12 : Matériel utilisé dans test oxydase.

➤ **Le test pectinase :**

Ce test a pour but de déterminer la présence ou l'absence de l'enzyme pectinase, c'est-à-dire la capacité à dégrader la pectine présente dans un milieu de culture spécifique ou des tranches de pomme terre, on a utilisé des tranches de la pomme de terre comme un substrat qui est riche en pectine.

Les rondelles de pomme de terre sont stérilisées avec de l'éthanol à 70°, puis elles sont lavées par de l'eau distillée stérile, et enfin séchées. Puis les tranches de pommes de terre sont mises dans des boîtes de Pétri contenant un papier absorbant humidifié. L'inoculation est faite par une suspension bactérienne prise par une pipette stérile et déposée au milieu des rondelles de la pomme de terre. L'incubation se fait à 26°C pendant 7 jours. Une réaction positive (l'hydrolyse de pectine) se traduit par la formation de nécrose humide.



(A)

(B)

Figure 13: (A) Matériel utilisé dans test pectinase. (B) Colonies bactériennes déposées sur des tranches de PDT.

➤ Test d'hyper sensibilité sur feuille de tabac

Le test d'hyper sensibilité sur feuille de tabac sert à mettre en évidence le pouvoir phytopathogènes des bactéries (Schaad et al., 2001). Et ce par dessèchement des zones d'inoculation sur les feuilles de tabac à l'aide d'une seringue hypodermique de 1 ml on injecte une suspension bactérienne dans l'espace intercellulaire le long de la nervure centrale ou de la nervure secondaire de feuilles de tabac, L'inoculation de la suspension bactérienne se fait sur la surface inférieure de la feuille. On laisse le plant à la température de la pièce de 24 à 48 heures et on lit la réaction obtenue. La réaction est considérée négative lorsque aucun changement dans la couleur et l'aspect du tissu. La réaction est considérée positive si la zone foliaire inoculée devient légèrement translucide avec un aspect humide. Puis devient sèche avec une coloration brun clair à beige.

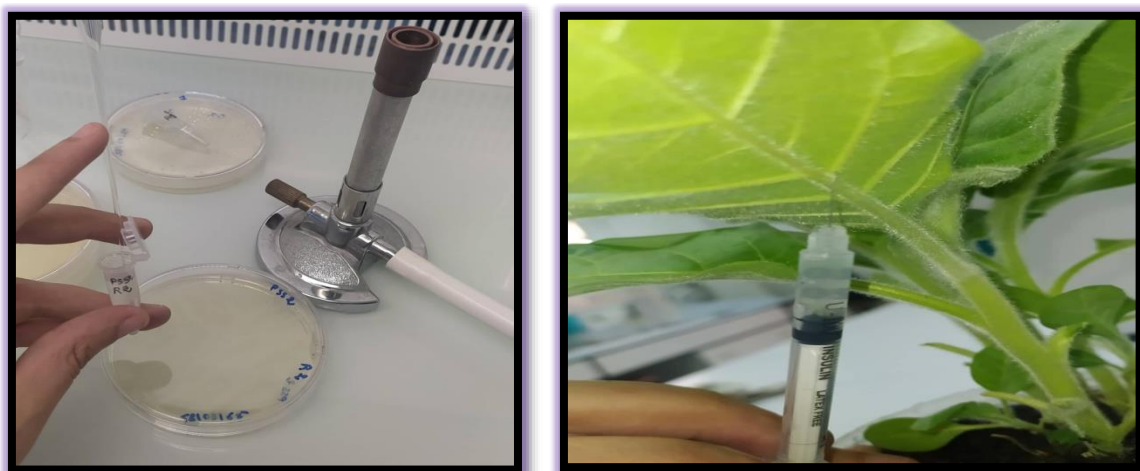


Figure 14: Injection des suspensions bactériennes dans les feuilles du Tabac.

✓ **Autres tests biochimiques réalisés**

➤ **Teste de Gram (KOH)**

Le test KOH est un test simple et rapide et qui a pour but de déterminer si la bactérie est gram positif ou négatif sans avoir besoin d'utiliser le microscope. On dépose une goutte d'une solution KOH à 3% à l'aide d'une pipette pasteur sur une lame. Puis à l'aide d'une pipette pasteur stérile on prélève une colonie bactérienne et on la mélange bien avec la goutte de la solution KOH. La bactérie est considérée Gram négatif s'il ya formation du filament (filet visqueux) en soulevant la pipette, dans le cas contraire la bactérie est considérée Gram positif (Suslow et *al*, 1982).

➤ **Le test Catalase**

L'enzyme catalase sert à la détoxification de l'eau oxygénée produite au cours de certaines réactions métaboliques. Elle 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 (ou l'eau oxygénée H_2O_2) en eau et en oxygène (Dickey, 1988). Ce test est important pour la première orientation dans l'identification de l'espèce bactérienne. Il permet de mettre en évidence la présence ou l'absence de l'enzyme catalase.

Sur une lame propre et sèche on dépose une goutte d'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène à 3%); Puis, à l'aide d'une pipette pasteur stérile, on prélève la crème bactérienne âgée de 24 heures et on la dépose dans la solution de peroxyde d'hydrogène et on mélange le tous très bien ; La lecture du résultat se fait immédiatement. L'apparition des bulles d'air signifie que le test est positif et que la bactérie produit l'enzyme de catalase (Singleton, 2005).

➤ **Test de fluorescence**

Le milieu King B permet la production de fluorescence, pigment jaune vert fluorescent sous la lumière ultraviolet ayant une longueur d'onde de 254 - 360 nm, par certain *Pseudomonas*. Les sept souches bactériennes sont cultivées sur ce milieu pendant 4 jours puis examinées sous la lumière ultraviolette pour observer leur fluorescence. (Schaad et al., 2001).

III.2.4. Conservation des souches bactériennes

Pour la conservation à long terme des souches utilisées, on a utilisé le milieu King B liquide (sans addition d'agar) à la quel ont ajouté 50% du glycérol. Ce mélange a été stérilisé à l'autoclave puis mis dans des tubes coniques de type eppendorf de 1.5 ml à raison de 1ml/tube. Ensuite des colonies jeunes (âgée de 48h) sont suspendues dans ce mélange. Le tout est homogénéisé à l'aide d'un agitateur vortex. Les tubes sont conservés dans un congélateur (à-18°). Les souches ainsi conservées peuvent restées viables durant une période allant de 1 à 3 ans.

III .2.5. Étude de pouvoir phytopathogène des souches *Pseudomonas savastanoi*

III .2.5.1 Test phytopathogénicité sur les plantes d'olivier (essais variétal)

Les agents pathogènes bactériens des plantes provoquent divers symptômes de maladie dans différents organes des plantes. Le test de pathogénicité des bactéries isolées des plantes est l'une des étapes les plus cruciales et les plus importantes dans le diagnostic. Cela implique la reproduction des lésions suite à l'infection artificielle d'hôtes appropriés dans des conditions de serre (Janse, 2005).

Ce test a été réalisé sur des plantes d'olivier de quatre variétés différentes (chemlal, sigoise, arbequina, azeradj) âgés de deux ans. Des petites blessures (1 mm de profondeur et 3 mm de largeur) ont été réalisées sur les rameaux de chaque plant à l'aide d'une lame de bistouri (3 répétition pour chaque souche bactérienne). Ces blessures sont ensuite inoculées par la crème bactérienne de deux souches de *Pseudomonas savastanoi*, ensuite les blessures sont couvertes avec le papier parafilm pendant 2 jours puis on l'enlève dès le 3ème jour. Les observations sont effectué chaque semaine pendant une période de deux pour une éventuelle apparition des tumeurs (krid et al., 2012).



Figure 15 : Test de pathogénicité effectué sur les différentes variétés de l'olivier.

III.2.5.2. Test de pathogénicité sur d'autres plantes hôtes (test de gamme d'hôte)

Ce test a été réalisé sur des plantes qui peuvent être des hôtes potentiels pour *Pseudomonas savastanoi* ; pour ce test on utilise des plants de jasmin blanc, de jasmin d'hiver, de laurier rose la procédure d'inoculation artificielle est la même que pour le test de pathogénicité sur les plants d'olivier (Tsuji et al., 2017).



Figure 16 : Test de gamme d'hôte réalisé sur les plants de jasmin blanc, jasmin d'hiver, laurier rose.

III.2.6. Essai de l'antagonisme de quelques souches bactériennes vis-à-vis de *Pseudomonas savastanoi*.

Ce test a été réalisé pour évaluer la capacité d'antagonisme de cinq souches bactériennes vis-à-vis de deux souches de *Pseudomonas savastanoi*. Une suspension bactérienne de deux souches de *P. savastanoi* est préparée en diluant deux colonies bactériennes dans 1 ml d'eau distillée stérile, un volume 100µl est étalé sur la surface de milieu YPGA à l'aide d'une

pipette pasteur râteau, puis des disques en papier contenant la crème bactérienne de l'antagoniste sont placés sur ce milieu YPGA. Les boîtes de pétri sont incubées pendant 48h. La présence de l'activité antagoniste se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition claire autour du disque de l'antagoniste, le diamètre des zones d'inhibition est mesuré et exprimé en mm (Bouaichi et al., 2021).

