

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT D'AGRONOMIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP. Agro/2021

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

Domaine : SNV Filière : Sciences agronomiques

Spécialité : Phytopathologie

Présenté par :

KHETTARI Cylia

Thème

**Contribution à l'étude de la tuberculose de l'olivier causée par
Pseudomonas savastanoi dans la wilaya de Bouira.**

Soutenu le: 15 /07/2021

Devant le jury composé de :

Nom et Prénoms

Grade

MENZER Nour Eddine

MCB

Univ. de Bouira

Président

MEBDOUA Samira

MCB

Univ. de Bouira

Promotrice

BOUBEKKA Nabila

MCA

Univ. de Bouira

Examinatrice

HASSOUNA Mohamed Amine

Doctorant

Univ. de Bouira

Co-promoteur

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

*En premier lieu : nous tenons à remercier notre **Dieu** notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.*

Ces remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la Faculté SNV pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

*Mes remerciements s'adressent également à notre encadrante **MEBDOUA.S** maître de conférences à l'université de Bouira pour avoir accepté de diriger ce travail pour leur soutien leur confiance et leur patience avec nous qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail et ses compétences nous ont été d'une aide inestimable, qu'elle trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité. Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury le président **Mr MENZER Nour Eddine** et l'examinatrice **Mme BOUBEKKA Nabila** qui ont accepté d'évaluer notre travail et de nous avoir honorés par leur présence.*

*Nos remerciements s'étendent également à Madame **SAYAH** professeure 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 **ABDELAZIZ Chrif** et sans oublier les fellahs qui nous ont accepté dans leur stations pour réaliser se modeste travaille.*

*Nous tient à remercier aussi Monsieur **MARDOUD Rabah** délégué communal d'El Asnam Bouira pour son aide, sa patience et ces informations sur notre thème et notre travail.*

A nos familles et nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles.

Enfin, on remercie tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*A la personne qui toujours avec moi, mon très cher **père** qui a sacrifié ses jours et ses nuits mon éducation et mon bien être, et pour tout ce qu'il a fait pour moi.*

*A ma très chère et douce **maman**, qui est toujours prière de moi, m'encourage, me conseille, me soutient et qui n'a jamais cessé de prier pour moi. Aucun mot ne peut exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu as fait depuis ma naissance à ce jour, Merci maman, que dieu te garde et te protège.*

*A mon très cher frère **Facine** et mes deux sœurs **Rachida** et **Amina** Quisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.*

A mes chères amies et camarades et à tous ceux qui m'ont aidé, conseillé et soutenu pour que ce travail soit accompli je les souhaite plus de succès.

A toute ma famille je leur remercie du fond du cœur pour leurs encouragements et leur soutien.

A tous ceux que j'aime.

Khettari Pylia

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principales variétés d'olivier cultivées dans les pays méditerranéens.....	07
Tableau 02 : Les variétés nationales les mieux connus sont recommandés dans les régions d'origine.....	08
Tableau 03 : La répartition mondiale de l'Olivier.....	09
Tableau 04 : Synthèses des travaux sur la tuberculose en Algérie.....	20
Tableau 05 : Les réactifs ajoutés après la période d'incubation.....	34
Tableau 06 : Vergers visités d'avril à juin.....	38
Tableau 07 : Information générale sur les parcelles visitées d'avril à juin.....	39
Tableau 08 : Résultats de la caractérisation phénotypique.....	41
Tableau 09 : Résultats du test de LOPAT.....	42
Tableau 10 : Résultats de la caractérisation phénotypique sur Levane.....	42
Tableau 11 : Résultats des autres tests biochimiques.....	46
Tableau 12 : Résultats de la Galerie API 20 E.....	49
Tableau 13 : Résultats des tests de pathogénéité.....	50

Liste des figures

Figure 01 : les principales parties d'un olivier	05
Figure 02 : Tops 10 des pays producteurs d'olives dans le monde.....	02
Figure 03 : Evolution de la production d'olive en Algérie durant la période 1961-2019.....	10
Figure 04 : Des tumeurs formées sur le tronc	15
Figure 05 : Des tumeurs formées sur les rameaux	15
Figure 06 : Des tumeurs formées sur les feuilles	16
Figure 07 : la chute des feuilles et des branches	16
Figure 08 : Carte géographique et administratives de la wilaya de Bouira.....	22
Figure 09 : Localisation géographique de la région d'El Asnam de wilayas de Bouira.....	23
Figure 10 : Flacons contenant de king B	26
Figure 11 : Etapes d'Isolement du <i>Pseudomonas savastanoi</i> à partir des tumeurs	28
Figure 12 : Tubes de conservation des isolats bactériens	29
Figure 13 : Matériel utilisé dans test oxydase	31
Figure 14 : Colonies bactériennes déposées sur des tranches de PDT	31
Figure 15 : Injection des suspensions bactériennes dans les feuilles du Tabac	32
Figure 16 : Fiche de résultat	35
Figure 17 : Crème bactérienne posée dans des différents rameaux	36
Figure 18 : Test de pathogénésité réalisé sur des tranches de carotte	37
Figure 19 : Symptômes observés sur les rameaux et le tronc	40
Figure 20 : Résultats de test Levane	43
Figure 21 : Résultat de test oxydase	43
Figure 22 : Résultat de test pictinase	44

Figure 23 : Résultat de test d'Arginine dihydrolase (ADH)	45
Figure 24 : Résultat de test d'hypersensibilité sur feuilles de Tabac), Haut : Réactions observées après 24h (souche 1 et 2°); Bas : Réaction observée après 7 jours (souche03).....	46
Figure 25 : Résultat de test KOH	47
Figure 26 : Résultat positif du test catalase (Originale).....	48
Figure 27 : Résultat de test de fluorescence sous lampe UV	48
Figure 28 : Résultats de test phytopathogénéité de l'olivier	51
Figure 29 : Résultat de test de pathogénéité des tranches de carotte	52
Figure 30 : résultats de la PCR.....	53

Liste des abréviations

AFIDOL : Fiche technique de l'Afidol.

COI : Conseil Oléicole International.

DSA : Direction des Services Agricoles.

INPV : Institut Nationale de Protection des Végétaux.

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique.

NSA : Nutrient Sucrose Agar.

PCR : Test d'arginine dihydrolase.

pv : Pathovar.

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I - Synthèse bibliographique sur l'olivier	03
I.1.Histoire et origine	03
I.2.Systematique de l'Olivier.....	03
I.3.Description de l'Olivier.....	04
I.4. Condition de culture	06
I.5. Principales variétés de l'olivier.....	07
I.6. Répartition géographique et production	09
I.7. Culture de l'olivier	10
I.8. Donnés bibliographique sur les maladies de l'Olivier.....	13
Chapitre II - Synthèse bibliographique sur la tuberculose de l'olivier.....	14
II.1. Définition.....	14
II.2. Les symptômes.....	14
II.3. Systematique de <i>Pseudomonas savastanoi</i>	17
II.4. Pouvoir pathogène.....	17
I.5. Cycle de la maladie.....	18
I.6. Impact de la maladie.....	18
I.7. Gestion de la maladie.....	19
II.8. La répartition géographique de la tuberculose d'olivier.....	19
I.9. Plantes hôtes.....	19
II.10. Les moyens de lutte.....	19
II.11. Les travaux réalisés sur la tuberculose en Algérie.....	20

Chapitre III - Matériel et méthodes.....	22
III.1. Présentation de la région de Bouira.....	22
III.2. Matériel et méthodes.....	23
III.2.1. Prospection sur terrain.....	24
III.2.1.1. Fiche d'enquêtes	24
III.2.2. Echantillonnage	24
III.2.3. Isolement de <i>Pseudomonas savastanoi</i> à partir des nœuds	25
III.2.4. Tests biochimiques	30
III.2.5. Tests de pathogénéité	35
III.2.6. Test PCR (Polymerase Chain Reaction)	37
Chapitre IV - Résultats et discussions	38
IV.1. Prospections des parcelles visitées.....	38
IV.2. Description de la parcelle prélevée	40
IV.3. Résultats des tests effectués	41
IV.3.1. Taille et poids des nœuds prélevés	41
IV.3.2. Isolement et purification des souches de <i>Pseudomonas savastanoi</i>	41
IV.3.3. Description macroscopique des trois isolats.....	41
IV.3.4. Tests biochimiques	42
IV.3.5. Tests de pathogénéité	50
IV.3.6. Test PCR (Polymerase Chain Reaction).....	52
Conclusion	54

Références bibliographique

Annexe

Chapitre III - Matériel et méthodes.....	22
III.1. Présentation de la région de Bouira.....	22
III.2. Matériel et méthodes.....	23
III.2.1. Prospection sur terrain.....	24
III.2.1.1. Fiche d'enquêtes	24
III.2.2. Echantillonnage	24
III.2.3. Isolement de <i>Pseudomonas savastanoi</i> à partir des nœuds	25
III.2.4. Tests biochimiques	30
III.2.5. Tests de pathogénéité	35
III.2.6. Test PCR (Polymerase Chain Reaction)	37
Chapitre IV - Résultats et discussions	38
IV.1. Prospections des parcelles visitées.....	38
IV.2. Description de la parcelle prélevée	40
IV.3. Résultats des tests effectués	41
IV.3.1. Taille et poids des nœuds prélevés	41
IV.3.2. Isolement et purification des souches de <i>Pseudomonas savastanoi</i>	41
IV.3.3. Description macroscopique des trois isolats.....	41
IV.3.4. Tests biochimiques	42
IV.3.5. Tests de pathogénéité	50
IV.3.6. Test PCR (Polymerase Chain Reaction).....	52
Conclusion	54

Références bibliographique

Annexe

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I - Synthèse bibliographique sur l'olivier	03
I.1.Histoire et origine	03
I.2.Systematique de l'Olivier.....	03
I.3.Description de l'Olivier.....	04
I.4. Condition de culture	06
I.5. Principales variétés de l'olivier.....	07
I.6. Répartition géographique et production	09
I.7. Culture de l'olivier	10
I.8. Donnés bibliographique sur les maladies de l'Olivier.....	13
Chapitre II - Synthèse bibliographique sur la tuberculose de l'olivier.....	14
II.1. Définition.....	14
II.2. Les symptômes.....	14
II.3. Systematique de <i>Pseudomonas savastanoi</i>	17
II.4. Pouvoir pathogène.....	17
I.5. Cycle de la maladie.....	18
I.6. Impact de la maladie.....	18
I.7. Gestion de la maladie.....	19
II.8. La répartition géographique de la tuberculose d'olivier.....	19
I.9. Plantes hôtes.....	19
II.10. Les moyens de lutte.....	19
II.11. Les travaux réalisés sur la tuberculose en Algérie.....	20

Chapitre III - Matériel et méthodes.....	22
III.1. Présentation de la région de Bouira.....	22
III.2. Matériel et méthodes.....	23
III.2.1. Prospection sur terrain.....	24
III.2.1.1. Fiche d'enquêtes	24
III.2.2. Echantillonnage	24
III.2.3. Isolement de <i>Pseudomonas savastanoi</i> à partir des nœuds	25
III.2.4. Tests biochimiques	30
III.2.5. Tests de pathogénéité	35
III.2.6. Test PCR (Polymerase Chain Reaction)	37
Chapitre IV - Résultats et discussions	38
IV.1. Prospections des parcelles visitées.....	38
IV.2. Description de la parcelle prélevée	40
IV.3. Résultats des tests effectués	41
IV.3.1. Taille et poids des nœuds prélevés	41
IV.3.2. Isolement et purification des souches de <i>Pseudomonas savastanoi</i>	41
IV.3.3. Description macroscopique des trois isolats.....	41
IV.3.4. Tests biochimiques	42
IV.3.5. Tests de pathogénéité	50
IV.3.6. Test PCR (Polymerase Chain Reaction).....	52
Conclusion	54

Références bibliographique

Annexe

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I - Synthèse bibliographique sur l'olivier	03
I.1.Histoire et origine	03
I.2.Systematique de l'Olivier.....	03
I.3.Description de l'Olivier.....	04
I.4. Condition de culture	06
I.5. Principales variétés de l'olivier.....	07
I.6. Répartition géographique et production	09
I.7. Culture de l'olivier	10
I.8. Donnés bibliographique sur les maladies de l'Olivier.....	13
Chapitre II - Synthèse bibliographique sur la tuberculose de l'olivier.....	14
II.1. Définition.....	14
II.2. Les symptômes.....	14
II.3. Systematique de <i>Pseudomonas savastanoi</i>	17
II.4. Pouvoir pathogène.....	17
I.5. Cycle de la maladie.....	18
I.6. Impact de la maladie.....	18
I.7. Gestion de la maladie.....	19
II.8. La répartition géographique de la tuberculose d'olivier.....	19
I.9. Plantes hôtes.....	19
II.10. Les moyens de lutte.....	19
II.11. Les travaux réalisés sur la tuberculose en Algérie.....	20

Chapitre III - Matériel et méthodes.....	22
III.1. Présentation de la région de Bouira.....	22
III.2. Matériel et méthodes.....	23
III.2.1. Prospection sur terrain.....	24
III.2.1.1. Fiche d'enquêtes	24
III.2.2. Echantillonnage	24
III.2.3. Isolement de <i>Pseudomonas savastanoi</i> à partir des nœuds	25
III.2.4. Tests biochimiques	30
III.2.5. Tests de pathogénéité	35
III.2.6. Test PCR (Polymerase Chain Reaction)	37
Chapitre IV - Résultats et discussions	38
IV.1. Prospections des parcelles visitées.....	38
IV.2. Description de la parcelle prélevée	40
IV.3. Résultats des tests effectués	41
IV.3.1. Taille et poids des nœuds prélevés	41
IV.3.2. Isolement et purification des souches de <i>Pseudomonas savastanoi</i>	41
IV.3.3. Description macroscopique des trois isolats.....	41
IV.3.4. Tests biochimiques	42
IV.3.5. Tests de pathogénéité	50
IV.3.6. Test PCR (Polymerase Chain Reaction).....	52
Conclusion	54

Références bibliographique

Annexe

INTRODUCTION

Introduction

Dans le bassin méditerranéen, l'olivier (*Olea europaea. L*) constitue une essence fruitière principale, tant par le nombre de variétés cultivées que par l'importance sociale et économique de sa culture et de son rôle environnemental. Pour les algériens et tous les musulmans, l'olivier et son huile est cité dans le saint Coran et Hadith comme étant un arbre béni ; il est considéré comme un arbre de multiples donations et bienfaits.

Gomes *et al.*, (2012), ont indiqué l'existence de plus 805 millions d'oliviers dans le monde entier dont 98% sont concentrés sur le pourtour méditerranéen. En fait, le patrimoine génétique oléicole mondial est très riche en variétés. Il est constitué par plus de 2,600 variétés différentes (Muzzalupo *et al.*, 2014).

En Algérie, l'olivier compte environ 32 millions d'arbres (Bensemmane, 2009 ; Mendil, 2006), répartie sur une superficie d'environ 328.884 hectares (FAOSTAT, 2013), soit 34,09% du verger arboricole national. L'oléiculture algérienne est située principalement dans la partie nord du pays, où la plupart des vergers (80%) sont situés dans des zones montagneuses avec des sols pauvres.