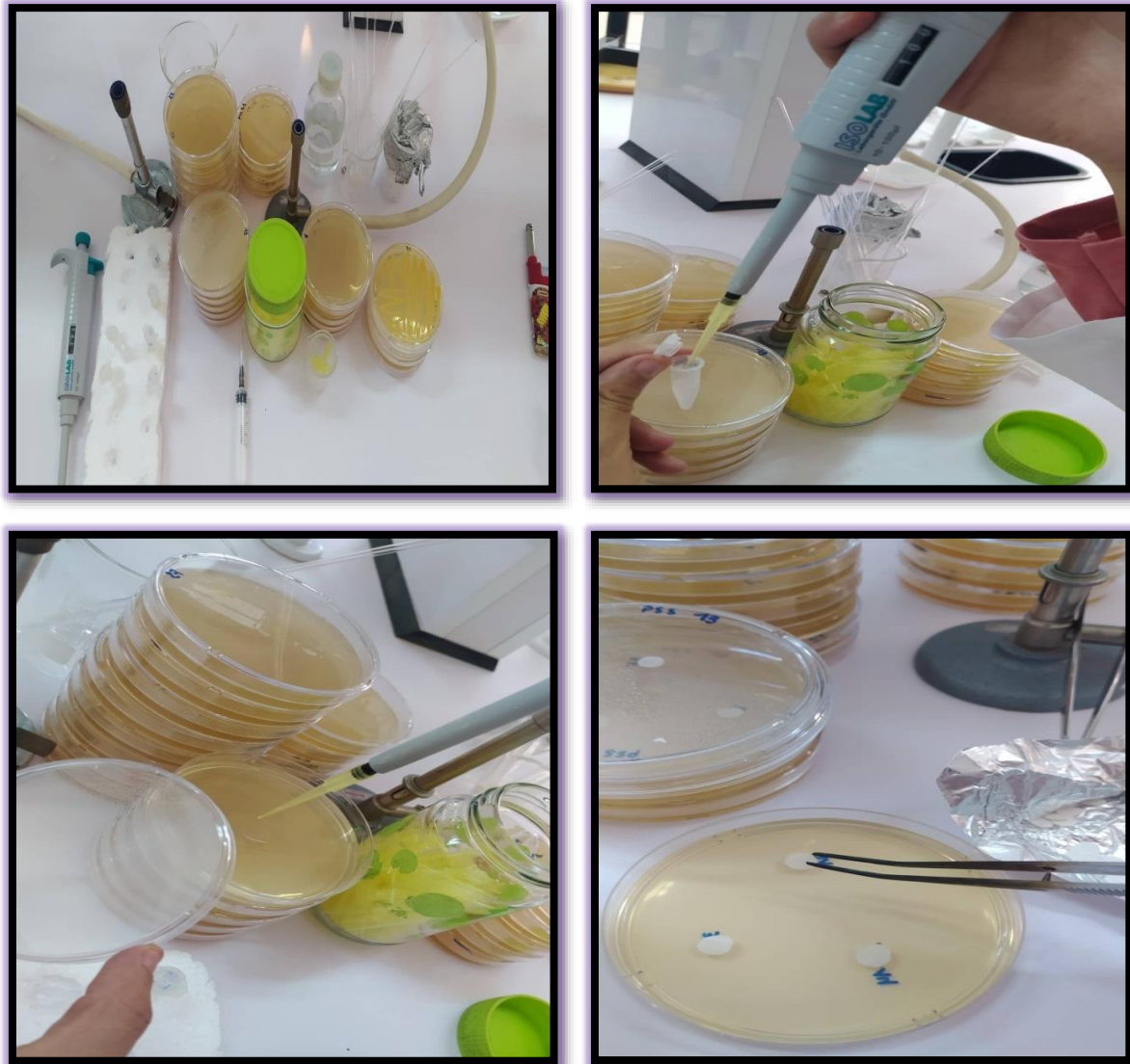


Figure 17 : Quelques étapes de cette teste Essai de l'antagonisme.

III-2.7. Test d'activité protéase

Le test de l'activité protéasique est réalisé sur un milieu spécifique SM, les bactéries testées sont inoculées en spot au centre de boîtes de pétri contenant ce milieu, puis laissées incuber pendant 72h à 26°C. La présence de l'activité protéasique se traduit par une zone claire d'hydrolyse autour du spot d'inoculation (Sharma et Singh, 2015).

CHAPITRE IV

Résultats et discussions



Chapitre IV : Résultats et discussions

IV .1. Description macroscopique des souches bactériennes étudiées

IV.1.1. Caractéristiques macroscopiques sur le milieu King B

Les caractéristiques macroscopiques des souches bactériennes étudiées cultivées sur le milieu King B pendant 72h sont illustrées dans le Tableau 05. Les deux souches de *Pseudomonas savastanoi* (PS1 et PS13) ainsi de la souche B14 présentent des colonies Blanches ternes, légèrement convexes, crémeux, de diamètre moyen de 1mm. Les colonies formées par les souches B3, B31 et B21 sont toutes jaune légèrement convexe mais différent pour la viscosité Pour la souche B27, elle présente des colonies blanches à beiges de 1.5 mm de diamètre crémeux et légèrement convexe.

Tableau 05 : Caractéristiques des souches bactériennes étudiées sur le milieu King B après 72h d'incubation à 26°C.

Souche	Couleur	Elévation	Viscosité	Diamètre moyen des colonies
PS1	Blanc terne	légèrement convexe	Crémeux	1 mm
PS13	Blanc terne	légèrement convexe	Crémeux	1 mm
B21	Jaune	légèrement convexe	Crémeux	/
B27	Blanc à Beige	légèrement convexe	Crémeux	1.5 mm
B3	Jaune	légèrement convexe	Visqueux et crémeux	/
B14	Blanc terne	légèrement convexe	Crémeux	1 mm
B31	Jaune	légèrement convexe	Visqueux et crémeux	2 mm

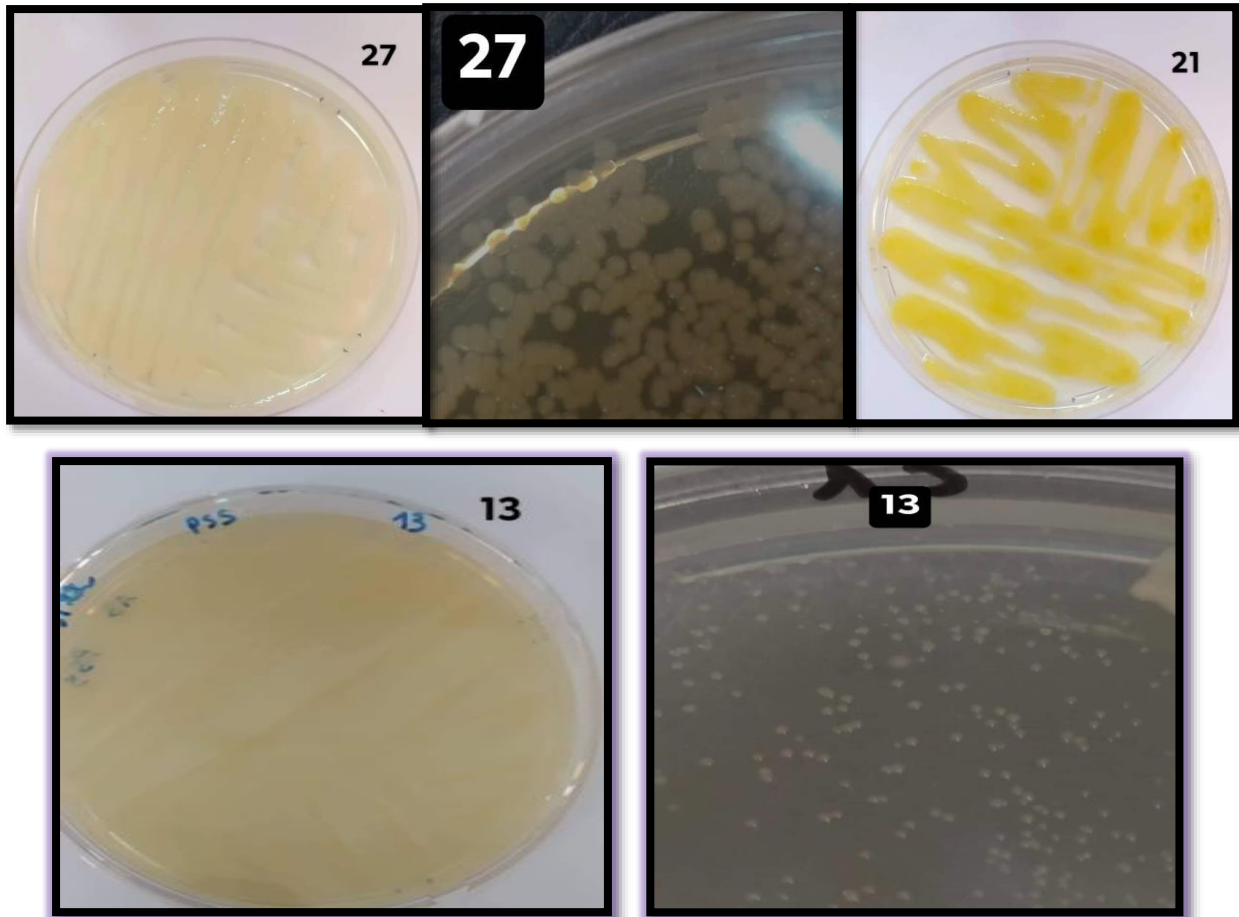


Figure 18 : Aspect macroscopique des souches B27, PS13 et B21 sur le milieu King B.

IV.1.2. Caractéristiques macroscopiques sur le milieu Levane (NAS)

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été caractérisées également sur le milieu Levane ; les résultats sont résumés dans le Tableau 06. Les deux souches de *Pseudomonas savastanoi* (PS1 et PS13) ainsi que la souche B14 forment des colonies de couleur Blanc terne avec une élévation légèrement convexe de viscosité qui varie entre le crémeux et le visqueux. La taille des colonies de la souche PS13 sont légèrement inférieures à celles de souche PS1. Les colonies des souches B3 et B31 sont légèrement convexe de couleur beige avec un diamètre de 2 et 3 mm respectivement, alors que pour la souche B21, les colonies sont de couleur jaune claire mesurant 2.5 mm de diamètre. La souche 27 quant à elle, présente des colonies luisantes bombées (en dôme) de couleur beige transparent te mesurant 2 mm de diamètre.

Tableau 06 : Caractéristiques des souches bactériennes étudiées sur le milieu Levane (NAS)
après 72h d'incubation à 26°C.