L'olivier présente une remarquable rusticité et une plasticité lui permettant de produire dans des conditions difficiles (adaptation à une large gamme de sol et une insuffisance de l'irrigation), mais sa productivité reste toujours limitée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques.

L'olivier est sujet à différents types d'attaques d'origine fongique, bactérienne ou ravageurs qui peuvent réduire la capacité de production, par conséquent, causer de lourdes pertes économiques. C'est l'exemple de la tuberculose de l'olivier, une maladie incurable, causée par *Pseudomonas savastanoi*. En cas d'infestation, la seule solution est de déraciner les arbres atteintes, les brûler afin d'éviter la propagation et de stériliser les outils de taille des oliviers après chaque usage. En Algérie, la maladie a été détectée depuis la période coloniale. En effet, chaque année des foyers de tuberculose sont signalés dans des exploitations agricoles implantées dans plusieurs wilayas. 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 infectés par la tuberculose de l'olivier. Jusqu'à présent, et en absence de statistique officielle, les régions atteintes par l'infection pourraient être beaucoup plus vaste.

L'objectif principal de cette étude est de :

- isoler de l'agent causal *Pseudomonas savastanoi* à partir des oliviers présentant les symptômes de la tuberculose de l'olivier dans la région de l'El Asnam à Bouira .
- caractériser les souches de *Pseudomonas savastanoi* isolées sur le plan morphologiques et biochimiques et biologiques
- confirmer l'identité de ce pathogène par des tests de phytopathogénéité et des tests moléculaires

Le document commence par cette introduction et il comporte les quatre chapitres suivant :

- chapitre I : consacré aux données bibliographiques sur l'olivier et ses maladies,
- chapitre II : consacré aux données bibliographiques sur la tuberculose de l'olivier
- chapitre III qui renferme le matériel utilisés et les méthodologies adoptées
- chapitre IV : regroupe les résultats et discussions

Le document termine par une conclusion générale et des perspectives.

CHAPITRE I

I.1.Histoire et origine

D'après (Young, 2004) l'origine de l'olivier n'est pas du tout certain. Contrairement à son nom, il serait originaire des contrées de l'Asie qui semblent avoir été le berceau des civilisations méditerranéennes. On pense qu'il fut transporté ensuite en Égypte et de là, dans le Maghreb d'une part et en Grèce d'autre part.

L'olivier cultivé, quoi qu'il en soit de ses origines, est un arbre bien typique qui existe maintenant sur tout le pourtour méditerranéen. Il a été introduit dans certaines régions, qui ont un climat de type méditerranéen, avec succès (Californie, Afrique du Sud, Australie), ainsi qu'au Japon, au Mexique, au Brésil et en Argentine.

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

I.2.Systématique de l'Olivier

L'olivier méditerranéen (*Olea europaea* subsp. *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:

L'olivier appartient à :

- 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*.

Green (2002) a classé 33 espèces et neuf sous-espèces dans le genre *Olea*. Le complexe *Olea europaea* comprend six sous-espèces: *O. europaea subsp. europaea*, *O. europaea subsp. cuspidata*, *O. europaea subsp. laperrinei*, *O. europaea subsp. maroccana*, *O. europaea subsp. cerasiformis* et *O. europaea subsp. guanchica*.

L'olivier cultivé et ses espèces sauvages apparentées méditerranéennes ont en outre été reconnus comme différentes variétés et, respectivement, définies comme *O. e. subsp. europaea var. europaea* et *O. e. subsp. europaea var. sylvestris* (Green, 2002).

I.3.Description de l'Olivier

L'Olivier est toujours vert. Ses dimensions et ses formes varient avec les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol, les variétés, il peut atteindre 12 à 15 mètre de hauteur et son tronc se maintient le plus souvent élancé de bas en haut. L'Olivier se présente en système racinaire, tronc, écorce, feuilles, fleurs, fruits, rameaux (Benedicte, 2015) (Fig.01).

I.3.1.Le système racinaire

D'après Benedicte (2015) Le système racinaire s'adapte à la structure des sols et n'émet des racines profondes que si les conditions d'alimentation sont difficiles. Il reste généralement, à une profondeur de 50 à 70 cm. Ce système racinaire de l'Olivier forme sous le tronc une souche ligneuse très importante dans laquelle s'accumulent des réserves, surtout si les conditions de son alimentation sont difficiles.

I.3.2.Tronc

Selon Benedicte (2015) le tronc est jaunâtre puis passe au brun très clair. Il est très dur, compacte, court, trapu (jusqu'à 2m de diamètre), et porte des branches assez grosses, tortueuses, et lisse.

I.3.3. Ecorce

L'écorce est très mince, percevant le moindre choc mécanique et sous le coup se déchire facilement. L'épiderme devient épais, rude, crevassé et se détache en plaque (Benedicte, 2015).

I.3.4. Feuilles

Les feuilles sont persistantes, opposées, coriaces, ovales oblongues, à bord entiers et un peu enroulés, portées par un court pétiole. Elles ont une couleur vert grisâtres à vert sombre dessus blanchâtre et à une seule nervure dessous). Très souvent, elles contiennent des matières grasses, des cires, des polyphénols, des chlorophylles, des acides, des gommés et des fibres végétales (Jilani *et al.*, 2016).

I.3.5. Fleurs

Elles sont gamopétales, très petites, d'un blanc tirant vers le vert, réunies en grappes auxiliaires inversées de chaque côté à base de chaque pédoncule. La formule florale est de 4 sépales incomplètement soudés; 4 pétales linéaires; 1 androcée à 2 carpelles concrescents en un ovaire à 2 loges et 2 ovules (Benedicte, 2015).

I.3.6. Fruit

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, de forme variable suivant les variétés à pulpes charnue huileuse (Benedicte, 2015).

I.3.7. Rameaux

Les jeunes pousses ont une écorce claire avec une section quadrangulaire, mais elles s'arrondissent en vieillissant et leur couleur passe au vert gris puis au gris brun. Elles donnent ensuite un bois très dur, compact, de couleur jaune fauve marbrée de brun (Benedicte, 2015).

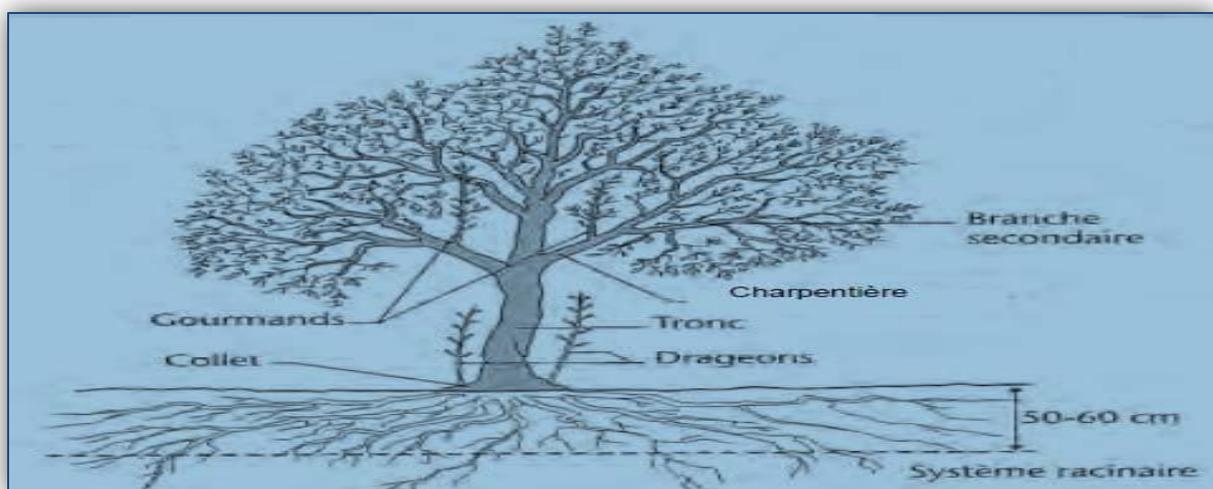


Figure 01 : les principales parties d'un olivier (AFIDOL).

I.4. Condition de culture

I. 4.1. Température

Daniel (2015) signale que la résistance de l'Olivier au froid varie selon son stade végétatif. En décembre et janvier si le refroidissement est progressif, il peut supporter des températures de l'ordre -8° C. Toutefois, l'Olivier a besoin d'une période de refroidissement hivernal inférieur à $+7^{\circ}$ C. pour assurer une bonne induction florale. La durée de cette période peut varier avec la variété. Sa culture est possible en altitude jusqu'à 900 m environ mais la neige par son poids peut provoquer la rupture des charpentières. Dans les zones où les chutes de grêle sont fréquentes, la culture de l'Olivier doit être écartée, pour les risques de destructions du jeune bois, du feuillage et des fruits.

I. 4.2. Pluviométrie

D'après Daniel (2015) la pluviométrie et la nature du sol sont des facteurs déterminants. A moins de 500 mm de pluie, la culture sans le recours à l'irrigation ne peut être économiquement rentable. L'humidité atmosphérique peut être utile dans la mesure où elle n'est pas excessive (plus de 60 %) ni constante. Il est à signaler que les zones littorales, sous l'influence des vents marins chargés d'humidité et d'embruns, sont déconseillées.

I.1.6.3. Sol

D'après Daniel (2015) la faculté d'adaptation de l'Olivier aux différents types de sol est grande, mais les sols fortement argileux, compacte, humide, ou se ressuyant mal sont à écarter des plantations. Les sols ne dépassants pas 30% d'argile, avec une structure grossière et non fine ou compacte, humide, ou se ressuyant mal son installation est possible mais demande beaucoup de soin en particulier durant la saison sèche, pour éviter les craquellements du sol. Les sols calcaires jusqu'à un $\text{pH} = 8$ peuvent lui convenir, par contre les sols acides avec un $\text{pH} = 5,5$ sont à éviter. Ce même auteur signale qu'en ce qui concerne, la teneur en sel des eaux d'irrigation la tolérance peut atteindre 3 g/L en résidus secs. Pour une pluviométrie égale ou supérieure à 500 mm et de 1 g/L pour une pluviométrie inférieure à 500 mm, ce qui permet d'assurer le lessivage en absence d'irrigation.

I.5. Principales variétés de l'olivier

I.5.1. Variétés dans le monde

Il y a actuellement plus de 2000 variétés d'olivier recensées dans le monde et chaque pays privilégie certains cultivars (Breton, 2006) qui sont mentionnés dans le tableau 01.

Tableau 01: Principales variétés d'olivier cultivées dans les pays méditerranéens (C.O.I, 2006).

Pays producteurs	Variétés principales
Espagne	Picaul, cornicabra, hojibianca, gordal, manzanilla.
Italie	Trantoio, leccino, moraiolo, ascolona, tenera.
Grèce	Koroneiki, mastoidis, concerviola, kalamata.
Portugal	Verdal, carrasquenha, galega, redonli.
France	Sabina, verdal, picholin, tanche, lucques.
Turquie	Ayvalik, cakir, gemilk.
Syrie	Sorani, zaiti.
Maroc	Picholine marrocaïne.
Algérie	Chemlal, limli, azeradj, sigoise.
Tunisie	Chemlal, chetoui, ouslati, meski

.En rouge : variétés à huile. En bleu : variétés mixtes. En vert : variétés d'olives de table.

I.5.2. Variété Algérienne de l'olivier

L'Algérie dispose d'un patrimoine constitué de 164 cultivars autochtones et introduits de toute la méditerranée et qui sont mentionnés dans le tableau 02.

Tableau 02: Les variétés nationales les mieux connus sont recommandés dans les régions d'origine (Saad, 2009).

Variétés et synonymes	Origines et diffusion	Caractéristiques
Var. Azeradj	Petit Kabylie (oued Soummam), occupe 10% de la surface oléicole Nationale.	Arbre rustique et résistant à la sécheresse. fruit de poids élevé et de forme allongée. utilisée pour la production d'huile et olive de table, rendement en huile de 24 à 28%.
Chemlal Syn. Achemlal	Occupe 40% des verges oléicole national, « présent surtout en Kabylie » s'étend des monts Zekkar à l'ouest aux Bibans à l'est	Variété rustique, et tardive, le fruit et de poids faible et de forme allongée, destiné à la production d'huile, le rendement d'huile de 18 à 22%
Bouricha, olive d'El-Arouch	El-Harrouch, Skikda	Arbre rustique, résistant au froid et à la sécheresse ; poids faible du fruit et de forme allongée, production d'huile, rendement de 18 à 22%.
Blanquette de Guelma	Originaire de Guelma ; assez répandue dans le nord-est constantinois, Skikda et Guelma	Sa rigueur moyenne, résistant au froid et moyennement à la sécheresse ; le fruit de poids moyen et de forme ovoïde, destiné à la production d'huile, le rendement de 18 à 22% ; la multiplication par bouturage herbacé donne un bon résultat 43.4%

I.6. Répartition géographique et production

I.6.1. **Au monde** : Des 800 millions d'arbres d'Olivier, 26,6 % sont cultivé en Espagne, 24,2 % en Italie, 12,3% en Grèce, 9,3 % en Turquie, 6,8 % en Tunisie et seulement 2 % en Algérie. Le tableau 03 représente la répartition mondiale de l'Olivier (Maillard, 1975).

Tableau 03: La répartition mondiale de l'Olivier.

Paye	Répartition de l'Olivier
-Europe Méditerranéenne	71 % des arbres sur 60 % des surfaces
-Proche Orient	13 % des arbres sur 11 % des surfaces
-Afrique du nord	13 % des arbres sur 23 % des surfaces
Amérique latine et les U.S.A	3 % des arbres sur 2 % des surfaces

Selon les dernières études FAOSTAT (2021) les tops 10 des pays producteurs d'olives dans le monde pour l'année 2019 (Fig.02) sont : Espagne, Italie Maroc Turquie, Grèce, Egypte, Portugal, Tunisie, Algérie, république arabe syrienne.

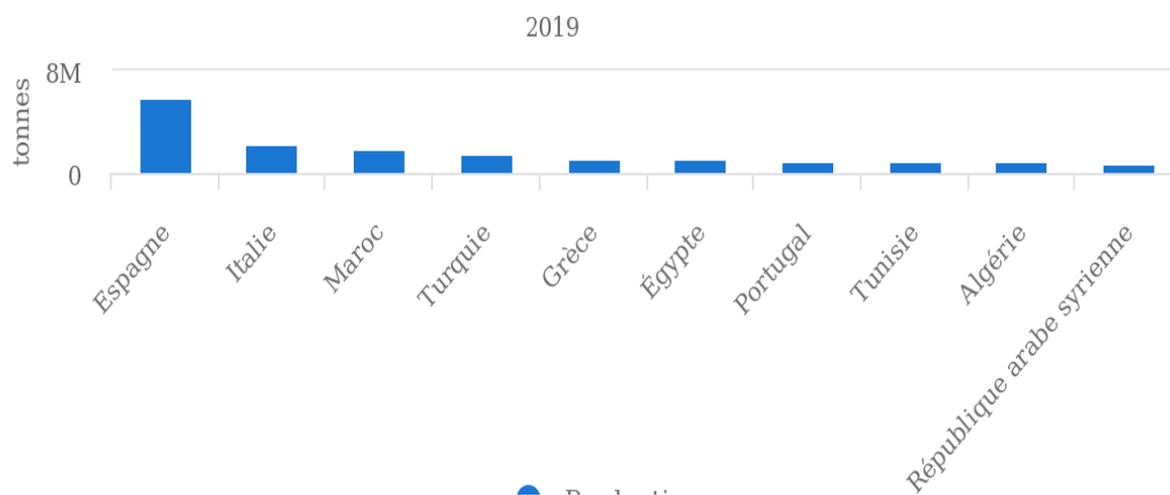


Figure 02 : Les dix des pays producteurs d'olives dans le monde.