Souche	Couleur	Élévation	Viscosité	Diamètre moyen
PS1	Blanc terne	Légèrement convexe	crémeux	2mm
PS13	Blanc terne	Légèrement convexe	crémeux	1mm
B21	Jaune claire	Légèrement convexe	Visqueux et	2.5mm
B27	Beige transparent	Bombée	visqueux	2mm
B3	Beige	Légèrement convexe	crémeux	2mm
B14	Blanc terne	Légèrement convexe	Visqueux	/
B31	Beige	Légèrement convexe	Visqueux	3mm

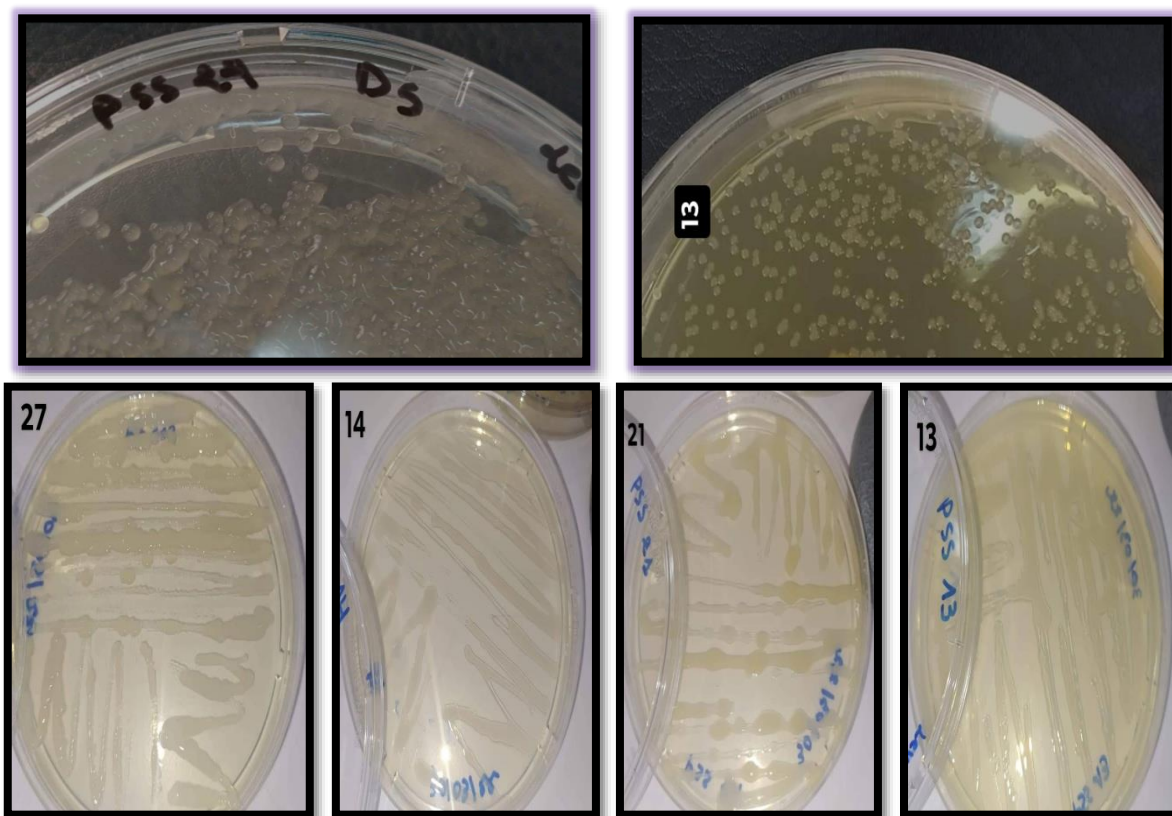


Figure 19 : Aspect macroscopique des colonies formées sur le milieu Levane.

IV.2. Résultats des Tests biochimiques

✓ Tests de LOPAT

Parmi les tests biochimiques importants qui ont été effectués, le test LOPAT qui joue un rôle distinctif et permet de différencier les espèces appartenant au genre de *Pseudomonas*. Et qui sont des bacilles Gram négatif, mobile par ciliature polaire, non sporulant, aérobic stricte.

Les résultats de test LOPAT des sept souches bactériennes étudiées sont illustrés dans le Tableau 07.

Tableau 07: Résultats du test de LOPAT.

Souche	Levane	Oxydase	Pectinase	Hypersensibilité sur les feuilles de tabac
PS1	-	-	-	+
PS13	-	-	-	+
B21	-	-	-	+
B27	+	+	-	+
B3	-	-	+	-
B14	-	-	+	-
B31	-	-	-	+

« + : positif - : négatif »

➤ Test Levane (NAS)

Nos résultats montrent que seule la souche B27ensemencée sur ce milieu arrive à polymériser le fructose en poly-fructose (Levane +), ce qui se traduit par la formation des colonies luisante en dôme, les autres souches forment des colonies légèrement élevé.

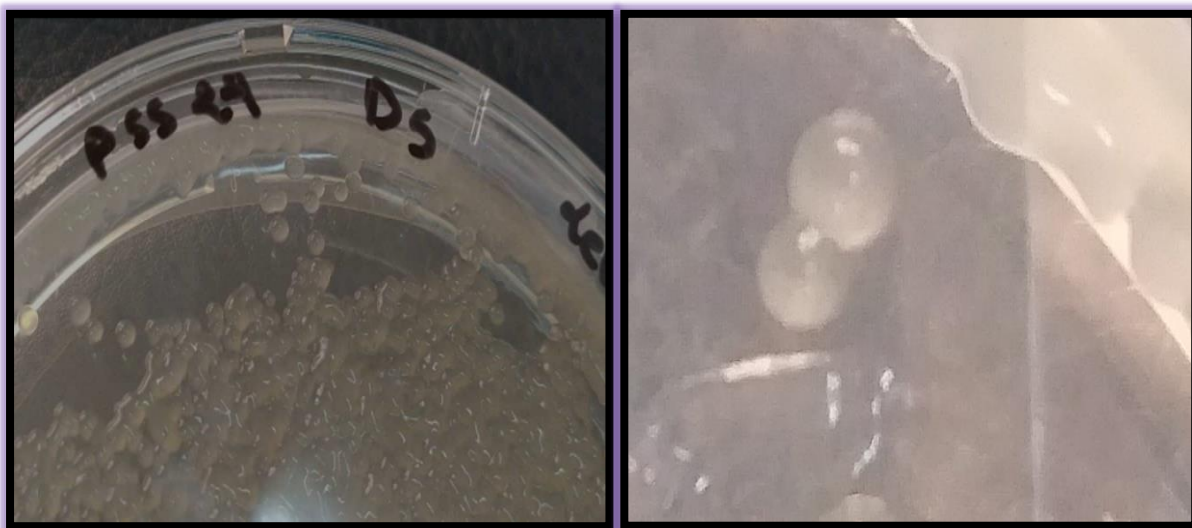


Figure 20: Colonies en dômes formées par la souche PS27.

Nos résultats pour les deux souches de *Pseudomonas savastanoi* (PS1 et PS13) sont en accord avec ceux rapportés par (Moretti et al., 2008) qui ont étudié 53 isolats de *P. savastanoi*

pv savastanoi prévenant de 05 pays différents : Albanie, Italie, Maroc, Portugal et Turkey. Ils ont rapporté que tous les isolats étaient Levane négatif; d'autres auteurs également ont confirmé que les souches de *Pseudomonas savastanoi* sont Levane négatif (Marchi et al., 2005; Khezri et al., 2019).

➤ Test Oxydase

Les résultats de ce test montrent que les 06 isolats présentes une réaction négative (absence de coloration violette) (Figure 21), ce qui signifie l'absence de l'enzyme oxydase (Steel, 1960), qui est l'enzyme responsable d'une réaction oxydoréduction, en impliquant une molécule d'oxygène comme accepteur d'électrons. Seule la souche B27 montre une réaction positive (présence de coloration violette) (Figure 22).

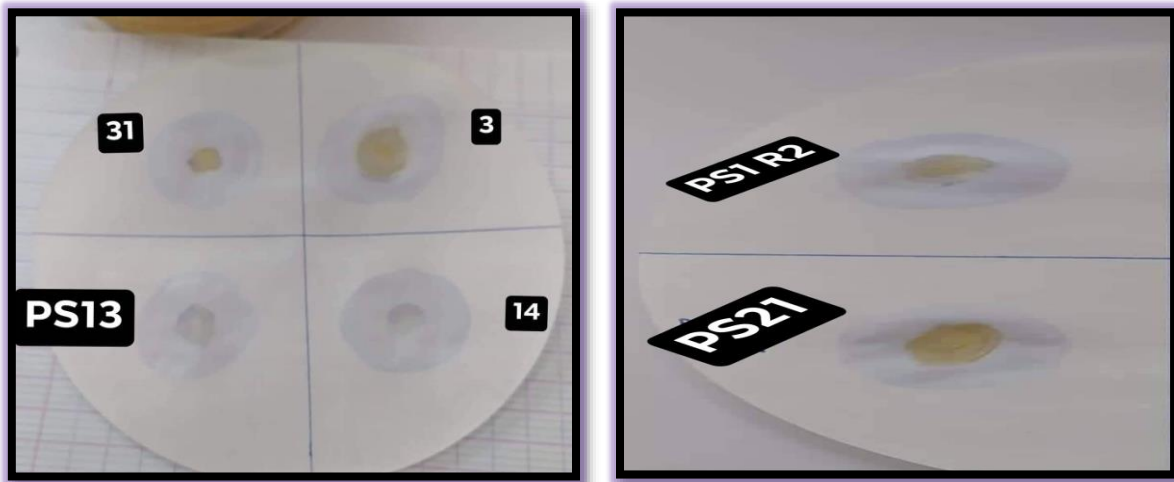


Figure 21 : Résultat de test oxydase négatif.



Figure 22 : Résultat de test oxydase positive.

Nos résultats pour les deux souches de *Pseudomonas savastanoi* (PS1 et PS 13) sont en accord avec les données bibliographiques qui confirment que tous les souches de *Pseudomonas savastanoi* isolés jusqu'à maintenant sont tous oxydase négatif (Lamichhane et

Varvaro, 2013 ; Khezri et al., 2019 ; Guido et al., 2005 ; khettari, 2021 ; Hassouna et al., 2022).

➤ Test Pectinase

La lecture des résultats du test pectinase sur les tranches de pomme de terre (Figure 23) a montré que les 05 souches (PS1, PS13, B21, B27, B31) utilisées ne dégradent pas la pectine et ne forment pas de nécroses. Elles sont donc des souches à pectinase négatif. Seules 02 souches se sont révélées pectinase positif qui est B3, B14.