I.6.2. **En Algérie** : L'olivier représente la plus importantes cultures arbustive de l'Algérie, couvrant environ 431 634ha durant l'année 2019 (Faostat, 2021),. 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 868 754 tonnes en 2019 (Fig.03), alors que celle de l'huile d'olive vierge est de 96 632 tonnes (FAOSTAT,2021).

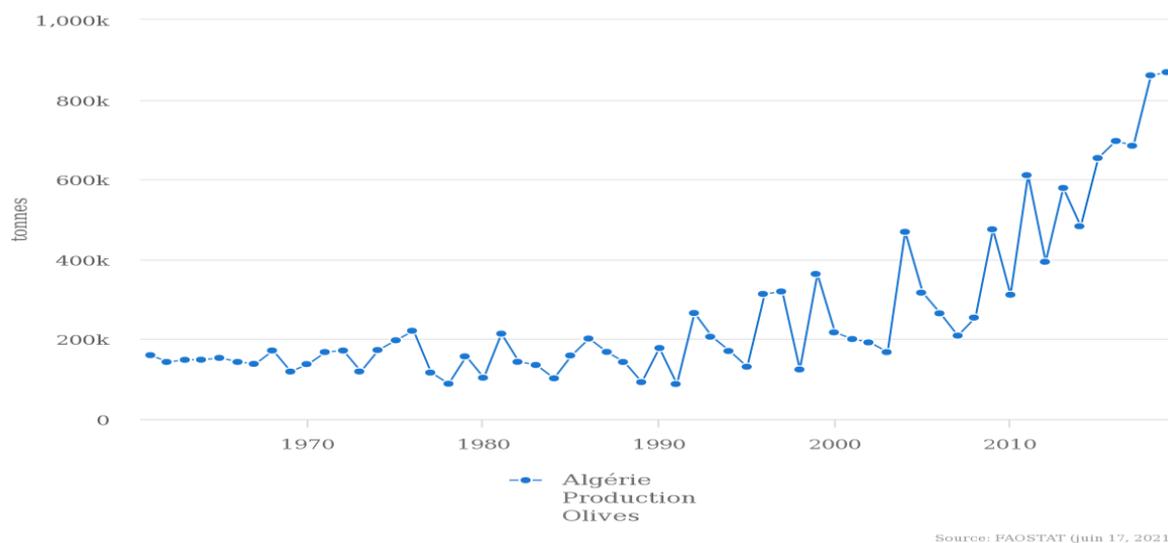


Figure 03 : Evolution de la production d'olive en Algérie durant la période 1961-2019.

I.7. Culture de l'olivier

1) Choix de la variété

La production d'olive et la qualité d'huile extraite dépendent très fortement du cultivar, c'est bien le matériel végétal. Donc le choix des variétés est devenu un aspect important. (Ouaouich et Chimi, 2007). MENDIL (2006), a souligné que l'importance qu'avait le choix de la variété est capitale, il est nécessaire de respecter :

- L'adaptation de la variété aux conditions locales.
- Le type de production (huile ou olives de table).
- La vigueur, le développement et le port de l'arbre.
- La multiplication facile.
- Le mélange variétal (favoriser la pollinisation).

Selon TOMBESI (2007), le choix de la variété peut être aussi fait en fonction des critères suivant :

- Précocité d'entrée en production et récolte abondante.
- Qualité de l'huile.
- Tolérance aux sols calcaires.
- Tolérance à la salinité.
- Tolérance aux maladies.

2) La densité :

Pour MENDIL (2006), la densité de plantation varie selon la nature du sol, les ressources en eau, la variété et le port de l'arbre et l'orientation de la production. LOUSSERT et BROUSSE (1978) signalent qu'une distance minimale de 6 m doit être laissée entre les rangs. Elle est portée à 7 m entre les oliviers. La distance entre arbres sur le rang est modulable selon les variétés entre 5 et 7 m. Les distances définitives oscillent majoritairement entre 5 x 5 m, 6 x 6 m et 7 x 7 m (TOMBESI, 2007).

3) Labour :

Le labour consiste à faire retourner le sol, principalement dans le but de contrôler les herbes et de faciliter l'infiltration. Le labour a été et est encore le système le plus utilisé par les oléiculteurs mais l'excès de labours peut également avoir des effets négatifs sur l'olivier et sur le sol quand il favorise la formation d'une semelle de labour, qui nuit au développement des racines de l'olivier et donc favorise la diminution de la vitesse d'infiltration. L'olivier pousse mal sur les sols argileux (< 40%) à cause de l'asphyxie que subissent les racines durant les saisons pluvieuses (OUAOUICH et CHIMI, 2007).

4) Plantation :

Avant la plantation, s'effectue le piquetage. Sur les points où seront situés les arbres. La taille du trou, creusé à l'aide d'une tarière ou à la main avec une bêche, sera de 40 cm de large et de profondeur. Les trous devront être pratiqués lorsque le terrain est sec, dans des conditions d'humidité importante.

L'époque de plantation est au printemps. Le plant est extrait de son pot et placé de manière à ce que la motte de terre soit située à 5-10 cm en dessous du niveau du terrain. Les plants utilisés sont âgés de 18-24 mois. Ensuite, chaque plant est arrosée avec environ 10 litres d'eau pour que le sol adhère aux racines (COI, 2007).

5) Fertilisation :

Selon (OUAOUICH et CHIMI, 2007), la fumure a pour but d'améliorer la plante en lui apportant les éléments dont elle a besoin, notamment l'azote, le phosphore et potassium et les oligo-éléments tels que le magnésium et le fer. L'azote est un facteur stimulant de la croissance et de l'activation de tous les autres phénomènes (la fécondation, le développement du fruit...). Les effets positifs de cet élément se résument en l'augmentation du taux de croissance de l'arbre (ce qui entraîne l'augmentation de la surface productrice) et du calibre des olives. Le potassium joue également un rôle de régulateur de la migration des acides (acide uronique), produits de dégradation des pectines et pro-pectines, et permet ainsi la synthèse des acides aminés et des acides phénoliques. L'utilisation du sulfate de potassium comme engrais permet la réduction du développement de la surface morte de la plante, le changement de la couleur du vert clair au vert foncé et l'augmentation du calibre du fruit et par la suite l'augmentation du rendement. Quant au phosphore, il favorise l'absorption d'autres éléments (azote, magnésium, calcium et le bore), et est donc indispensable lors du développement du méristème.

6) Irrigation :

Selon OUAOUICH et CHIMI (2007), l'olivier est une plante connue pour sa résistance au déficit hydrique, l'intérêt pour l'irrigation en oléiculture consacrées à la production d'olives de table, les exploitations destinées à la production d'olives à huile étant traditionnellement conduites en régime pluvial. Toutefois, de nombreuses expériences démontrent que l'irrigation est un instrument fondamental pour l'amélioration qualitative et quantitative des productions. Parmi les méthodes d'irrigation pratiquées en oléiculture sont : canalisation, par aspersion, par goutte à goutte et la plus ancienne méthode le chaussage et le déchaussage. La période d'irrigation influe beaucoup sur la floraison. Elle provoque une légère augmentation de l'acide palmitique et une teneur en acide oléique et linoléique, différente de celles des huiles des oliviers non irrigués.

L'olivier cultivé en sec a besoin de 10 à 15 ans pour fructifier, alors qu'en conditions favorables il n'a besoin que de 4 à 5 ans pour fructifier.

7) La taille :

La taille de l'olivier est pratiquée pour augmenter la productivité, permettre une fructification précoce, régulière et rentable, améliorer l'aération et même favorise la

croissance d'un nombre inférieur de pousses plus vigoureuses. L'olivier qui ne fait pas l'objet d'une opération de taille réduit la fructification et rend les arbres peu adaptés aux techniques de culture. La taille consiste à éliminer une partie de la plante, en général une partie de la frondaison comprenant les branches, les rameaux et les feuilles considérés inutiles pour la gestion correcte de l'arbre (COI, 2007), LOUSSERT et BROUSSE (1978), notent qu'en fonction des objectifs recherchés, on distingue 4 types de tailles :

- ✓ taille de formation (1ère année de la pousse du plant). S'effectue sur de jeunes arbres encours de croissance pour orienter le développement de la charpente et hâter l'entrée en production
- ✓ taille de fructification (se pratique d'une façon périodique). Maintient un équilibre entre le développement de la frondaison et l'alimentation.
- ✓ La taille de rajeunissement (se pratique après un gel ou un incendie).permet la naissance régulière de jeunes rameaux fructifères et élimine les rameaux âgés.
- ✓ La taille de régénération (administrée aux oliviers âgés ou très hauts).elle est plus sévère que la précédente. Elle s'effectue sur des arbres âgés pour rénover toute la charpente qui formera une nouvelle frondaison.

I.8. Donnés bibliographique sur les maladies de l'Olivier

L'olivier comme d'autres arbres fruitiers est souvent attaqué par une multitude de bio-agresseurs (bellahcene, 2004) dont le nombre est : 110 espèces d'insectes, 100 espèces de nématodes, 90 espèces fongiques, 13 espèces d'arachides, 13 virus, 5 espèces bactériennes, 4 mousses, 3lichens et 3 angiospermes (Sasanelli, 2009). Les principales maladies fongiques existantes chez l'olivier sont œil de paon causé par le champignon *Cyclonium oleaginum* (Gratraud et Pinatel, 2011), Plomb de l'olivier, la fumagine, la verticilliose, l'olivier peut être sujet d'attaque de bactérie telles que *Pseudomonas savastanoi* et *Xylella fastidiosa*.

CHAPITRE II

II. La tuberculose de l'olivier

II.1. Définition

Parmi les maladies qui attaquent l'Olivier on trouve la tuberculose de l'olivier qui est une maladie bactérienne causée par une bactérie Gram négatif appelé *Pseudomonas savastanoi*. Le genre *Pseudomonas* appartient aux gamma-protéobactéries. Ce groupe englobe la majorité des espèces de bactéries phytopathogènes.

La bactérie *Pseudomonas savastanoi* provoque sur les organes végétatifs de l'olivier, feuilles et rameaux, l'apparition de tumeurs typiques très caractéristiques. Sur les fruits (olives), on n'observe pas ces excroissances fissurées (Benedicte, 2015). Les points d'infection de la tuberculose de l'olivier se présentent comme des zones sombres pouvant exsuder une matière visqueuse.

La bactérie responsable de la tuberculose de l'olivier répandue dans tous les pays oléicoles est une bactérie en forme de bâtonnet, gram-négatif, aérobie, ne constitue pas de capsule ni de spores avec des dimensions de 1 à 3.3× 0.3 à 0.8µm, se déplaçant avec des flagelles leur nombre varie entre 1-7; la température optimale de croissance est comprise entre 23-26°C (Daniel, 2015).

II.2. Les symptômes

Les symptômes de la maladie apparaissent sous forme de tumeurs (excroissances). Les tumeurs 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).

L'infection de par *Pseudomonas savastanoi* dans les plaies fraîches commence par une petite cavité sur les sites d'infection résultant de la prolifération des tissus végétaux. *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 (Fig.04), puis sur les rameaux (Fig.05) et parfois sur les feuilles (Fig.06) et les fruits (Corrado *et al.*, 2016).



Figure 04 : Des tumeurs formées sur le tronc (Originale).



Figure 05 : Des tumeurs formées sur les rameaux (Originale).



Figure 06 : Des tumeurs formées sur les feuilles (Serdoun bekri, 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 (Fig.07).



Figure 07 : la chute des feuilles et des branches (Originale).

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.3. Systématique de *Pseudomonas savastanoi*

Le genre *Pseudomonas* est classé dans la famille des Pseudomonadaceae (Young, 2004).

Règne : Bacteria

Division : Proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *Pseudomonas savastanoi*

Cette espèce est divisée en 5 pathovars :

- ✓ *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.4. Pouvoir pathogène

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

(Maldonado-González *et al.*, 2013). Successivement, les facteurs de virulence bactérienne, principalement de l'acide indole-3-acétique (AIA), les cytokinines qui sont codés par le plasmide pIAA1 et les gènes *hrp* de *P.savastanoi* et 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). En plus des phytohormones, qui jouent un rôle crucial, d'autres facteurs de virulence sont impliqués dans le développement de la maladie.

II.5. Cycle de la maladie

Bien que la bactérie puisse être présente tout au long d'un verger, il ne peut inciter à la maladie qu'après l'entrée passive de l'hôte par des blessures ou des cicatrices foliaires (Corrado *et al.*, 2016). La transmission de la maladie est liée à la pluie événement qui stimule la croissance de la population bactérienne et facilite la circulation de l'agent pathogène.

Les pluies de printemps sont particulièrement propices au développement de la maladie parce qu'un grand nombre de feuilles tombe en mai et juin, laissant des cicatrices foliaires sensibles aux agents pathogènes. Les cicatrices foliaires sont plus sensibles à l'infection dans les deux jours après une pluie, mais peuvent rester sensibles pendant sept jours après la pluie.

Une fois la bactérie infecte la plante, elle produit des hormones de croissance des végétaux (l'auxine et cytokinines) qui stimulent la prolifération des tissus résultant en une galle ou nœud (Corrado *et al.*, 2016 ; Smidt et Kosuge, 2000).

Des études récentes montrent que la bactérie peut être transportée dans la plante par les vaisseaux du xylème, ce qui provoque des nœuds « secondaire » le long de tige. Cette nouvelle information souligne l'importance de la prévention des infections initiales de la gestion des populations de l'agent pathogène à l'extérieur de l'arbre (Corrado *et al.*, 2016).

II.6. Impact de la maladie

Les dégâts de la tuberculose de l'olivier peuvent se traduire 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 de la qualité de son huile grâce à des caractéristiques organoleptiques inférieures, telles que une odeur désagréable et un goût amer rance (Lavermicocca *et al.*, 2002).

II.7. Gestion de la maladie

Les conditions climatiques semblent avoir un effet sur la dissémination et la virulence de la maladie. Les zones à pluviométrie importante sont généralement plus affectées par la tuberculose que les zones à faible pluviométrie. Les variétés d'oliviers semblent présenter des sensibilités différentes à la maladie. Actuellement, il n'existe pas de moyens de lutte curatifs pour faire disparaître ou atténuer les effets de la maladie et limiter la propagation (Marchi *et al.*, 2009).

II.8. La répartition géographique de la tuberculose d'olivier

La tuberculose de l'olivier est répandue actuellement dans tous les pays où l'on cultive l'olivier.

- **Europe** : France ; Germanie, Grèce, Italie, Portugal, Spain, Norwid, Suède, Yougoslavie.
- **Asie** : Iran, Iraq, Palestine, Lebanon, 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, New Zélande (Marchiet *al.*, 2009)

II.9. 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, et les espèces du genre *phillyrea sp* (Daniel, 2015).

II.10. Les moyens de lutte

Certaines mesures préventives peuvent limiter la propagation de la maladie telles que ;

- ✓ Favoriser des variétés résistantes ou tolérantes aux maladies.
- ✓ Choisir des plantes indemnes et certifiées lors de la création d'un verger.
- ✓ Ne pas utiliser des bâtons pour récolter les fruits.

- ✓ Appliquer les traitements d'hiver de façon permanente.
- ✓ Pulvérisation des composés à base de cuivre, après de fortes pluies ou la grêle (au moins deux applications à l'automne après la récolte et au printemps avant la floraison).
- ✓ Recouvrir les troncs des arbres avec une solution de chaux hydratée jumelée avec un composé cuivré (Daniel, 2015).

Les mesures curatives qu'on peut appliquer une fois la maladie est installée sont citées ci-après :

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.

- ✓ Couvrir les blessures résultant de taille en utilisant le mastic.
- ✓ Désinfecter les outils de la taille en passant d'un arbre à un autre (Daniel, 2015).

II.11. Les travaux réalisés sur la tuberculose en Algérie

Le tableau suivant récapitule les thématiques de recherche qui traitent la tuberculose de l'olivier en Algérie (tableau 04).

Tableau 04 : Synthèses des travaux sur la tuberculose en Algérie.

Nom et année	Synthèse
MERZOUK Ibtissem OULD HAMICHE Mouna 2019/2020	L'objectif est d'isoler <i>Pseudomonas savastanoi pv savastanoi</i> à partir des échantillons présentant des nœuds formés sur les oliviers cultivées ; et l'étude des caractérisations de quelques souches isolées dans différents régions de la wilaya de Bouira.
Kheddache Khadidja Bettayeb Fatma Zohra 2017/2018	L'objectif est et la recherche et l'identification de la bactérie <i>Pseudomonas savastanoi</i> . Un diagnostic symptomatologique suivi d'isolement de la bactérie et d'une série des tests biochimiques et biologiques au laboratoire.

<p>SERDOUN BEKRI Naoul 2012/2013</p>	<p>Méthodes analytiques de détection de <i>Pseudomonas savastanoi</i> doivent être développées et adaptées à un travail de routine.</p> <p>Dans la présente étude, les protocoles existants relatifs à ces deux techniques ont été évalués sur des macérâts contaminés.</p>
<p>SAADI Sihem 2008/2009</p>	<p>Détection et caractérisation de bactériocines produites par des souches de rhizobia contre des souches de <i>Pseudomonas (P. savastanoi et P. syringae)</i>.</p>
<p>FATMI Feryal SAMMAR Malek 2018/2019</p>	<p>Les objectifs sont d'isoler et identifier le phytopathogène ainsi que d'autres bactéries endophytes à partir des échantillons provenant des oliviers infectés de la variété Sigoise, cultivée au verger de la commune Amira Arrès, wilaya de Mila.</p> <p>Les profils phénotypiques des isolats ont été réalisés en se basant sur ensemble des tests.</p>
<p>Hobaya Oussama BendimeradMerwan 2011-2012</p>	<p>Le travail consiste à l'étude des ravageurs de l'olivier dans la région de Tlemcen. Une enquête devant les agriculteurs est entreprise pour déterminé les principaux ravageurs de l'olivier et un inventaire des principaux ravageurs dans trois stations est effectué.</p>
<p>Boulssen Bouthaina Zahra Bouraoui Nour El Houda 2015/2016</p>	<p>Le but de travail est d'isoler des bactéries à partir des échantillons provenant des tumeurs formés sur les branches des oliviers cultivées d'établir le profil phénotypique des espèces microbiennes et tester leur pouvoir de résistance et sensibilité aux antibiotiques.</p>
<p>Hanane HASSINOUI Karima BELHORMA 2018/2019</p>	<p>L'étude vise à isoler des bactéries et identifier à partir des tumeurs trouvées sur la branche des arbres, et de tester leur pouvoir de résistance et sensibilité aux extraits des différentes plantes.</p>

CHAPITRE III

Chapitre III - Matériel et méthodes

Dans ce chapitre la présentation de la région et de la station d'étude est abordée en premier lieu, ensuite, la partie méthodologie est présentée en détail.

III.1. Présentation de la région de Bouira

La wilaya de Bouira est située dans la partie nord du pays, au sud-est de la capitale. Elle est limitée par les wilayas suivantes (Fig.08) :

- Au nord par les deux wilayas de Boumerdes et de Tizi Ouzou.
- A l'est par les deux wilayas de Béjaïa et de Bordj Bou Arréridj.
- Au sud par la wilaya de M'Sila et Médéa.
- A l'ouest par la wilaya de Blida.



Figure 08: Carte géographique et administratives de la wilaya de Bouira.

La wilaya s'étend sur une superficie de 4 454 Km². Elle est bordée par une série de chaîne montagneuse : Djurdjura au Nord et Nord-Est, Bibans au Sud-Est et les montagnes de Dirah au Sud-Ouest.

➤ **Présentation de la station d'étude (El Asnam)**

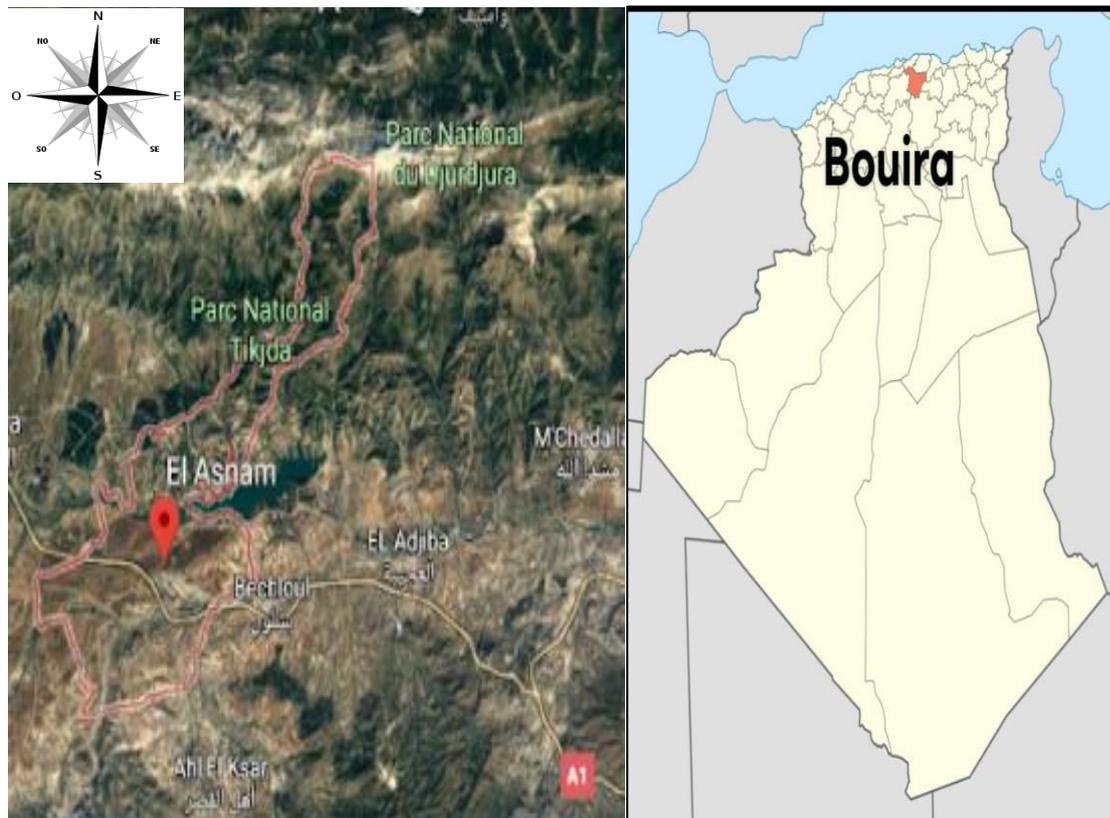


Figure 09 : Localisation géographique de la région d'El Asnam de wilayas de Bouira.

La commune de l'El Asnam est située dans le sud de la wilaya de Bouira et appartient à la daïra de Bechloul (Fig.09). Les habitants locaux l'appellent : Ath Yaala ou parfois transcrit Ath Yala, relativement au patriarche Yala, une partie du parc national du Djurdjura ou se trouve la station touristique de Tikjeda.

III.2. Méthodologie

Notre travail sur terrain consistait à faire des prospections sur les parcelles des oliviers et de faire des observations visuelles en cherchant des symptômes caractéristiques de la maladie de la tuberculose de l'olivier (présence des tumeurs). En cas de présence de cette maladie on effectue un questionnaire à la base d'une fiche d'enquête pré- établie et on prélève des échantillons pour analyse au laboratoire. Cette dernière tâche a été effectuée dans les laboratoires du département de sciences agronomiques de l'université d'Akli Mohand Oulhadj à Bouira.

III.2.1. Prospections sur terrain

Les prospections faites ont concernées la région d'El Asnam à Bouira et ont été effectuées de début de avril à la fin de mois de juin et ont a touché 7 parcelles de l'olivier. Les prospections ont été faites grâce à la collaboration de l'agent de l'inspection phytosanitaire de la subdivision de l'El Asnam.

III.2.1.1. Fiches d'enquête

Notre outil de travail principal sur le terrain est les fiches d'enquêtes qui regroupent des renseignements utiles relatifs à la culture mise en place. Les principaux points entrepris dans la fiche d'enquête sont les suivant:

- Stade phénologique
- Variété
- Age de l'olivieraie
- Etat phytosanitaire de l'olivieraie
- Date d'apparition des symptômes de la Tuberculose
- Pourcentage d'attaque du verger
- Pourcentage d'attaque de l'arbre et du verger
- Position des arbres infectés par rapport à la source d'eau
- Traitements ou autres mesures utilisées
- Pratiques de taille
- Taille des tumeurs observées mesurées en cm

Un modèle de fiche d'enquête utilisé dans ce travail est donné en annexe 01.

III.2.2. Echantillonnage

Des sorties ont été organisées en collaboration avec agent de l'inspection phytosanitaire de la subdivision de l'El Asnam -Bouira- dans le but de diagnostiquer la tuberculose de l'olivier et réaliser l'échantillonnage. L'échantillonnage a été effectué sur les arbres présentant les symptômes de la tuberculose (présence des nœuds). On a prélevé les rameaux et les brindilles avec les tumeurs jeunes dont une grande partie des tissus est encore verte. Pour chaque verger, plusieurs prélèvements sont effectués à l'aide d'un sécateur désinfecté à l'eau de javel. Le matériel végétal obtenu est mis dans des sacs en plastique étiquetés (date le lieu de

prélèvement). Les prélèvements sont transportés directement au laboratoire pour l'isolement de l'agent causal. Au niveau du laboratoire, les nœuds sont prélevés délicatement des rameaux et brindilles, et leurs diamètre et leurs poids sont mesurés.

III.2.3. Isolement de *Pseudomonas savastanoi* à partir des nœuds

❖ Préparation du milieu culture 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 l'isolement, la purification et la conservation des isolats de *Pseudomonas savastanoi*.

➤ Composition :

- 20 g protéose peptone.
- 1.145 g K_2HPO_4 .
- 1.5 g $MgSO_4$.
- 15g agar.
- 15 ml de glycérol (18.9 g).
- 1 l d'eau distillée.

➤ Préparation

Dans une balance de précision on pèse des quantités de 20 g protéose peptone, 1.145 g K_2HPO_4 , 1.5 g $MgSO_4$, 15g agar, 15 ml de glycérol (18.9 g) et on les met dans un bêcher puis on ajoute un volume de 1 litre d'eau distillée. Le tout est mis sur un agitateur magnétique avec chauffage. Pour l'homogénéisation du milieu, on laisse agiter assez du temps pour dissoudre complètement les constituants du milieu. Le milieu ainsi obtenu est mis dans des flacons ferment à vis (Fig.10) pour être autoclavé à 120°C pendant 15 min.



Figure 10 : Flacons contenant de king B (Originale).

➤ **Isolement du *Pseudomonas savastanoi***

Approximativement une vingtaine de tumeurs ont été prélevées soigneusement à partir de notre matériel végétal à l'aide d'un scalpel ou sécateur désinfecté préalablement à la flamme. Les tumeurs ainsi obtenues sont désinfectées superficiellement à l'aide d'un papier stérile imbibé avec de l'éthanol 95° (Marchi et al, 2005) puis lavés deux fois dans de l'eau distillée stérile. Les tissus internes de la tumeur d'aspect hydropique sont excisés avec un scalpel stérile, puis écrasés dans 2ml d'eau distillée stérile; les tissus ainsi traités sont laissés macérer pendant 30min. A l'aide d'une pipette pasteur, une goutte de la suspension obtenue est étalée (ensemencement) sur la gélose King B coulé en boîtes de Pétri. Les boîtes sont mises à incubation dans un phytotron à 26°C pendant 2 à 4 jours (Fig.11).