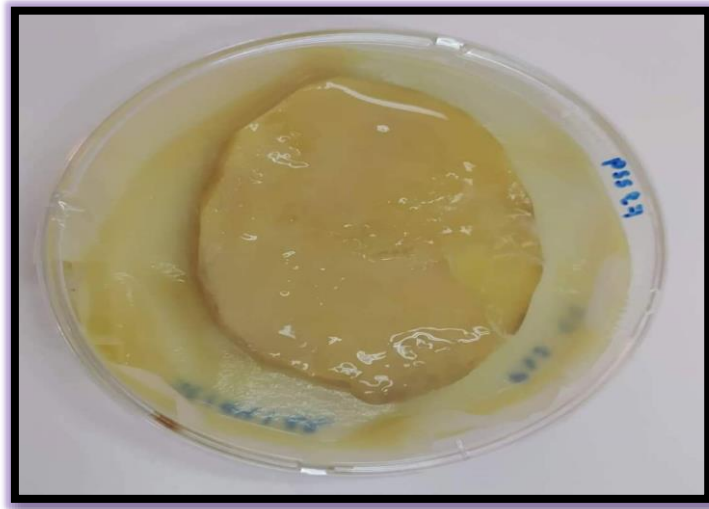


Figure 23 : Résultat de test pectinase.

Selon (Guido et al., 2005), les souches *Pseudomonas savastanoi* ne dégradent pas la pectine. Cette même conclusion a été signalée également par les travaux de (Serdoune bekri, 2013), (Hamid et al., 2017), (Khettari, 2021).

➤ Test d'hypersensibilité sur feuilles de Tabac

Après injection de l'inoculum dans la plante de tabac, des zones nécrotiques ont été observées autour du site d'infection, ce qui signifie que la plante de tabac a développé une réaction d'hypersensibilité (plante sensible) vis-à-vis des souches isolées (réactions positives). Dans ce test, on a remarqué des différences au niveau du moment de l'apparition de la nécrose sur les feuilles de tabac, Pour les souches PS13, PS1, B27, B21 et B31, les nécroses apparaissent dans les 18h qui suivent l'inoculation, alors que pour la souche B3 et B14, la réponse apparaît après 7 jours (Figure 24).

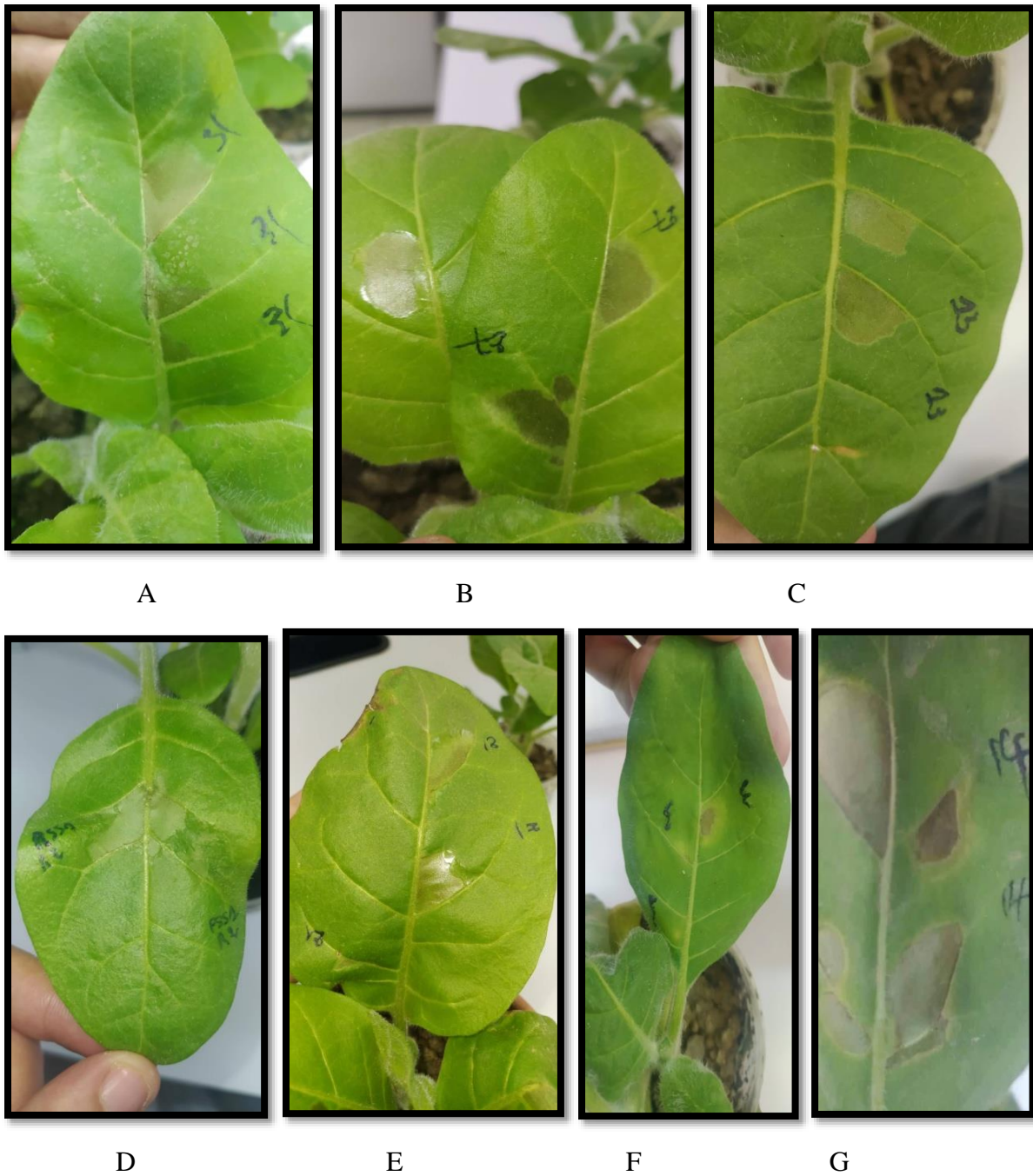


Figure 24 : Résultat de test d'hypersensibilité sur feuilles de Tabac : A, B, C, D, E : Réactions observées après 18h. F, G : Réaction observée après 7 jours.

Nos résultats pour les deux souches de *Pseudomonas savastanoi* (PS1 et PS 13) sont en accord avec les résultats de (Serdoun bekri, 2013) et (Oulebsir-Mohandkaci et al., 2017), et avec d'autres auteurs qui confirment que toutes les souches de *Pseudomonas savastanoi* produisent des réactions d'hypersensibilité sur les feuilles de tabac dans les 24 h après l'inoculation (Marchi et al., 2005 ; Khezri et al., 2019 ; Hassouna et al., 2022).

✓ **Autres tests biochimique**

Les résultats de test KOH, Catalase et le test de la florescence et Test d'activité protéase et Essai de l'antagonisme de quelques souches bactériennes vis-à-vis de *Pseudomonas savastanoi* sont résumés dans le Tableau 08.

Tableau 08 : Résultats des autres tests biochimiques.

Souche	Test Gram (KOH)	Catalase	Test de fluorescence	Test d'activité protéase
PS1	+	+	+	-
PS13	+	+	+	-
B21	+	+	-	-
B27	+	+	++	+
B3	+	+	-	-
B14	+	+	-	-
B31	+	+	-	-

(+) : Réaction positive ; (-): Réaction négative.

➤ **Test Gram (KOH)**

Tous les résultats obtenus pour ce test indiquent que les 07 souches appartiennent au Gram négatif, on a observé la formation d'un filament continu en présence d'une solution de KOH à 3 % sur la lame. 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.

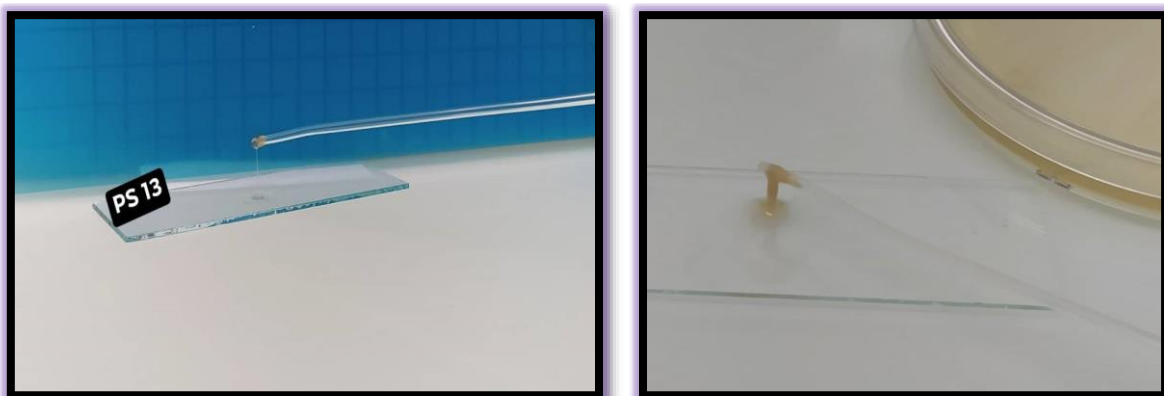


Figure 25 : Résultat de test KOH : formation filament contenu.

Les résultats de nos souches de *Pseudomonas savastanoi* sont en concordance avec ceux obtenus par (Marrech et al., 2005 ; Young, 2004 ; Khezri et al., 2019 ; Khettari, 2021).

➤ **Test catalase**

Le résultat de ce test nous montre la formation des bulles d'oxygène, du à la présence de l'enzyme catalase, dans chacune des 2 souches de *Pseudomonas savastanoi* PS1, PS13, et les 5 autres souches B21, B27, B3, B31, B14.



Figure 26 : Résultat positif du test catalase.

Les résultats positifs de ce test pour nos souches de *P. savastanoi* sont en accord avec ceux rapportés par (Khezri et al., 2019 ; Khettari, 2021).

➤ **Test de fluorescence**

Sous la lampe UV, les colonies des souches B27, PS1, PS13 cultivées sur milieu King B pendant 3 jours sont fluorescentes. Cette fluorescence est du à la production d'un pigment jaune verdâtre appelé pyoverdine.