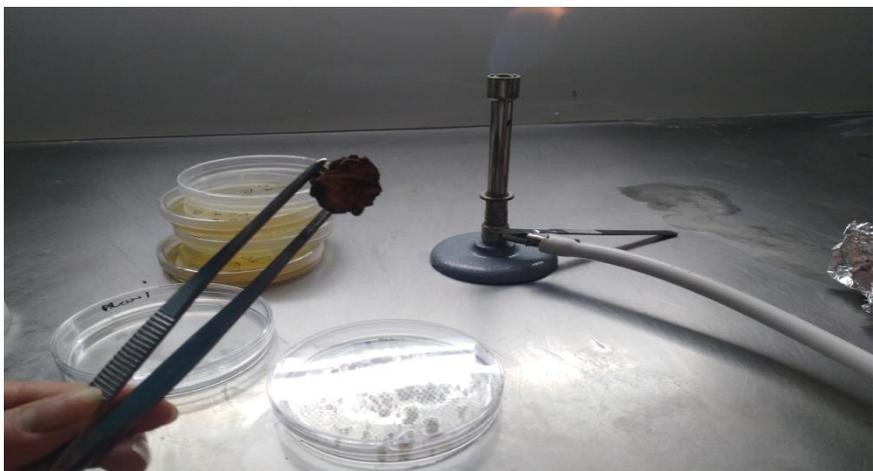
1-Prélèvement des tumeurs à partir du matériel végétal



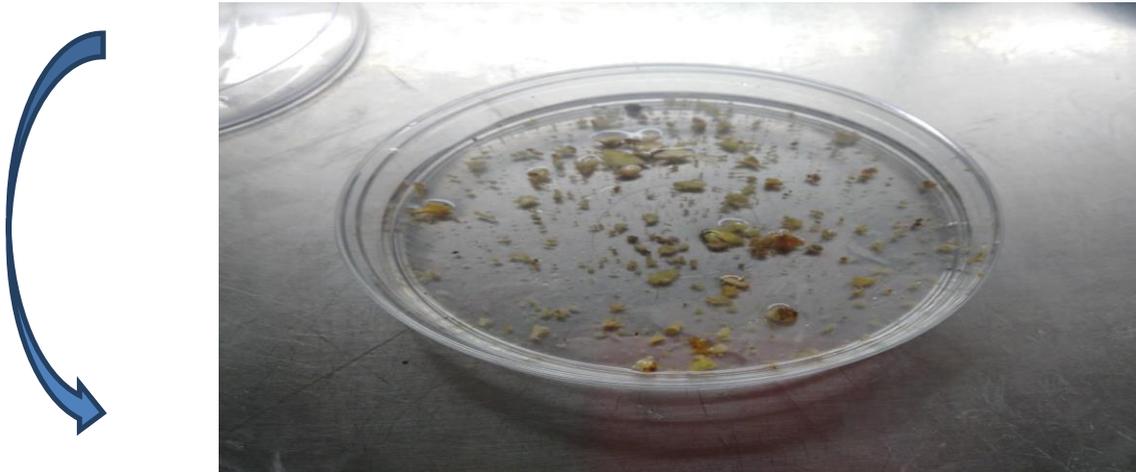
2-Désinfection des tumeurs par l'alcool



3-Rincage des tumeurs avec l'eau distillée stérile



4- Macération des tumeurs



5-Ensemencement sur milieu King B

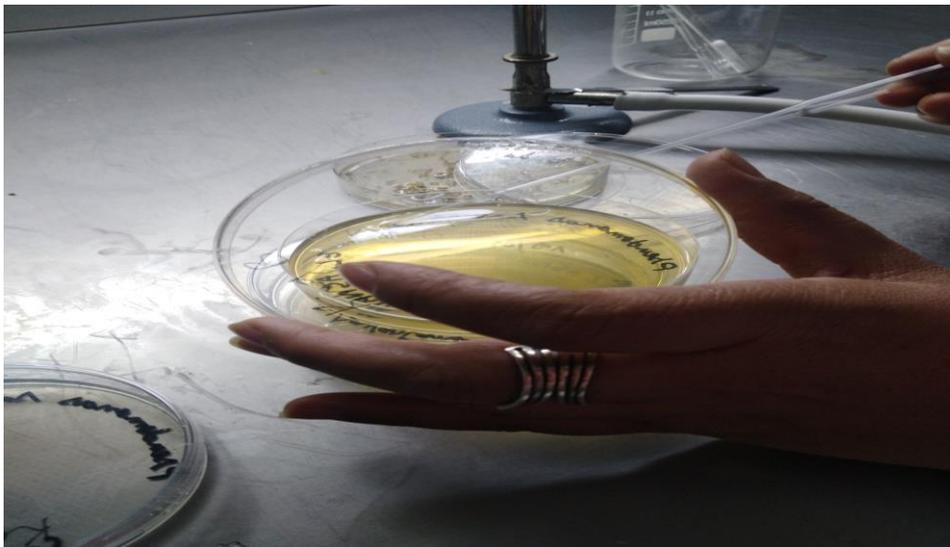


Figure 11: Etapes d'Isolément du *Pseudomonas savastanoi* à partir des tumeurs (Originale).

➤ **Purification des isolats bactériens**

La purification est une étape nécessaire après l'étape de l'isolement. Elle a pour but d'obtenir des isolats purs indispensables pour effectuer l'identification et tous les tests biochimiques, biologiques et moléculairesetc

Après l'étape de l'isolement, on a obtenu 3 types de colonies avec des caractères morphologiques différents désignés par des chiffres (1-2-3), ces colonies ont été purifiées.

A l'aide d'une pipette pasteur stérilisée à la flamme du bec Bunsen, On a prélevé la colonie bactérienne choisie et qui est bien individualisé et puis on l'a ensemencé sur le milieu King B. Les colonies 1 et 2 possédaient toutes les deux les caractéristiques phénotypiques de *Pseudomonas savastoni* (colonies crème à blanchâtres. Avec un pigment jaune-vert fluorescent sous lumière UV). Les boîtes sont ensuite mises à incuber dans un phytotron à 26°C pendant 2 à 3 jours.

Plusieurs repiquages successifs par technique des trois cadrans sur milieu King B ont été effectués afin d'obtenir des souches pures à la manipulation.

➤ Conservation des isolats purs

Pour la conservation à long terme des souches purifiées, 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 1.5ml à raison de 1ml/tube, ensuite trois à quatre 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 (Fig.12).



Figure 12: Tubes de conservation des isolats bactériens (Originale).

III.2.4. Tests biochimiques

Ces tests sont considérés comme un approche classique qui permet de l'identification des bactéries phytopathogènes. Tous les tests biochimiques réalisés dans le cadre de ce travail sont effectués sur des souches bactériennes âgées de 24 à 48h cultivées sur milieu King B à 26°C.

❖ Tests de LOPAT

C'est une méthode classique qui permet de différencier les espèces au sein du genre *Pseudomonas*. Ces tests incluent la production du levane sur le milieu NSA, la réaction oxidase, l'activité pectinolytique sur les tranches de pomme de terre, l'activité Arginine dihydrolase et la réaction de l'hypersensibilité sur les feuilles du tabac (Schaad *et al.*, 2001).

➤ Test Levane (NSA)

Ce test permet de vérifier la polymérisation du fructose en poly-fructose par la bactérie testée (Schaad, 2001). À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, l'ensemencement d'une colonie bactérienne jeune se fait par une série de stries sur une boîte de Pétri contenant le milieu NSA (Nutrient Sucrose Agar), puis incubées à 26 ° C pendant 3 à 5 jours. La bactérie est dite levane positif si elle forme des colonies luisantes bombées (forme en dôme) (Marchi *et al.*, 2005).

➤ Test Oxydase

Ce test permet de mettre en évidence la présence (ou non) du complexe enzymatique : cytochrome-oxydase (cytochrome C19) dans la chaîne respiratoire des bactéries (Schaad, 2001).

Sur un papier filtre stérile, on dépose une goutte du réactif oxydase (préparé avec 0.25g de NNN tetraméthyleparaphénylène 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 (Fig.13). S'il y a 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 (Steel, 1960).

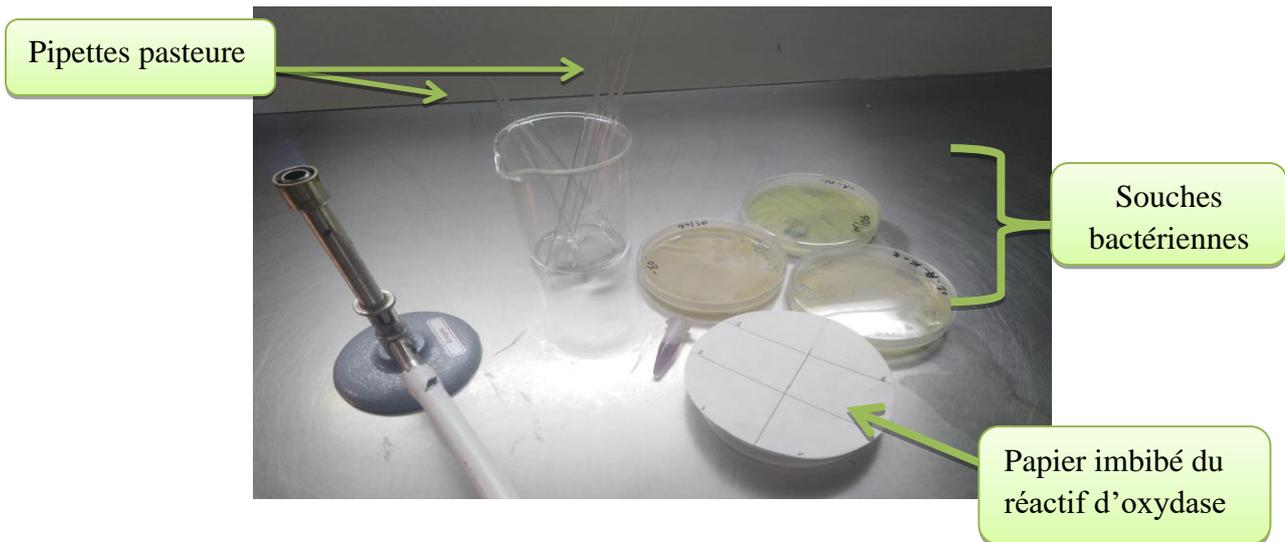


Figure 13 : Matériel utilisé dans test oxydase (Originale).

➤ Test Pectinase

Le test pectinase (la recherche de l'activité pectinolytique) permet de déterminer la présence ou l'absence de l'enzyme pectinase. Dans notre étude on a utilisé comme substrat des rondelles de pomme de terre. La tubercule de pomme de terre étant riche en pectine et son hydrolyse en présence de pectinase se traduit par l'apparition de pourriture molle.

Des tranches de pomme de terre sont stérilisées à l'éthanol 70° puis lavées à l'eau distillée stérile et séchées. Dans des boîtes de Pétri contenant du papier filtre mouillé avec de l'eau distillée stérile, les tranches sont déposées au centre, et inoculées de colonies bactériennes fraîchement prélevées (Fig.14) et laissé à incubé à 26°C. La lecture se fait après 7 jours.

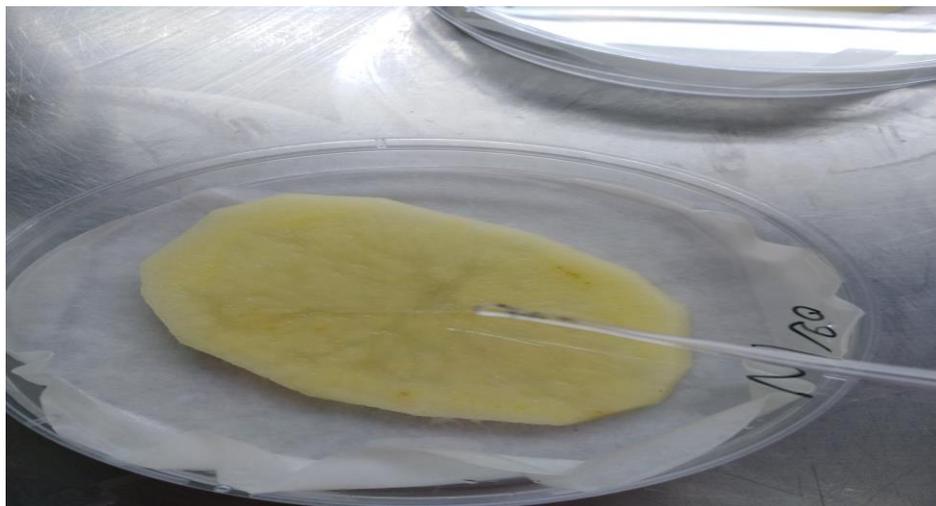


Figure 14 : Colonies bactériennes déposées sur des tranches de PDT (Originale).

➤ **Test d'arginine dihydrolase (ADH)**

Ce test sert à déterminer la présence ou l'absence de l'arginine dihydrolase, dans notre travail ce test n'a pas été réalisé d'une manière classique, mais il a fait partie des tests miniaturisés réalisés sur le micro-tube de la galerie API 20 E., son nom dans cette galerie est ADH et il est en position 2 dans le premier triplet.

➤ **Test d'hypersensibilité sur feuilles de Tabac**

Ce test met en évidence le pouvoir phytopathogène d'une bactérie suite au dessèchement des zones foliaires inoculées sur les feuilles de Tabac (Rathore *et al.*, 2000). Une suspension bactérienne a été préparée avec deux colonies bactériennes prélevées d'une culture jeune dans un ml d'eau distillé stérile, puis elle a été injectée à l'aide d'une seringue à tuberculine, dans l'espace intercellulaire entre l'épiderme et le parenchyme palissadique d'une jeune feuille de tabac (Fig.15). L'eau distillée stérile est utilisée comme témoin négatif. Le test est considéré positif s'il y a apparition d'une tache nécrotique correspondant à la zone infiltrée dans les 24 h qui suit l'injection. Le dessèchement des zones foliaires inoculées signifie que la bactérie est phytopathogène. Le résultat est négatif si aucune réaction n'est observée durant les 24h (Borkar, 2017).

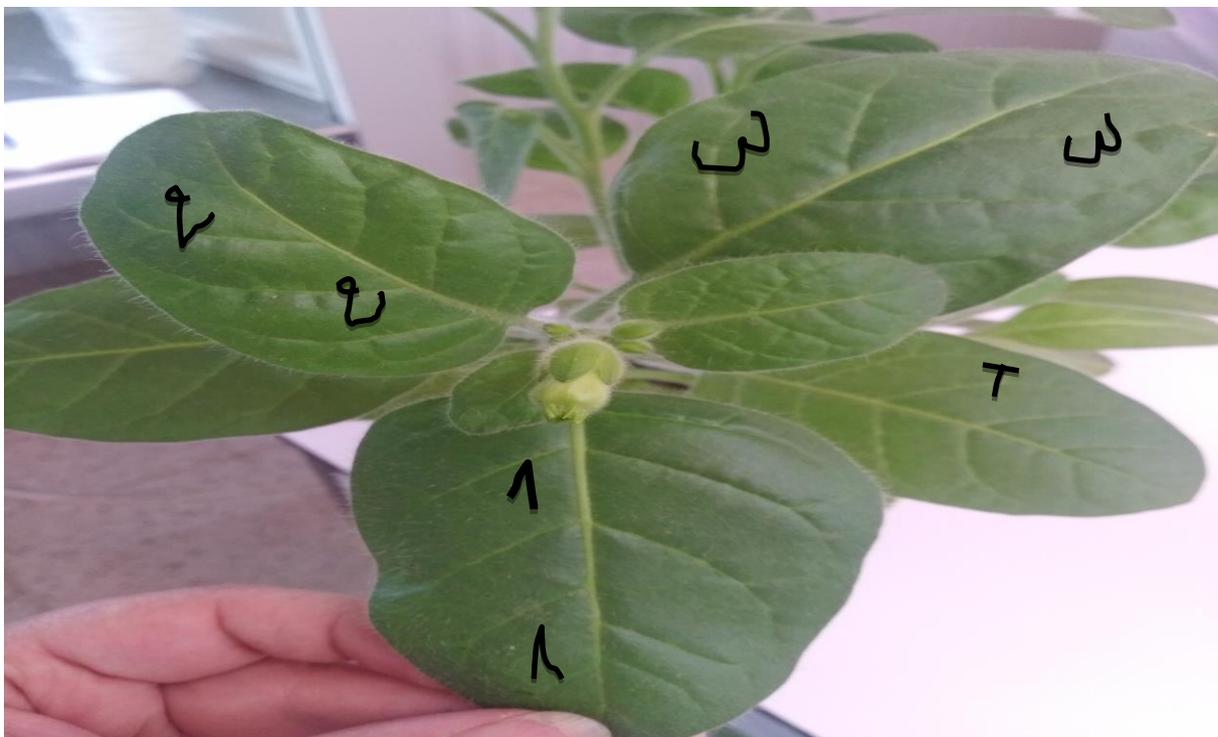


Figure 15 : Injection des suspensions bactériennes dans les feuilles du Tabac (Originale).