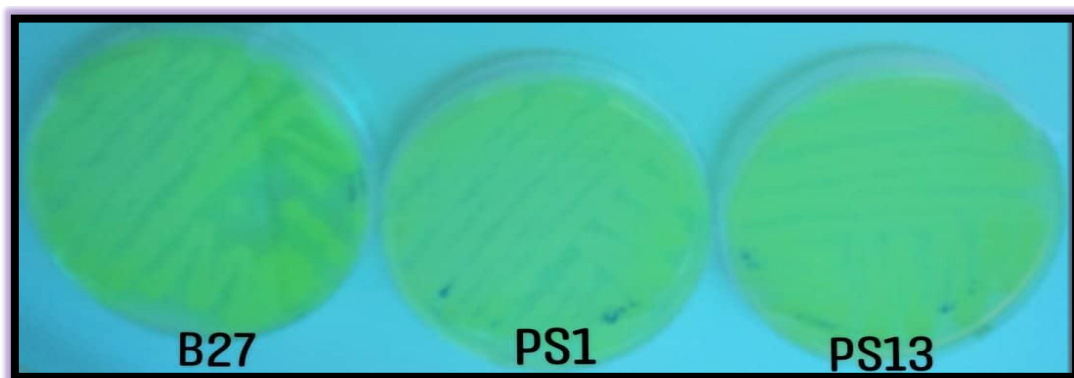


Figure 27 : Souches fluorescente sous la lampe UV.

Plusieurs auteurs ont rapportés que les souches de *Pseudomonas savastanoi* produisent de la fluorescence sous lampe UV lorsque ils sont sur le milieu King B (Tsuji *et al.*, 2017 ; Khezri *et al.*, 2019, Hassouna et al., 2022).

➤ Test d'activité protéase

Les résultats obtenus ont montré que seule la souche B27 présente une zone claire autour de colonie dû à l'activité protéasique. Cette zone mesure 4,1 cm de diamètre.

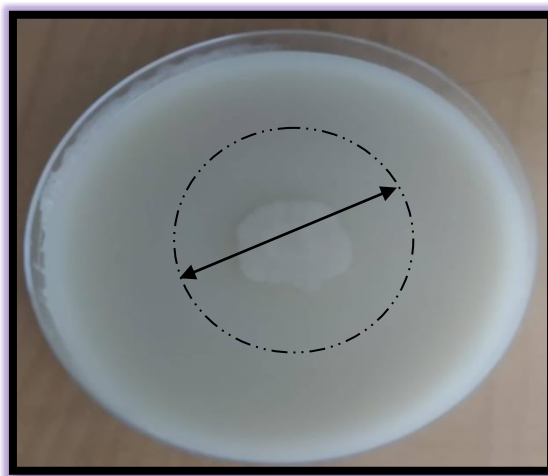


Figure 28 : Résultats de Test d'activité protéase.

Certaines enzymes telles que les lipases, les protéases et les chitinases peuvent dégrader ou lyser la paroi cellulaire des phytopathogènes. Plusieurs rapports montrent les protéases obtenues à partir des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* jouent un rôle important dans le contrôle biologique des champignons et bactéries phytopathogènes (El-Bendary et al., 2016 ; Durairaj et al., 2017, 2018; Varhan et Bozkurt, 2019; Filiz Doksoz et Bozkurt, 2022).

IV. 3. Résultats décessais de l'antagonisme des cinq souches bactériennes vis-à-vis des *Pseudomonas savastanoi*

Les résultats de l'essai d'antagonismes des cinq souches bactériennes (B3, B14, B31, B21, B27) vis-à-vis de souche PS1 et PS13 de *P. savastanoi* sont présentés dans les deux tableaux ci-dessus (tableau 09 et 10). La souche B27 possède la plus grande zone d'inhibition vis à vis des deux souches de *Pseudomonas savastanoi* (2.4 cm et 3.2 cm respectivement pour PS1 et PS13), suivi de souche B21 puis par la souche B31.

Tableau 09 : Diamètres de zone d'inhibition (cm) d'essais d'antagonisme après 24h.

Souches de <i>P.</i> <i>savastanoi</i>	Souches d'antagoniste				
	B3	B14	B31	B21	B27
PS1	1.4	0.8	2	2.3	2.42
PS13	1.73	/	2.02	2.23	3.1

Tableau 10 : Diamètres de zone d'inhibition (cm) d'essais d'antagonisme après 48h.

Souches de <i>P.</i> <i>savastanoi</i>	Souches d'antagoniste				
	B3	B14	B31	B21	B27
PS1	1	0.83	1.65	1.86	2.4
PS13	1.76	/	1.98	1.85	3.2

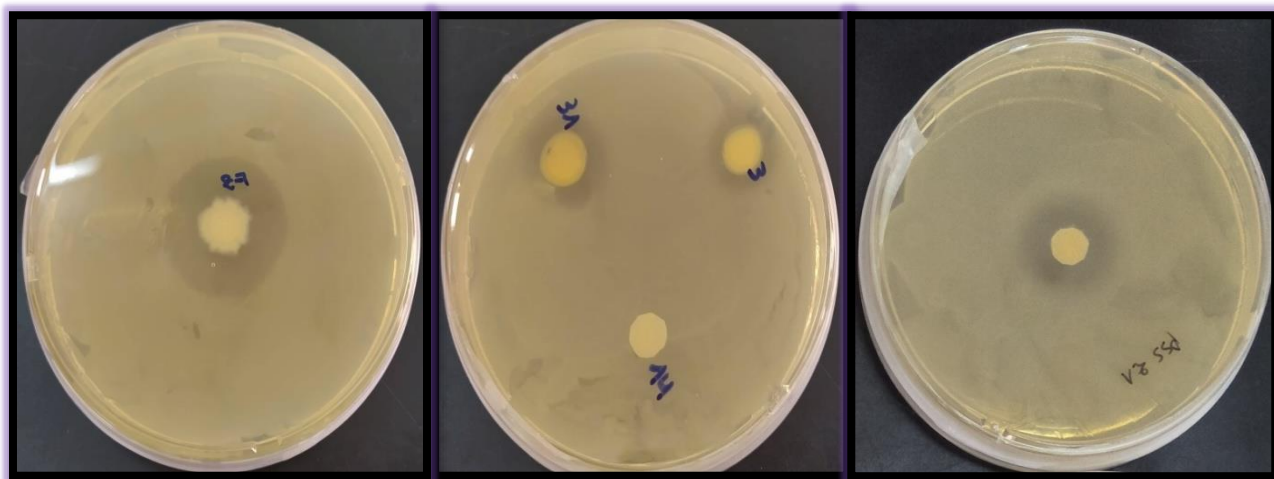


Figure 29: Résultats d'essai de l'antagonisme de quelques souches bactériennes vis-à-vis de *Pseudomonas savastanoi*.

Nos résultats sont meilleures que ceux obtenus par (Bouaichi et al., 2021) qui ont travaillé sur dix-huit souches d'antagonistes vis à vis la souche *P. savastanoi* PSS 2102-4. Leurs résultats ont montré que la souche *B. subtilis* (2515-1) était la bactérie la plus efficace avec une zone d'inhibition supérieure de 23 mm. Pour les autres souches antagonistes, les diamètres du halo variaient de 8 à 21 mm.

IV.4. Etude de pouvoir phytopathogènes des souches *Pseudomonas savastanoi*

IV.4.1. Résultats du test phytopathogénésité sur les plantes d'olivier (essais variétal)

Nos résultats montrent que les deux souches de *Pseudomonas savastanoi* sont capables d'induire la formation des nœuds (tumeurs) sur les quatre cultivars d'olivier testés (Chemlal, Sigoise, Azaradj, Arbequina). Le (tableau 11) montre la variation des dimensions des nœuds formés sur les 4 cultivars après deux mois d'inoculation par la souche PS13. La variété chemlal est la variété 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*.

Il est à noter que la variété chemlal est la variété la plus cultivée dans la wilaya de Bouira, ce qui explique la propagation de cette maladie dans toutes les régions de la wilaya (Hassouna et al., 2022).

Tableau 11 : Dimensions des nœuds obtenus dans l'essai pathogénicité de souche PS13 vis à vis des quatre cultivars de l'olivier.

Cultivars d'olivier	Dimension des nœuds formés		
	hauteur	largeur	longueur
Chemlal	6.15	7.55	5.45
Sigoise	3.5	4.73	2.7
Azeradj	2.9	3.15	2.05
Arbequina	3.6	4.2	2.5



Figure 30 : Résultats de test phytopathogénicité de l'olivier.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de (Salman et al., 2020) qui ont étudié la sévérité de la tuberculose de l'olivier sur 104 cultivars et qui comprends deux de nos variétés étudiées (Sigoise et Arbequina). Ces auteurs ont classé ces deux variétés parmi 51 autres et qui ont une sévérité de maladie entre 0 -10%.

IV.4.2. Test de pathogénicité sur d'autres plantes hôtes (test de 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*), le jasmin (*Jasminum officinale*L.) sur lesquels ils provoquent des symptômes similaires au tuberculose d'olivier (Marchi et al., 2005). Dans notre essai, 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.

(Tsuji et al 2017) ont étudié des isolats de *Pseudomonas savsatanoi* obtenu à partir des nœuds d'oliviers au Japon, et ont trouvé que parmi les plantes hôtes alternative, seules le jasmin rose étaient capables de développer des nœuds.

CONCLUSION GENERAL



Conclusion générale

L'olivier est un sujet à des attaques par différents bio-agresseurs d'origine fongique, bactérienne ou ravageuse. Ces bio-agresseurs peuvent réduire la capacité de production, et par conséquent, causer de lourdes pertes économiques.

C'est l'exemple de la tuberculose de l'olivier qui est l'une des maladies les plus dangereuses qui touchent l'oléiculture causée par *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*.

Dans ce travail, nous sommes intéressés à l'étude de deux souches de *Pseudomonas savastanoi* provenant d'oliviers de la wilaya de Bouira, l'étude a concerné la caractérisation biochimique et phytopathologique d'une part et de l'autre part dans ce travail, on a étudié la possibilité d'utiliser cinq souches bactériennes endophytes d'olivier dans la lutte contre *Pseudomonas savastanoi*.

Les résultats de notre recherche ont montré que les deux souches de *P.savastanoi* (PS1 et PS13) sont Gram négatif, oxydase négatif, Levane négatif, catalase positif, pectinase négatif, fluorescente sur le milieu King B et elles induisent une réaction d'hypersensibilité sur les feuilles du tabac dans les 18 h après inoculation.

Concernant les critères phytopathologiques, les deux souches induisent la formation des nœuds sur les quatre variétés de l'olivier (chemlal, sigoise, Arbequina, azeradj), avec une sensibilité marquée de la variété chemlal. La variété Azeadj apparaît comme étant la moins sensible. Les deux souches ne forment pas des nœuds sur le jasmin blanc, le jasmin d'hiver et laurier rose.

Dans ce travail, on s'est intéressé à l'étude de cinq souches bactériennes endophytes d'olivier (B3, B31, B14, B27 et B21), la caractérisation biochimique montre qu'il s'agit de bactéries non fluorescentes sur milieu King B, Gram négatif, oxydase négatif, Levane négatif, catalase positif, pectinase négatif, à l'exception de la souche B27 qui est fluorescente, oxydase positif, et Levane positif ; et les souches B31 et 14 qui sont pectinase positif. Trois souches seulement (B27, B21, B31) induisent une réaction d'hypersensibilité sur les feuilles du tabac dans les 24h qui suivent l'inoculation.

Concernant les essais de lutte contre les deux souches de *P savastanoi*, les tests d'antagoniste ont montré que la souche B27 était la bactérie la plus efficace avec une zone d'inhibition entre de 24 à 31 mm suivie de la souche B21 puis la souche 31.

En perspective, il est intéressant de compléter cette étude avec :

- les tests d'antagoniste *in vivo* avec les trois souches endophytes B21, B27 et B31 et en utilisant une gamme de cultivars d'olivier représentative des cultivars algériens.

Conclusion générale

- Identification moléculaire des ces trois souches endophytes.
- Réalisation des tests antagoniste in *vitro* et in *vivo* sur d'autres souches de *P savastanoi*.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE



Références bibliographiques

1. **Abdessemed, S., Muzzalupo, I., Benbouza H., 2017.** Assessment of genetic diversity among Algerian olive (*Olea europaea* L.) cultivars using SSR marker .*Sci.Hortic.*192:10–20
2. **Amouretti, M.C., Brun J.P. 1993.** Olivier ET huile dans l'antiquité: découverte archéologique récente. Colloque Aix-Toulon, Sup. 26, BCH, Athène Paris.
3. **Angiolillo, A., Mencuccini, M., Baldoni, L., 1999** - Olive genetic diversity assessed using amplified fragment length polymorphisms. *Theor Applied Genetics*, 98: 411-421.
4. **Asswah, M. W., Ayat, M., 1985.** On certain diseases of olive trees at Oran area. *Premières journées scientifiques de la société Algérienne de Microbiologie.* Insti. Pasteur, Alger: 1-9.
5. **Ater, M., Barbara, H., Kassout, J., 2016** - Importance des variétés locales de l'oléastre et des pratiques traditionnelles de l'oléiculture dans la région de Chefchaouen (Nord du Maroc). *CIHEAM, Montpellier:* 109-121.
6. **Baldoni, L., Tosti, N., Ricciolini, C., Belaj, A., Arcioni, S., Pannelli, G., Germanam, A., Mulas, M., Porceddu, A., 2006.** Genitic structure of wild and cultivated olives in the central Mediterranean Basin. *Annals of botany*, 98: 935-942.
7. **Barbara, D. J., Paplomatas, E. J., Jiménez-Díaz, R. M., 2006.** Spread of the defoliating path type of *Verticillium dahlia* to new cotton and olive growing areas in southern Spain. In: *Proceeding of the 8 Th International Verticillium symposium, Cordoba 2001*, 57.
8. **Bartolozzi F., Fontanazza G., 1999.** Assessment of frost tolerance in olive (*Olea europaea* L.). *Sci. Hort.*, 1999.Vol (81), p 309-319.
9. **Belaj, A., Munoz-diez, C., Baldoni, L., Satovic, Z., Barranco, D., 2010.** Genetic diversity and relationships of wild and cultivated olives at regional level in Spain. *Scientia Horticulturae*, 124:323-330.
10. **Bellahcene, M., Assigbetse, K., Fortas Z., Geiger, J.P., Nicole, M., Fernandez, D., 2005b** Genetic diversity of *verticillium dahliae* isolates from olive trees in Algeria. *Phytopatologia. Mediterranean.* 44: 266-274.
11. **Bellahcene, M., Fortas, Z., Fernandez, D., Nicole, M., 2005 a.** Vegetative compatibility of *verticillium dahliae* isolated from olive trees (*Olea europea* L). In *Algeria. Afric .J. Biotech.* 49: 963-967.
12. **Bellahcene, M., Fortas, Z., Geiger, J.P., Matallah, A. Henni, D., 2000.** *Verticillium* wilt in olive in Algeria: Geographical distribution and extent of the disease. *Olivae*, 82: 41-43

Références bibliographiques

13. **Benjama, A. 2003.** Méthode d'évaluation rapide du degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose causée par *Pseudomonas savastanoipv. savastanoi*, en verger au Maroc. Fruits, 58(4), 213-219.
14. **Bensemmane, A., 2009.** L'oléiculture: Développons le secteur de l'Huile d'Olive en Algérie. Revue Fillaha Innove, n°4, 23 p
15. **Besnard, G., Terral, J-F., Cornille, A, 2018.** On the origins and domestication of the olive: a review and perspectives. Ann Bot 121:385–403
16. **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 climatic shifts and lineage differentiation times. Ann. Bot., 104: 143–160
17. **Botelho, G.R., Leda, C.M. 2006.** Fluorescent pseudomonas associated with the rhizosphère of Crops-an overview. Brazilian journal of Microbiology.37:401-416.
18. **Bottani, D., 2011** - L'olivier de toute éternité. Ed. Equinox, 130 p.
19. **Bouaichi, A., Benkirane, R., El-kinany, S., Habbadi, K., Lougraimzi, H., Sadik, S., Benbouazza, A., Achbani, EH, 2021.** Potential effect of antagonistic bacteria in the management of olive knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi PV. Savastanoi*. J Microbiol Biotechnol Food Sci 2021: 1035-1040.
20. **Boucher, Ch., Yves, D., chaux, D., Nestlé, S. 2011.** Guide des arbres et arbustes de méditerranée. Paris, 291p.
21. **Boulssen, B.Z., Bouraoui, N.H., 2016.** Etude sur la tuberculose de l'olivier ; isolement et identification présomptifs de quelques isolats bactériens à partir des tumeurs. Diplôme de Master : Microbiologie générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, P54.
22. **Boulssen, B., Bouraoui, N. 2016.** Etude de la tuberculose de l'olivier, isolement et identification présomptifs et quelques isolats bactériens à partir des tumeurs. Mémoire de master en Sciences biologique, sous la direction de Dr. Karima Boubekri, Constantine, Université des Frères Mentouri Constantine 1, 79p.
23. **Bradbury, J.F., 1986.** Guide to plant pathogénique bacteria. CAB International Mycological Institute, Kew, UK, p 332.
24. **Breton, C., Tersac, M., Berville, A, 2007.** Genetic diversity and gene flow between the wild olive (Oleaster, *Olea europaea* L.) and the olive: several Plio-Pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin suggested by simple sequence repeats analysis. Journal of Biogeography, 33:1916-1928.

Références bibliographiques

25. **Buonauro, R., Moretti, C., Passos da Silva D., 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.
26. **Carrion, Y., Ntinou, M., Badal, E., 2010.** *Olea europaea* L. in the north Mediterranean basin during the pleniglacial and the early-middle Holocene. *Quaternary sciences reviews*, 29:952-968.
27. **Chevalier, A, 1948.** L'origine de l'olivier cultivé et ses variations. *Revue Internationale de Botanique Appliquée et d'Agriculture Tropicale*, bulletin 303-304:1-45.
28. **Civantos, L, 1998.** L'olivier: l'huile d'olive et l'olive. France. Conseil oléicole
29. **Civantos, L, 1999.** Contrôle des parasites et des maladies de l'olivier. Ed. Conseil Oléicole International, Madrid, Espagne, 207 p.
30. **Civatons, L, 2008.** La olive cultura en el mundo yen espana.in ; barranco D, fernandez-Escobar R, Rallo L. eds, el cultivo del olivo, 6th edn. Junta d andalucia and edition esmundi. prensa, Madrid : 17-35.
31. **Comai, L., Kosuguge, T. 1980.** Involvement of plasmid deoxyribonucleic acid in indoleacetic acid synthesis in *Pseudomonas savastanoi*, *Journal of Bacteriology*, 128: 950- 957.
32. **Corrado, G., Garonna, A., Gomez-Lama Cabanas, C., 2016.** Host Response to Biotic Stresses. In: *Compendium of Plant Genomes. The Olive Tree Genome*. West Bengal, India: ChittaranjanKole, 75 – 98.
33. **Cresti, M., Linskens, H. F., Mulcahy, D. L., Bush, S., Di Stilio, V., Xu, M.Y., Vignani, R., Cimato, A., 1996.** Preliminary communication about the identification of DNA in leaves and olive oil of *Olea europaea*. *Adv. Hort. Sci.*, p 105-107.
34. **Daniel, B. 2015.** Le guide clause : guide pratique complet de jardinage. Italie : Vilmorin jardin SA.719p.
35. **Dickey, R.S., Zumoff, C.H. 1988.** Emended Dexription et *Enterobacter cancerogenus* comb. nov. (Formerly *Erwinia cancerogena*). *International journal of Systematic Bacteriology*, vol.38 (n°4), p371-374
36. **Durairaj, K., Velmurugan, P., Park, JH., Chang, WS., Park, YJ., Senthilkumar P., Choi, KM., Lee, JH., Oh, BT, 2017.** Potential for plant biocontrol activity of isolated *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus stratospheric us* strains against bacterial pathogens acting through both induced plant resistance and direct antagonism. *FEMS Microbiol Lett* 364(23).
37. **Durairaj, K., Velmurugan, P., Park, JH., Chang, WS., Park, YJ., Senthilkumar, P., Choi, KM., Lee, JH., Oh, BT, 2018.** Characterization and assessment of two bio control