❖ Autres tests biochimiques réalisés**➤ Test KOH**

Dans le but de vérifier le Gram d'une bactérie d'une manière rapide et sans avoir recours à un microscope, une colonie isolée a été mélangée à une goutte d'une solution de KOH (Hydroxyde de potassium) à 3% (préparée avec 3g de KOH dans 100ml d'eau distillée) à l'aide d'une anse flambée au bec bunsen. Après quelques secondes, le mélange est tiré vers le haut, s'il y aura une formation d'un filament entre la boucle de l'anse et la lame, la bactérie est considérée à Gram négatif, si rien n'est entraîné par l'anse, la bactérie est considérée à Gram positif (Suslow *et al*, 1982).

➤ Test catalase

L'enzyme catalase sert à la détoxification de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produite au cours de certaines réactions métaboliques, elle catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène en eau (H_2O) et en oxygène (O_2). Cette enzyme est présente chez beaucoup de bactéries aérobies ou aéro-anaérobies et souvent absentes chez les bactéries anaérobies.

La technique consiste à prélever la crème bactérienne au moyen d'une boucle d'anse de platine stérile (ou bien à l'aide d'une pipette Pasteur) et la déposer dans une goutte peroxyde d'hydrogène à 3% sur une lame stérile.

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

La gélose 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 souches bactériennes sont déposées sous la lumière ultraviolette pour observer leur fluorescence. (Schaad *et al.*, 2001).

➤ Test de galerie API 20^E

Le système API Biomerieux (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisées et standardisées des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des Bacilles à Gram négatif.

Les trois isolats bactériennes ont été identifiés par la galerie API 20E (Biomerieux, SA., Marcy-L'étoile, France), cette dernière comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue le milieu. Les réactions produites pendant la période de 2 jours d'incubation à 26°C se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (Annexe 02).

La technique consiste à faire une suspension bactérienne faible d'opacité dans de l'eau physiologique stérile (2 à 3 colonies dans 10 ml d'eau physiologique). La suspension bactérienne préparée a été introduite dans chaque microtube à l'aide d'une micropipette. Les microtubes des tests CIT, VP et GEL ont été remplis par l'inoculum jusqu'à la cupule alors que les microtubes correspondant aux tests : ADH, LDC, ODC, H₂S et UREE ont été remplis par la suspension bactérienne et recouverts par une couche d'huile de vaseline pour assurer la condition d'anaérobiose.

La lecture de ces réactions se fait après incubation à 26°C pendant 2 jours. Après incubation les réactifs indiqués dans le tableau 05 sont ajoutés, on attend 10 minutes pour lire la réaction.

Tableau 05 : Les réactifs ajoutés après la période d'incubation.

Puits	Réactif
TDA	Une goutte de réactif TDA
IND	Une goutte de réactif de James ou Kovacs
VP	Une goutte de réactif de VP1 puis VP2

À l'aide du tableau de lecture (annexe 03), les résultats des réactions obtenues sont notés sur une fiche de résultats standards (Fig.16).

The image shows a BIOMÉRIEUX API 20E biochemical test strip form. At the top left, it features the CE mark, the reference number 07223 C, and the product name API 20E. To the right, there is a field for 'REF.' and a box for 'Origine / Source / Herkunft / Origen / Origen / Προέλευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie'. The main body of the form consists of 20 wells, each with a number (1, 2, or 4) and a corresponding test name: ONPG, ADH, LDC, ODC, CIT, H₂S, URE, TDA, IND, LYP, LGEL, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA, OX, NO₂, N₂, MOB, McC, OF-0, and OF-F. Below the wells, there are two boxes: one for 'Autres tests / Other tests / Andere Tests / Otras pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy' and another for 'Ident. / Ταυτοποίηση'. The form is printed in France.

Figure 16 : Fiche de résultat (Originale).

III.2.5. Tests de pathogénéité

➤ Test phytopathogénéité sur la plante hôte (olivier)

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 des études de 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 âgé d'une année et demie de variété Chemlal greffé sur Oléastre. Des rameaux et des brindilles de l'olivier sont blessés à l'aide d'un couteau. Puis à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une quantité de la crème bactérienne et on la pose sur les blessures. Ensuite les blessures sont couvertes avec le papier parafilm (Fig.17) pendant 2 jours puis l'enlever. Si il y a reproduction des tumeurs sur les endroits inoculés, l'identité de la bactérie est vérifiée, et elle est considéré *Pseudomonas savastanoi* avec certitude. L'apparition des tumeurs peut durer du 15 jours à 2 mois.

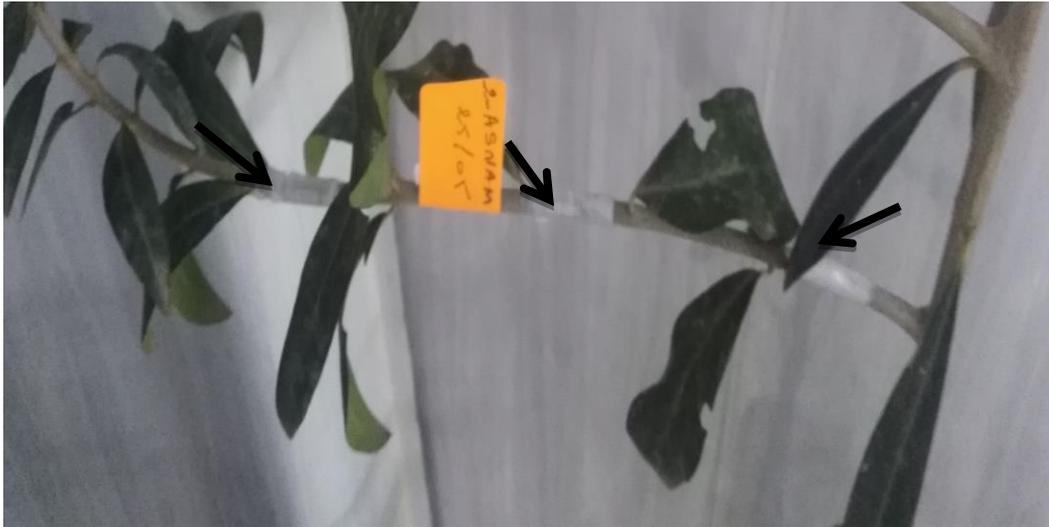


Figure 17 : Crème bactérienne posée dans des différents rameaux (Originale).

➤ Test de pathogénicité des tranches de carotte

Le Test de pathogénicité réalisé sur des tranches de carotte est un nouveau test pour la pathogénicité de *Pseudomonas savastanoi* publié en 2020, Notre objectif est de vérifier les résultats de cette publication sur nos souches,

Nos isolats bactériens ont été testés sur des tranches de carottes fraîches (*Daucus carota*). Les racines pivotantes de carottes ont été lavées sous l'eau du robinet, désinfectées par trempage dans de l'alcool éthylique à 70 % pendant 5 min, rincées 3 fois à l'eau distillée stérile et séchées sur papier filtre stérile. Après désinfection de la surface, les racines pivotantes de carottes ont été coupées en tranches de 0.5cm d'épaisseur à l'aide couteau stérile par flamme.

Dans des boîte de Pétri contenant du papier filtre mouillé avec de l'eau distillée stérile, les tranches sont déposées, et inoculées avec des colonies bactériennes fraîchement prélevées. Par la suite les tranches inoculées sont incubées à 26°C (Fig.18). La lecture se fait périodiquement sur une durée 14 jours. Une réaction positive se traduit par la formation des tumeurs dans 7 à 14j d'incubation

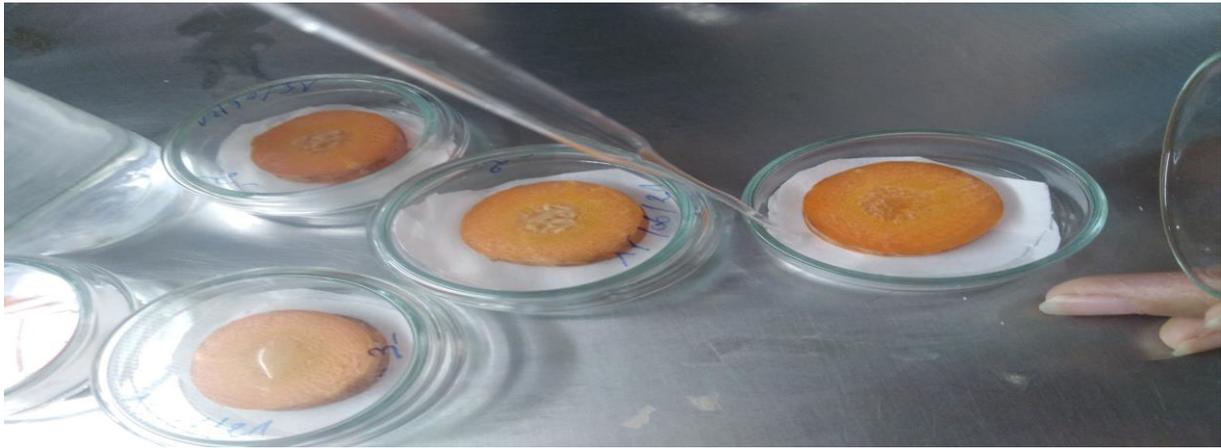


Figure 18 : Test de pathogénéité réalisé sur des tranches de carotte (Originale).

III.2.6. Test PCR (Polymerase Chain Reaction)

La PCR est un test moléculaire qui repose sur l'amplification spécifique d'une séquence d'acide nucléique *in vitro*. Chaque cycle de PCR s'effectue en 3 étapes : dénaturation thermique de l'ADN à 95°C, hybridation des amorces à 50-65°C, élongation à 72°C. Dans le cadre des travaux de doctorat de Mr Hassouna M A dans les laboratoires de la faculté SNV de Bouira sur les souches de *Pseudomonas savastanoi* en Algérie, la souche n 2 (la plus suspectée d'être *Pseudomonas savastanoi* selon les résultats des tests biochimiques) a été analysé par la PCR ; pour l'identification par PCR, le gène spécifique *iaaL* a été recherché. Ce gène est responsable de synthèse de phytohormone impliqué dans la formation des tumeurs.

Les amorces utilisés pour l'amplification du gène *iaaL* étaient les suivantes : amorce *iaaL* Forward, 5'-GGC ACC ACG GGC AAC ATC AA -3'; amorce *iaaL* Inverse, 5'-CGC CCT CGG AAC TGC CAT AC-3' (Penyalver *et al.*, 2000).

CHAPITRE IV

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1. Prospections des parcelles visitées

Les sites prospectés durant la période allant du mois d'avril au mois juin sont en nombre de sept (Tableau 06), La superficie totale prospectée était de 31.5 ha, cultivée essentiellement en variété Chemlal. Deux autres variétés ont été rencontrées, il s'agit d'Azeradj et de Sigoise. L'âge des oliviers varie entre 7 et 100 ans avec un âge de 16 à 50 ans sur 68.2% des superficies visitées. Les oliviers ont été tous en stade floraison.

Tableau 06 : Vergers visités d'avril à juin.

N°	Situation géographique	Variété	Age de l'olivieraie	Superficie (Ha)	Stade Phénologique	Exploitation / Agriculteur
1	La ferme Kaci El Asnam	Chemlal	20	2	Floraison	/
2	Ouled Makaci El Asnam	Chemlal Azeradj	20	3	Floraison	Boutoghmacce
3	El Hannache Slimane El Asnam	Chemlal	50	7	Floraison	Hamade Djelloul
4	El Bardi El Asnam	Chemlal Sigoise	16	6	Floraison	Abachemouh end Said
5	El Bardi El Asnam	Chemlal	50	2.5	Floraison	Abache Nour Eddine
6	La ferme Kaci El Asnam	Chemlal	16	1	Floraison	Kaci Nacer Allah
7	Tighzarth Bouaaza El Asnam	Chemlal Azeradj	7-100	10	Floraison	/

Le symptôme de la tuberculose de l'olivier (présence des nœuds) a été constaté dans 5 vergers sur les sept prospectés (tableau 07), les nœuds ont été présents au niveau des rameaux et du tronc, mais pas sur les feuilles. La taille des nœuds était hétérogène, le diamètre des nœuds varie entre 0.5 et 15 cm. Les nœuds récemment formés sur les rameaux sont de couleur verte, petits de 0.5 à 4cm de diamètre et ont la surface lisse. Les anciens nœuds sont ligneux généralement de taille plus grosse de surface rugueuse et de couleur brun foncé. Selon CABI (2019), les nœuds se fissurent, se nécrosent partiellement avec l'âge, se décomposent et meurent dans les 6 à 8 mois suivant leur formation. Dans certaines circonstances, ils peuvent durer plus longtemps et augmenter en taille.

Tableau 07 : Informations générales sur les parcelles visitées d'avril à juin.

N°	Date d'apparition des symptômes du Tuberculose	Pourcentage d'attaque de l'arbre	Pourcentage d'arbres infectés dans le verger	Position des arbres infectés / verger	Position des arbres infectés / source d'eau	Diamètre des nœuds de tuberculose (cm)
1	/	/	/	/	/	/
2	10 ans	70%	20%	Bordure	Pluie en force	2 à 5
3	15 ans	80%	80%	Aléatoire	Puits à proximité	1 à 7.5
4	/	/	/	/	/	/
5	3 ans	30%	5%	Aléatoire	/	0.5 à 3
6	5 ans	40%	10%	Aléatoire	/	1 à 4
7	3 ans- 20 ans	5%-80%	50%	Bordure Aléatoire	Rivière à proximité	0.5 à 15

D'après les propriétaires des vergers, la date d'apparition des premiers symptômes de la tuberculose varie de 3 ans à 20 ans, le pourcentage d'attaques chez les arbres infectés est entre 5% à 80%. Les arbres infectés sont surtout concentrés à proximité des sources d'eau (puits, rivière, ou subissant les pluies en force), les arbres infectés sont trouvés en bloc ou bien en ligne soit à la bordure du verger soit à l'intérieur du verger en position aléatoire, le pourcentage des arbres infecté par verger est entre 5 et 80%, Selon Quesada et al. (2010), la présence de nœuds, même sur un seul arbre, conduit normalement à l'infection rapide de l'ensemble du verger car l'agent pathogène est disséminé très rapidement et efficacement, avec une colonisation importante des arbres sains.

L'état phytosanitaire global pour les parcelles prospectées était bon pour la plus part d'entre eux à l'exception de deux parcelles N°2 et N°3 (annexe), et ça peut être expliqué par le bon entretien que les agriculteurs donnent à cette culture, ils pratiquent le désherbage mécanique (dans un seul parcelle sur les sept visités) ce qui permet de détruire les mauvaises herbes qui sont des réservoirs probables pour les insectes ravageur et constituent une source d'inoculum en agents phytopathogènes. Le labour presque pour toutes les parcelles qui permet d'amélioration de l'état structural, l'enfouissement des résidus de récolte et d engrais, et la circulation de l'eau. La pratique de la taille des arbres pour toutes les parcelles qui permet de concentrer un maximum de sève sur les fruits, limiter la croissance de l'arbre et facilite la récolte. D'un autre côté, les oléiculteurs utilisent des engrais azotés (3 parcelles) qui assurent la fertilisation de sol et utilisent également le piégeage massif (3 parcelles) pour éliminer ou diminuer certains insectes ravageurs.

L'état phytosanitaire mauvais du verger n 2 (arbres presque morts et il ne produit plus d'olive) est dû exclusivement à la tuberculose (% , pourcentage d'attaque par arbre est 70%).

D'autre part, La littérature n'est pas claire en ce qui concerne les pertes de récolte causées par la tuberculose de l'olivier, qui dépendent fortement de la situation géographique et du cultivar d'olive, bien qu'il soit généralement admis qu'il s'agit de l'une des maladies les plus importantes affectant la culture de l'olivier (Young, 2004). La vigueur, la croissance et le rendement des arbres peuvent être modérément ou sévèrement réduits, tout comme la taille et la qualité des fruits (Quesada et *al.*, 2010)

IV.2. Description de la parcelle prélevée

Le verger prélevé est le verger n°7, constitué de deux parties, une partie avec des jeunes plantations d'oliviers âgés de 7ans, et une autre partie constituée d'oliviers dont l'âge varie de 20 à 100ans. , le nombre d'oliviers dans la totalité du verger est 300 dont 150 présentent des tumeurs. Le pourcentage d'infestation chez les arbres jeunes (7ans) est élevé 80% alors que le pourcentage d'atteinte par arbre infesté est faible (5 à10%). d'autre part, le pourcentage d'infestation de la partie du verger qui contient les arbres âgés est de l'ordre de 30% alors que le pourcentage d'atteinte par arbre infesté est élevé 70 à 80%.

Les tumeurs observées dans ce verger sont de taille différente et de couleur allant du jaune verdâtre au noir, elles sont localisées sur les rameaux et les troncs (Fig.19).

Le propriétaire de ce verger pratique la culture des légumes entre les arbres d'oliviers jeunes entre autre le melon, l'oignon, l'ail, le poivron, la tomate, et sont irrigués par aspersion. Ce mode d'irrigation peut expliquer le pourcentage élevé d'infestation chez les arbres jeunes.



Figure 19 : Symptômes observés sur les rameaux et le tronc (Original).

IV.3. Résultats des tests effectués

IV.3.1. Taille et poids des nœuds prélevés

Le poids des tumeurs verts prélevés varie entre 0.1 et 2 g avec un poids moyen de 0.992g, alors que leur diamètre varie entre 0.5 et 2.5 cm, avec un diamètre moyen de 1.3cm. Tsuji *et al* (2017) qui ont travaillé sur des isolats japonais de *Pseudomonas savastanoi* ont rapporté des diamètres de nœuds âgés de trois mois qui varient entre 5–20 mm.

IV.3.2. Isolement et purification des souches de *Pseudomonas savastanoi*

A partir des nœuds frais (jeunes) prélevés, nous avons pu isoler après trois jours d'incubation à 26°C sur le milieu King B trois types de colonies bactériennes désignés par les chiffres 01 et 02 et 03, les colonies 01 et 02 sont de couleur blanc cassé et la colonie 03 est de couleur jaune claire avec une production abondante de muqueuse. Sous lumière de la lampe à UV, les colonies 01 et 02 sont fluorescentes.

IV.3.3. Description macroscopique des trois isolats

Les trois colonies purifiées par plusieurs repiquages sur le milieu King B Afin sont caractérisées phénotypiques, les caractères retenus sont : la couleur de colonie, l'élévation ; l'abondance et la viscosité. Les résultats sont illustrés dans le tableau 08. Les isolats 01 et 02 donnent des colonies blanc cassé non visqueuse et plat après 48 h d'incubation à 26°C, alors que l'isolat 03 donne des colonies de couleur jaune claire, bombée légèrement visqueuse avec de la crème bactérienne abondante.

Tableau 08 : Résultats de la caractérisation phénotypique.

Souches	01	02	03
Couleur	Blanc cassé	Blanc cassé	Jaune claire
Élévation	Plat	Plat	Bombé
Abondance	-	-	+
Viscosité	-	-	+/-

IV.3.4. Tests biochimiques

❖ Tests de LOPAT

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

Les résultats de test LOPAT des trois souches bactériennes isolées à partir des tumeurs de l'olivier sont mentionnés dans le tableau 09.

Tableau 09: Résultats du test de LOPAT.

Tests Souches	Levane	Oxydase	Pectinase	ADH	Hypersensibilité sur les feuilles de tabac.
Boite 01	+	-	-	-	+
Boite 02	+	-	-	-	+
Boite 03	+	-	-	+	-

+ : positif - : négatif

➤ Test Levane (NAS)

La lecture des résultats des 03 souches ensemencés sur milieu Levane (NSA), a montré que toutes les souches ensemencées sur ce milieu polymérisent le fructose en poly-fructose, et sont donc levane positif (Fig.20), la description morphologique des colonies bactériennes formées par nos 3 isolats est présentée dans le tableau 10.

Tableau 10 : Résultats de la caractérisation phénotypique sur Levane.

Souches	01	02	03
Couleur	Blanc	Blanc cassé	Jaune claire
Élévation	Bombé	Bombé	Bombé
Abondance	+	+	++
Viscosité	-	-	+

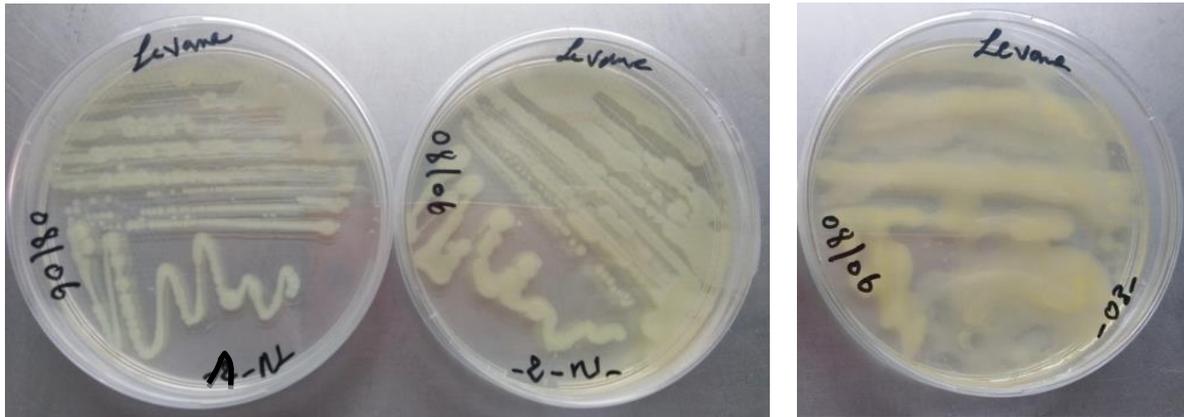


Figure 20 : Résultats de test Levane (Originale).

Ces observations ne sont pas en accord avec celles rapportés par Moretti et al. (2008) qui ont étudié 53 isolats de *P. savastanoi pv savastanoi*, et ils ont rapporté que tous les isolats étaient levane négatif. Cependant des souches levane positif ont été décrites par d'autres auteurs (Marchi *et al.*, 2005 ; Khezri *et al.*, 2019).

➤ Test Oxydase

Les résultats de ce test montrent que les 03 isolats présentes une réaction négative (absence de coloration violette) (Fig.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.

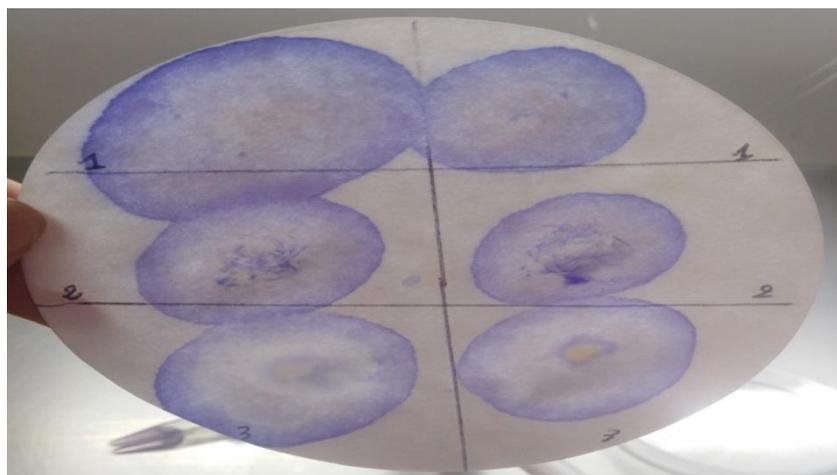


Figure 21 : Résultat de test oxydase (Originale).

Les résultats obtenus 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)

➤ **Test Pectinase**

La lecture des résultats du test pectinase sur les tranches de pomme de terre a montré que les 03 souches utilisées ne dégradent pas la pectine et pas de formation des nécroses (Fig.22). Elles sont déduites comme étant des souches à pectinase négatif. Ces résultats sont en concordance avec ceux obtenus par Guido *et al.*,(2005) et qui ont rapporté que les *Pseudomonas savastanoi* ne dégrade pas les pectines.

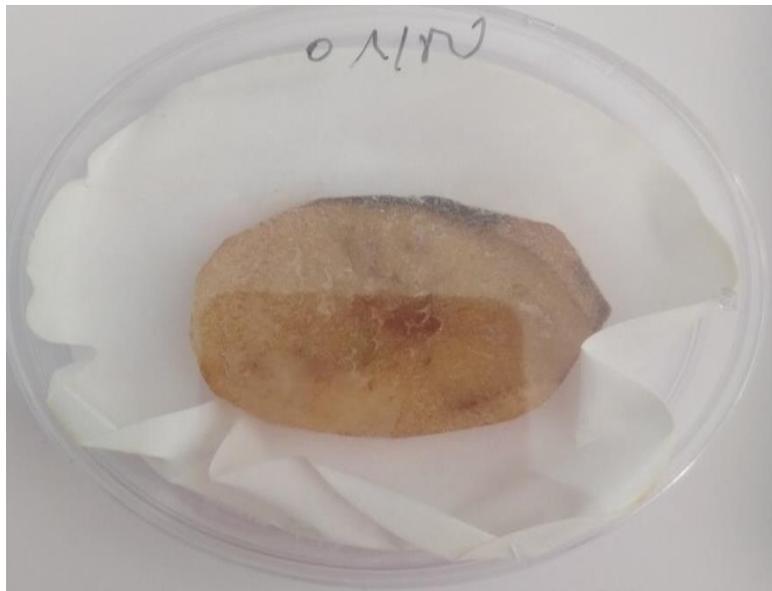


Figure 22 : Résultat de test pectinase (Originale).

➤ **Test d'Arginine dihydrolase (ADH)**

Le test ADH déduit de la galerie API 20E a donné des résultats négative (couleur jaune), pour les souches 01 et 02, et sa nous montre l'absence de l'arginine d'hydrolase, ce dernier est une enzyme capable de dégrader l'arginine en ammoniac et amines (composées basiques) (Melotto *et al.*, 2013) . Pour la souche 03, le résultat est positif (couleur rouge) donc présence de l'arginine d'hydrolase (Fig.23).

Les données bibliographiques rapportent que tous les souches de *Pseudomonas savastanoi* isolés jusqu'à maintenant sont tous oxydase négatif (Lamichhane et Varvaro, 2013 ; Quesada *et al.*, 2010 ; Khezri *et al.*, 2019) ,



Figure 23 : Résultat de test d'Arginine dihydrolase (ADH) (Originale).

➤ Test d'hypersensibilité sur feuilles de Tabac

Dans ce test les résultats sont variées, suivant les souches, il y'a une différence dans le temps de l'apparition des nécrose sur les feuilles du tabac. Pour les souches 01 et 02, les nécroses apparaissent dans les 24h, alors que pour la souche 03, la réponse apparait après 7 jours (Fig.24). Le test d'hypersensibilité sur tabac met en évidence le pouvoir phytopathogène d'une bactérie donnée, la bactérie est considéré phytopathogène si il y'a formation du nécrose dans les 24 qui suivent l'injection de la suspension bactérienne (Borkar, 2018). Les résultats obtenus pour les souches 01 et 02 sont en concordance avec ceux observé sur les souches de *Pseudomonas savastanoi* (Marchi *et al.*, 2005 ; Khezri *et al.*, 2019).

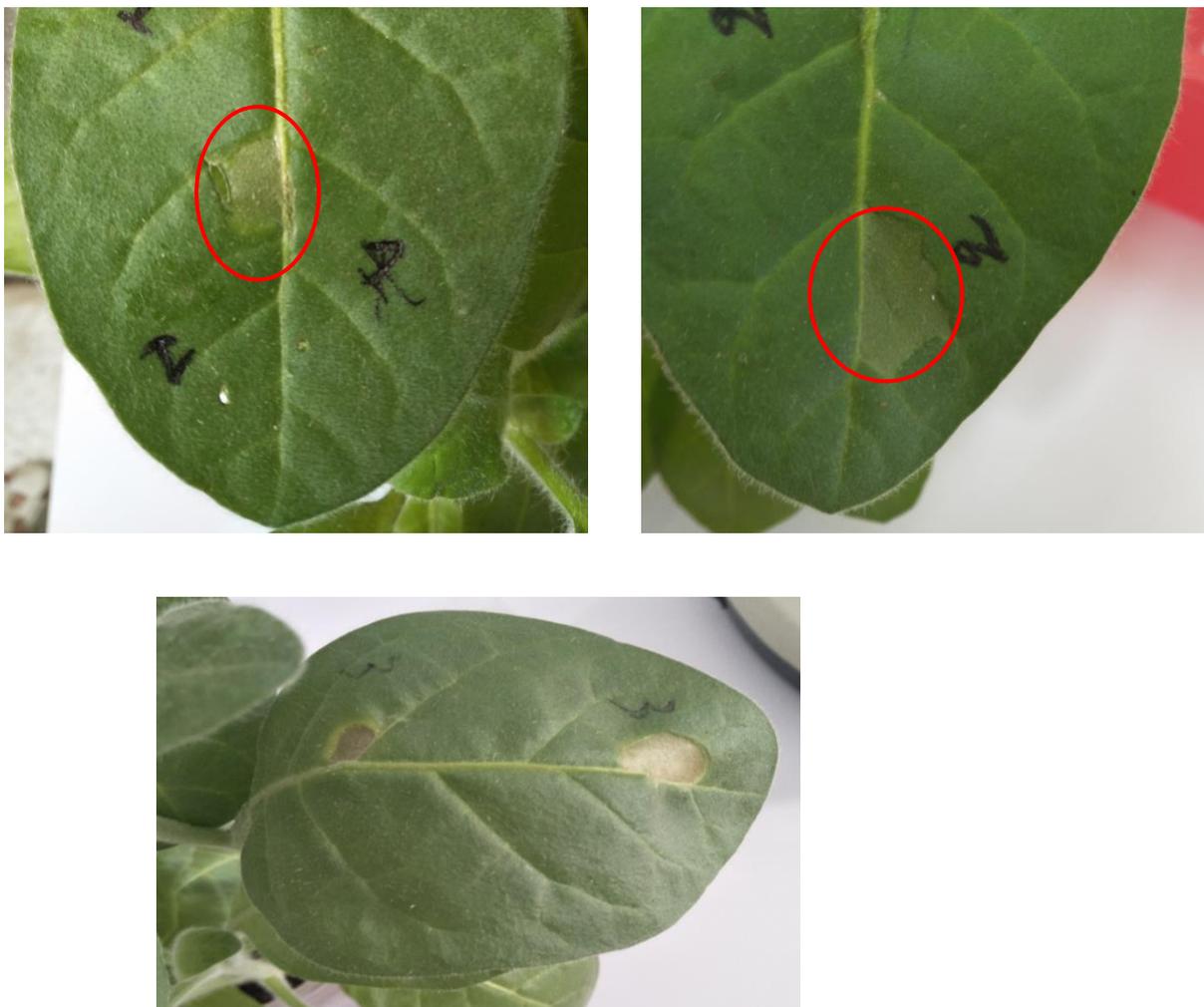


Figure 24 : Résultat de test d'hypersensibilité sur feuilles de Tabac), Haut : Réactions observées après 24h (souche 1 et 2°) ; Bas : Réaction observée après 7 jours (souche 3).