Références bibliographiques

- bacteria against *Pseudomonas syringae* wilt in *Solanum lycopersicum* and its genetic responses. Microbiol Res 206:43netic
38. **El Hadrami, I., Nezha, Z., 2001.** La mouche de l'olive état des connaissances et perspectives de lutte. Défense des végétaux, (493) pp : 45-48
39. **El-Bendary, MA., Hamed, HA, Moharam ,ME, 2016.** Potential of *Bacillus* strains as bio-control agents against some fungal phytopathogens. Biocatal Agric Biotechnol 5:173gainst
40. **Ercolani, G. 1978.** *Pseudomonas savastanoi* and other bacteria colonizing the surface of olive leaves in the field. Microbiology, 109(2), 245-257
41. **Fantanazza, G, 1988.** Comment cultiver en vue de la qualité de l'huile. In revue Oliva N ° 24. PP: 31-34.
42. **Faostat., 2022.** Site web: <https://www.fao.org/faostat/fr/#home>.
43. **Filiz Doksoz, S., Bozkurt İA, 2022.** Biological control of *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi* causing the olive knot disease with epiphytic and endophytic bacteria. Journal of Plant Pathology 104:65–78
44. **Fontanazza, G., Baldoni, L. 1990.** Proposition pour un programme d'amélioration génétique de l'olivier. Revue Oliveae, n°34, pp 32-39
45. **Gaouar-Benyelles, N., 1996.** Apport de la biologie des populations de la mouche de l'olivier *Bactrocera* (*Dacus*) *oleae* Gmel (*Ditera* : *Tephritidae*) à l'optimisation de son contrôle dans la région de Tlemcen. Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen, Algérie, 116 p.
46. **Garcia-verdugo, C., Forrest, a.D., Balaguer, L., Fay, m. C., Vargas, P., 2010.** Parallel evolution of insular *Olea europaea* subspecies based on geographical structuring of plastid DNA variation and phenotypic similarity in leaf traits. Botanical Journal of Linnean society, 162:54-63
47. **Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K.M., Gilani, A.H., Saari, N., 2012.** Valuable nutrients and functional bioactive in different parts of olive (*Olea europaea* L.) - A Review. Int. J. Mol. Sci., 13:3291-3340.
48. **Gharabi, D. 2018.** Effet du stress salin sur le comportement physiologique et morpho biochimique de jeunes plants de variétés d'olivier cultivé (*Olea-europea*) locales et introduites non greffés et greffés sur oléastre. Université Djilali liabes de sidi bel abbés. 11p.
49. **Ghedira, K. 2008 -** L'olivier. Phytothérapie, 6:83-89
50. **Gonzales, C.F., Layher, S.K., Vidaver, A.K., Olsen, R.H. 2003.** Transter mapping and cloning of *Pseudomonas syringae* PV. *Syringae* plasmid pCG 131 and assessment of its role in virulence. Phytopathology 74, 1245-1250.

Références bibliographiques

51. **Guechi, A., Girre, L. 2002.** Recherche et analyse d'un effet mutagène des extraits de feuilles d'olivier parasitées par le champignon pathogène *Cycloconium oleaginum* Cast. *Sciences & Technology. A, exactes sciences*, 96-100.
52. **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* (2005) .112: 101-112.
53. **Hall, B.H., Cothe, E.J., whattam, M.D., Noble, D., Luck, J., Cartwright, D., 2004.** First report of olive knot caused by *pseudomonas savastanoi* PV *savastanoi* on olives (*Olea europea*) in Australia. *Australasian. Plant. Pathology*. 33 : 219-228 p.
54. **Hamid, S., Chergui, Z., Ouchefoune, I., Halouane, F, 2017.** Diagnostique de la tuberculose de l'olivier dans la région centre. Laboratoire de Valorisation et Conservation des Ressources Biologique (VALCORE), Université de Boumerdes
55. **Hassouna, M.A., Mebdoua, S., Mahdi, K., Messad, S., Lamine, S., 2022.** Investigating the spread of *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi* the causal agent of Olive knot disease in Algeria, *Journal by Innovative Scientific Information & Services Network*, 19(1): 726-737.
56. **Iacobellis, N.S. 2001.** Olive knot. In: *Encyclopedia of Plant Pathology*, Vol. 2, O.C. Maloy T.D Murray (Eds.), pp. 713-715, John Wiley and sons, ISBN 0471298174, New York, USA.
57. **Ingrida-Shoulder, P, 1988.** RNA and protein metabolism during adventitious root formation in stem cutting of *Phaseolus aureus*. *Physiologie plant*, 64:53-59.
58. **Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)., 2016.** La culture de l'olivier : Guide pratique pour le conseil agricole. Rabat Maroc: Division de l'Information et de la Communication Avenue de la Victoire. p 35.
59. **Janse, J.D, 2005.** *Phytopathology: principles and practice*. CABI Publishing, Wallingford, 360 pp
60. **Janse, J.D, 1982.** *Pseudomonas syringae sub sp. savastanoi*. The bacterium causing excrescences on Oleaceae and Nerium oleander L. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 32: 166-169.
61. **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 Bacteriology*, Vol. 32, No. 2, (April 1982), pp. 166-169, ISSN: 1466-5026.

Références bibliographiques

62. **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, Algiers, Algeria 31p
63. **Kado, C.I. 1992.** Plant pathogenic bacteria, In: The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications, Balows, A., Truper, H. G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H, New York, USA. Vol. I, 659-674p, Springer-Verlag, ISBN 0387972587.
64. **Kaniewski, D., Paulissen, E., Van Campo, E., Bakker, J., Van Lerberghe, K, 2009.** Wild or cultivated *Olea europaea* L. in the eastern Mediterranean during the middle-late Holocene. A pollen numerical approach. *The Holocene*, 19(7):1039- 1047.
65. **Khettari, C. 2021.** Contribution à l'étude de la tuberculose de olivier dans la wilaya de Bouira. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention de diplôme master : Université de Bouira : 47p.
66. **Khezri, M., Ghasem, I A., Ahangaran, A, 2019.** Detection and characterization of endophytic bacteria causing knot in young olive trees. *Acta agriculturae Slovenica*, 113 (1), 109 – 119
67. **Krid, S., Triki, M. A., Gargouri, A., Rhouma, A. 2012.** Biocontrol of olive knot disease by *Bacillus subtilis* isolated from olive leaves. *Annals of microbiology*, 62(1):149-154.
68. **Lamichhane, JR., Varvaro, L. 2013.** Epiphytic *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi* can infect and cause olive knot disease on *Olea europaea* subsp. *cuspidata*. *Austral as Plant Pathol* 42: 219– 225
69. **Lavermicocca, P., Lonigro, S., 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, 1403-1407. DOI: 10.1128/AEM.68.3.1403-1407.
70. **Le Driant, F., 2012.** Site internet <http://www.florealpes.com>.
71. **Maldonado-González, MM. Prieto P., Ramos C., Mercado-Blanco J. 2013.** From the root to the stem: interaction between the biocontrol root endophyte *Pseudomonas fluorescens* PICF7 and the pathogen *Pseudomonas savastanoi* NCPPB 3335 in olive knots. *Microbial Biotechnology*, 6(3):275-87.
72. **Marchi, G., Mori, B., Pollacci, P., Mencuccini, M., Surico, G. 2009.** Systemic spread of *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi* in olive explants. *Plant Pathology*, 58:152-158.

Références bibliographiques

73. **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.
74. **MENDIL, M., 2009.** L'oléiculture : Expériences algériennes. Le trait d'union des opérateurs économiques pour le Renouveau du Monde Agricole et Rural. *Filaha Innove*, n° 4, 6 p.
75. **Moretti, C., Ferrante P, Hosni, T, Valentini, F., D'Onghia, A. Fatmi, M., Buonauro, R, 2008.** Characterization of *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi* Strains Collected from Olive Trees in Different Countries. In: M'B. Fatmi et al. (eds.), *Pseudomonas syringae* Pathovars and Related Pathogens. Springer Science , 321-329
76. **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. Laboratoire de Valorisation et Conservation des Ressources Biologique (VALCORE), Faculté des sciences, Université de Boumerdes
77. **Pagnol, J. 1975.** L'olivier. Ed. Aubanel, Avignon, 180p.
78. **Pagnol, J. 1975.** L'olivier .4 Edition, 18p.
79. **Pinellip Galardia, C., Mulinaccia, N., Vinciera, F.F., Cimatob, A., Romania, A .2003.** Minor polar compound and fatty acid analytises in monocultivar virgin olive oils from Tuscany. *Food chemistry. Tuscany*, 80 (3):331-336.
80. **Polese, J. M., 2015.** L'olivier. Padoue Italie: Papergraf. p 93.
81. **Polese, J. 2007.** La culture oliviers .éditions Artémis pour la présente. P16-19-24 -27.
82. **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*," in *Plant Pathology*, ed. Cumagun C. J., editor. (INTECH Open Access Publisher), 299–326.
83. **Quesada, J.M., Penyalver, R., Perez-Panades. J., Salcedo, C.I., Cabolell, E.A. 2010.** Dissemination of *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi* populations ans subsequent appearance of olive knot disease, *Plant Pathology*, 9: 262-269.
84. **Quesada, J.M., Perez-Martinez, I., Ramos, C., Lopez, M.M., Penyalver, R., 2008.** IS53: an insertion element for molecular typing of *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi*. *Research in Microbiology* 159, 207–15.
85. **Rhizopoulou, S. 2004.** Symbolic plants of the Olympic Games. *Journal of experimental botany*, 55(403):601-606.

Références bibliographiques

86. **Rodriguez-Moreno, L., Jimenez, A.J., Ramos, C. 2009.** Endopathogenic lifestyle of *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi* in olive knots. *Microbial Biotechnology*, 2(4):476-488.
87. **Saad, D. 2009.** Etude des End mycorhizes de la variété Sigoise d'olivier (*Olea europaea* L.) et essai de leur application à des boutures semi-ligneuses. Mémoire Magister, Dép. Biot., Fac. Sc. nat. vie, Univ. Oran, 74 p.
88. **Saied, H.H.M., Hussein, M.A., 2017.** Growth, flowering, yield and oil characteristics of picual olives as affected by foliar application of vitamins and amino acids. *New York Journal*, 10(7):79-85.
89. **Salman, M., Greenhut, R., Preece, J., Ferguson, L., Kluepfel, D, 2020.** Field evaluation of olive (*Olea europaea*) genotypes for resistance to *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi*. *Journal of Plant Pathology*: 102:663–670
90. **Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun. W. 2001.** Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, APS Press. Sr Paul, Minnesota (US). Third edition, 373p.
91. **Senhaji, A, 1999.** Problématique de la tuberculose de l'olivier dans le plateau du Saiss. Journée national sur la protection de l'olivier, Marrakech le 27 mai 1999.
92. **Serdoun Bekri, N. 2013.** Détection de *Pseudomonas savastanoi*, agent causal de la tuberculose de l'olivier, évaluation et comparaison d'une technique d'isolement sur milieux de cultures et d'une technique sérologique (immunofluorescence). Mémoire de magister : Phytopharmacie. Oran : Université d'Oran, 58p.
93. **Serdoun, N., 2013.** Détection de *Pseudomonas savastanoi*, agent causal de la tuberculose de l'olivier. Evaluation et comparaison d'une technique d'isolement sur milieux de cultures et d'une technique sérologique (immunofluorescence). Mémoire de magister en phytopharmacie, sous la direction de Dr. Tendjaoui Bakh, Oran, Université d'Ahmed Ben Bella, 83p.
94. **Sharma, B., Singh, M. 2015.** Isolation and characterization of bacteria from cow dung of desi cow breed on different morpho-biochemical parameters in Dehradun, Uttarakhand, India. *International journal of advances in pharmacy, biology and chemistry*, 4(2), 276-281. ISSN: 2277-4688.
95. **Singleton, D.R., Powell, S.V., Sangaiah, R., Gold, A., Ball, L.M., Aitken, M.D. 2005.** Stable-isotope probing of bacteria capable of degrading salicylate, naphthalene, or phenanthrene in a bioreactor treating contaminated soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 1202.

Références bibliographiques

96. **Smidt, M., Kosuge, T., 2000.** Le rôle de l'indole-3-acétique par l'accumulation d'acide alpha-Méthyl-Tryptophane mutants résistants de *Pseudomonas syringae* dans la formation de galles au Laurier-rose. *Physiological Plant Pathology*, 13: 203-2014.
97. **Smith, E.F., 1908.** Recent studies on the olive-tubercle organism. U.S. Dept. Agr. Bur. Plant Indust. Bull. No. 131 Part, IV.
98. **Steel, K.J. 1960.** The oxydase Reaction as a Taxonomic Tool, National Collection of Type Cultures, Journal of General and Applied Microbiology, London N.W. 9, 25: 297-306.
99. **Surico, G., Lavermicocca, P. 1985.** Un milieu semi sélectif pour l'isolement de *Pseudomonas syringae* pv. *Savastanoi*, *Phytopathology*, 185-190p.
100. **Suslow, T. V., Schroth, M.N., Isaka, M., 1982.** Application of rapide method for Gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. *Phytopathology* , vol 72: 917-918
101. **Tsuji, M., Ohta, K., Tanaka, K., Takikawa Y. 2017.** Comparison among Japanese isolates of *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi*, causal agent of olive knot disease. *J Gen Plant Pathol* 83, 152–161
102. **Varhan, R, Bozkurt** technol 5:173gainst some fungal phytopathogens. r P, C Bacteria in Biological Control of Parsley Bacterial Leaf Spot Disease Agent *Pseudomonas syringae* pv. *apii* 1th International Congress of the Turkish Journal of Agriculture rial Leaf Spot and Technology, Antalya/TURKEY 231
103. **Villa, P. 2003.** La culture de l'olivier, Editions De Vecchi S.A. Paris, 143p.
104. **Wilson, E.E., Gawa, J.M. 1979.** Fungal, bacterial, and certain non parasitic diseases of fruit and nut crops in California, Division of Agricultural Sciences, University of California, Berkeley, USA, ISBN 093187629X.
105. **Young, J., 2004.** Olive knot and its pathogens. *Australian Plant Pathology*, 33: 33–39
106. **Young, J., Triggs, C.M. 1996.** L'évaluation des testes déterminant pour Pthovar de *Pseudomonas syringae* van Hall 1902. *Journal of Applied Bacteriology*, 195-207p.
107. **Young, J.M., Saddler, G.S., Takikawa, Y., De Boer, S.H., Vaquterin, L., Gardan, L., Gvozdyak, R.I., Stead De., 1996.** Names of plant pathogenic bacteria. Review of plant pathology, 75: 721-763.
108. **Zitouni Fifi, A. H., 2019.** Caractérisation morphologique et étude phytochimique de l'extrait des feuilles de trois variétés d'olivier *olea europaea* L. dans la région de Biskra

Annexes



ANNEXE

Composition des milieux cultures :

Milieu Levane

Saccharose.....	50,0 g
Gélose nutritive.....	23,0 g
Glucose D+.....	05,0 g
Eau distillée.....	01,0 L

Milieu King B

Protéase peptone.....	20,0 g
Glycérine bi distillé (Glycérol).....	10,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO ₄ ,7 H ₂ O).....	1,50 g
Potassium phosphate dibasique (K ₂ HPO ₄).....	1.50 g
Agar bactériologique.....	15,0 g
Eau distillée.....	01,0 L

Milieu YPGA

Extrait de levure.....	05,0 g
Protéase peptone.....	05,0 g
Glucose.....	10,0 g
Agar bactériologique.....	20,0 g
Eau distillée.....	01,0 L

Milieu SM

Protéase peptone.....	05,0 g
Extrait de levure.....	03,0 g
Poudre de lait.....	10,0 g
Agar bactériologique.....	12,0 g
Eau distillée.....	01,0 L

Etude de pouvoir phytopathogènes de quelques souches de *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* et essais de la lutte.

Résumé:

L'oléiculture occupe une place importante dans les pays méditerranéens mais la production est encore limitée et n'a pas atteint les résultats escomptés en raison de la propagation de plusieurs maladies qui touchent la productivité de l'olivier. Notre travail concerne une de ces maladies et qui est la tuberculose de l'olivier causée par *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*. L'objectif de notre travail est d'une part, La caractérisation macroscopique et biochimique de deux souches de *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* et l'étude de pouvoir phytopathogène à elle et d'autre des essais de lutte en utilisant des souches bactériennes endophytes de l'olivier.

Les résultats de notre recherche ont montré que les deux souches de *P.savastanoi* (PS1 et PS13) sont Gram négatif, oxydase négatif, Levane négatif, catalase positif, pectinase négatif, fluorescente sur le milieu King B et elles induisent une réaction d'hypersensibilité sur les feuilles du tabac dans les 18 h après inoculation., les deux souches induisent la formation des nœuds sur les quatre variétés de l'olivier (chemlal, sigoise, Arbequina, azeradj), avec une sensibilité marquée de la variété chemlal. Les deux souches ne forment pas des nœuds sur le jasmin blanc, le jasmin d'hiver et laurier rose

Concernant les essais de lutte contre les deux souches de *P savastanoi*, les tests d'antagoniste ont montré que la souche B27 était la bactérie la plus efficace avec une zone d'inhibition entre de 24 à 31 mm suivie de la souche B21 puis la souche 31.

Mots clés:

***Pseudomonas savastanoi*, Olivier, Pouvoir pathogène, Antagoniste**

Study of the phytopathogenic power of some strains of *Pseudomonas savastanoi* PV *savastanoi* and control trials.

Summary:

Olive growing occupies an important place in the Mediterranean countries but production is still limited and has not achieved the expected results due to the spread of several diseases which affect the productivity of the olive tree. Our work concerns one of these diseases and which is knot olive tree caused by *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*. The objective of our work is on the one hand, The macroscopic and biochemical characterization of two strains of *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* and the study of its phytopathogenic power and other control trials using endophyte bacterial strains of the olive tree.

The results of our research showed that the two strains of *P.savastanoi* (PS1 and PS13) are Gram negative, Oxidase negative, Levane negative, Catalase positive, pectinase negative, fluorescent on King B medium and they induce a hypersensitivity reaction on tobacco leaves within 18 h after inoculation., the two strains induce the formation of knots on the four varieties of olive tree (chemlal, sigoise, Arbequina, azeradj), with a marked sensitivity of the chemlal variety.. Both stems do not form knots on white jasmine, winter jasmine and oleander

Concerning the tests against the two strains of *P savastanoi*, the antagonist tests showed that the strain B27 was the most effective bacterium with a zone of inhibition between 24 and 31 mm followed by strain B21 then strain 31.

Key words:

***Pseudomonas savastanoi*, Olive tree, Pathogenic power, Antagonist.**

دراسة القوة الممرضة للنبات لبعض سلالات *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* وتجارب التحكم.

ملخص:

تحتل زراعة الزيتون مكانة مهمة في دول البحر الأبيض المتوسط ولكن الإنتاج لا يزال محدوداً ولم يحقق النتائج المتوقعة بسبب انتشار العديد من الأمراض التي تؤثر على إنتاجية شجرة الزيتون. يتعلق عملنا بأحد هذه الأمراض وهو مرض السل الذي يصيب شجرة الزيتون الناجم عن *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*، والهدف من عملنا هو من جهة التوصيف الميكروسكوبي والكيميائي الحيوي لسلالتين من *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* ودراسة قوتها المسببة للأمراض النباتية وتجارب التحكم الأخرى باستخدام سلالات بكتيرية نبات داخلية من شجرة الزيتون.

أظهرت نتائج بحثنا أن سلالاتي *P. savastanoi* (PS1 و PS13) هي سالبة الجرام، سالبة أوكسيديز، سالبة الليفين، موجبة الكاتالاز، سالبة البكتيناز، الفلورسنت على وسط King B وتحفز تفاعل فرط الحساسية على أوراق التنغ داخلها. بعد 18 ساعة من التلقيح، تحفز السلالتان على تكوين عقدة على الأصناف الأربعة من شجرة الزيتون (شمال، سيجواز، أبيكوينا، أزردج)، مع حساسية ملحوظة من الصنف chemlal. كلا السيقان لا يشكلان عقدة على الأبيض الياسمين، الياسمين الشتوي، الدفلى

بالنسبة للاختبارات التي أجريت على سلالاتي *P savastanoi*، فقد أظهرت الاختبارات المضادة أن السلالة B27 كانت البكتيريا الأكثر فعالية مع منطقة تثبيط تتراوح بين 24 و 31 ملم تليها سلالة B 21 ثم سلالة 31.

الكلمات المفتاحية:

***Pseudomonas savastanoi*، شجرة الزيتون، القوة المسببة للأمراض، مناهض**