❖ Autres tests biochimique

Les résultats de test KOH, Catalase et le test de la florescence sont résumés dans le tableau 11.

Tableau 11: Résultats des autres tests biochimiques.

Tests	KOH	Catalase	Fluorescence
Boite 01	+	+	+
Boite 02	+	+	+
Boite 03	+	+	-

+ : Réaction positive - : Réaction négative

➤ **Test indicateur du Gram KOH**

Les résultats obtenus dans ce test montrent que toutes les souches isolées (03 colonies) ont leurs paroi de type Gram -, la réaction positive se traduit par la formation du filament lorsque la crème bactérienne est mélangé avec la solution du KOH (Fig.25). Selon Coléno, (1973) et Suslow *et al.* (1982), seules les bactéries de type gram négatives sont lysées lorsque les cellules sont mélangés avec une solution de KOH à 3%.

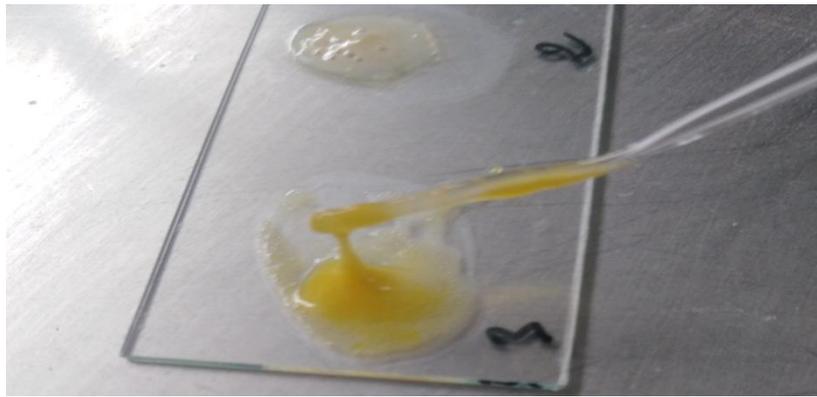


Figure 25 : Résultat de test KOH (Originale).

Nos résultats sont en accord avec tous les travaux réalisés sur *Pseudomonas savastanoi* (Marrch *et al.*, 2005 ; Young, 2004 ; Khezri *et al.*, 2019)

➤ **Test catalase**

La bactérie qui contiennent l'enzyme de catalase dite bactérie à catalase +, peuvent décomposer le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau : $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. Cette décomposition forme des bulles grâce à cette l'enzyme.

Les résultats de ce test étaient positifs pour tous nos isolats (Fig.26). Les données bibliographiques confirment que tous les souches de *Pseudomonas savastanoi* possèdent l'activité catalase (Khezri *et al.*, 2019).

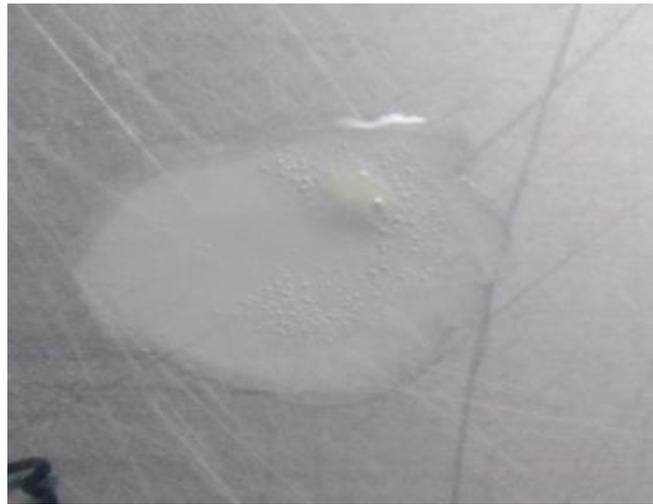


Figure 26 : Résultat positif du test catalase (Originale).

➤ **Test de fluorescence**

Parmi les caractères essentiels des *Pseudomonas savastanoi* est la fluorescence sous la lumière UV lorsqu'ils sont cultivés sur le milieu King B. Les colonies cultivées sur ce milieu produisant une pigmentation jaune-verdâtre (pyoverdine) qui est fluorescente sous la lumière UV. Dans nos essais, cette fluorescence a été observée seulement dans le cas de la souche 01 et 02 (Fig.27).



Figure 27 : Résultat de test de fluorescence sous lampe UV (Originale).

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

➤ **Test de galerie API 20^E**

Résultats obtenus de tests de galerie API 20^E des 03 souches bactériennes sont groupés dans le tableau 12.

La souche 01 est positive pour le test d'utilisation du citrate, le test de l'activité gélatinase et pour la fermentation de l'arabinose elle est négative pour tous autres tests restant. La souche 02 est positif pour les tests suivants ; l'activité β -galactosidase, utilisation du citrate, l'activité gélatinase et pour la fermentation de Mélibiose et l'amygdaline, elle est négatif pour les tests restant

Tableau 12 : Résultats de la Galerie API 20 E

	Test	Souche 1	Souche 2	Souche 3
1	ONPG : β -galactosidase	-	+	+
2	ADH : Arginine dihydrolase	-	-	+
3	LDC : lysine décarboxylase	-	+	-
	ODC : ornithine décarboxylase	-	-	-
5	CIT : utilisation du citrate	+	+	+
6	H2S : production de sulfure d'hydrogène	-	-	-
7	URE : activité uréase	-	-	-
8	TDA : tryptophane désaminase	-	-	-
9	IND : production d'indole	-	-	-
10	VP : détection de l'acétoïne	-	-	+
11	GEL : gélatinase	+	+	-
12	GLU : fermentation du glucose	-	-	+
13	MAN : fermentation du mannose	-	-	+
1	INO : fermentation de l'inositol	-	-	+
15	SOR : fermentation du sorbitol	-	-	-
16	RHA : fermentation du rhamnose	-	-	+

17	SAC : fermentation du saccharose	-	-	+
18	MEL : fermentation du mélibiose	-	+	+
19	AMY : fermentation de l'amygdaline	-	+	+
20	ARA : fermentation de l'arabinose	+	-	+

La souche 03 est positive pour l'activité β -galactosidase, l'activité Arginine dihydrolase utilisation du citrate, la production de l'acétoïne et pour la fermentation du glucose, mannose, rhamnose, saccharose, l'inositol, mélibiose, l'amygdaline et l'arabinose. Elle est négative pour le reste.

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

III.3.5. Tests de pathogénéité

Les tests de pathogénéité consistent à reproduire les symptômes de la maladie sur des plantes hôtes inoculés artificiellement dans le laboratoire. Dans notre cas on vise à reproduire la formation des nœuds sur des plantes d'oliviers saines ou plantes alternatives après inoculation par nos souches. Les résultats de deux tests de pathogénéité sont groupés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Résultats des tests de pathogénéité.

Tests Souches	Phytopathogénéité sur l'olivier	Pathogénéité sur tranches de carotte
souche 01	+/-	-
souche 02	+	-
souche 03	-	-

+ : Réaction positive **-** : Réaction négative

➤ Test phytopathogénicité sur plantes l'olivier

Nous avons établi qu'un *P. s. pv. savastanoi* peut provoquer la formation de nœuds sur l'olivier. Dans nos essais, la première formation de nœuds sur les rameaux et des brindilles de l'olivier a été observée dans 03 semaines après l'inoculation pour la souche 02, des chancres ont apparu un mois après l'inoculation pour la souche 01 et pas de formation des nœuds dans des rameaux inoculé de souche 03 (Fig.28).

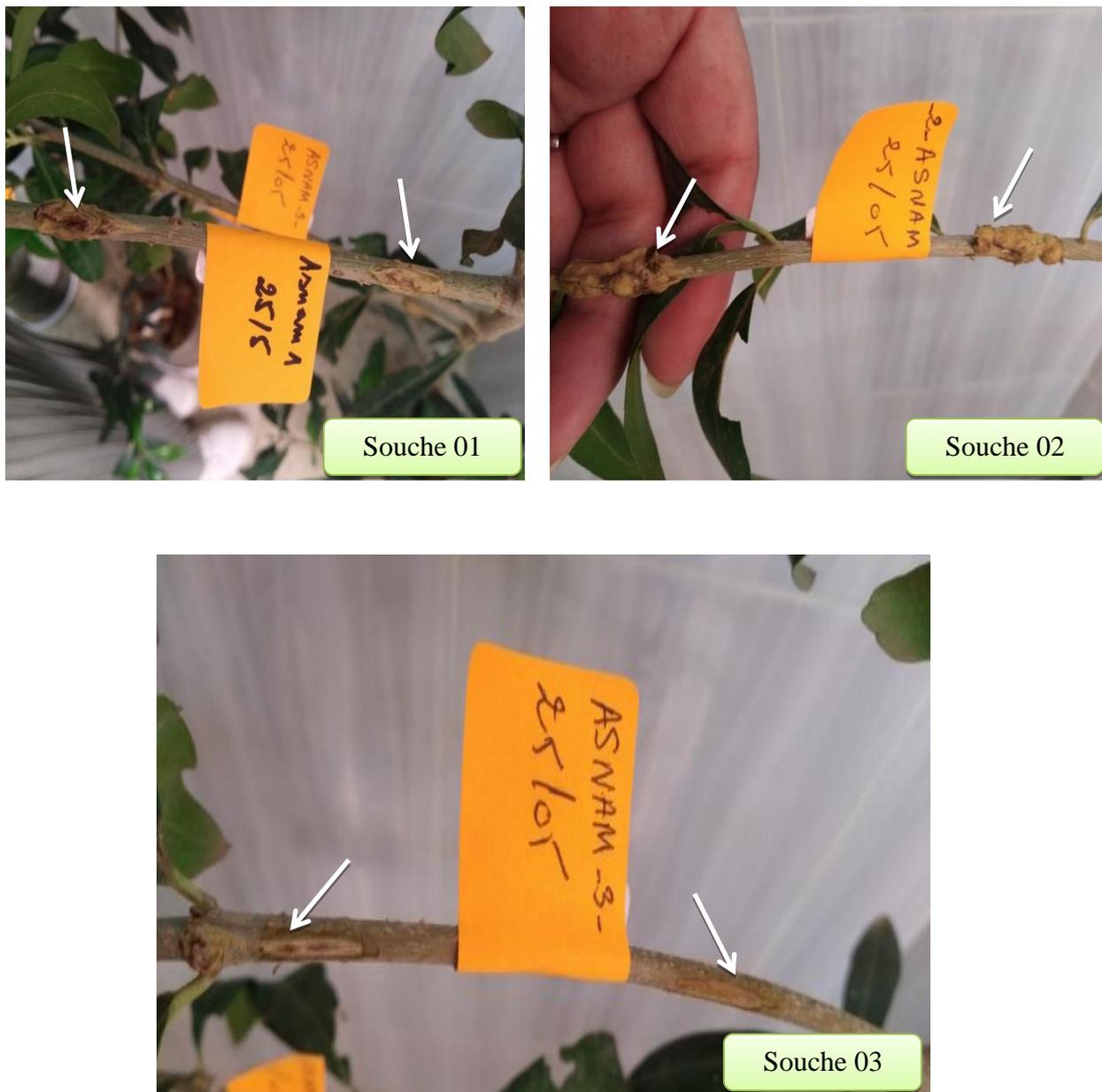


Figure 28 : Résultats de test phytopathogénicité de l'olivier (Originale).

La souche n 2 a reproduit clairement les nœuds sur les trois répétitions, donc son identification est confirmée comme étant *Pseudomonas savastanoi*. La souche a reproduit des chancres et début de formation de nœud dur 2 répétitions, Pour son identité, on ne peut pas dire avec certitude qu'il s'agit de *Pseudomonas savastanoi*, on peut suggérer que il s'agit d'une souche non pure constituée de mélange de *Pseudomonas savastanoi* avec une autre bactérie fluorescente.

➤ Test de pathogénéité sur tranches de carotte

Nous avons effectué ce test pour confirmer les résultats d'un article publié récemment (Doksöz et Bozkurt, 2020). Les résultats de test de pathogénéité sur tranche de carotte ont été négatifs pour les 3 souches étudiées, (il n'y a pas reproduction de formation des nœuds).

Nos résultats ne sont pas en accord avec les auteurs de cet article qui a confirmé que les souches de *Pseudomonas savastanoi* peuvent reproduire des nœuds sur les tranches de carotte (Fig.29). Cependant les résultats de cet article n'ont pas été vérifiés par d'autres auteurs et sur une grande gamme de souches.



Figure 29 : Résultat de test de pathogénéité des tranches de carotte (Originale).

IV.3.6. Test PCR (Polymerase Chain Reaction)

Le test PCR a été effectué seulement sur la souche 02 et a permis de confirmer l'identité par l'amplification de gène IAAL responsable de la production de l'acide indole-3-acétique (AIA) qui est un phytohormone produit par *Pseudomonas savastanoi*, ce gène est responsable de la formation des tumeurs sur l'olivier (Marchi *et al.*, 2009). Le poids moléculaire de ce

gène est de 454 pb ; nous avons remarqué la présence d'une bande ADN au niveau de marqueur du poids de 400 pb ce qui confirme bien que la souche 2 possède le gen IAAL (Fig.30). Nos résultats sont en accord avec ceux annoncés par Penyalver et al. (2000).

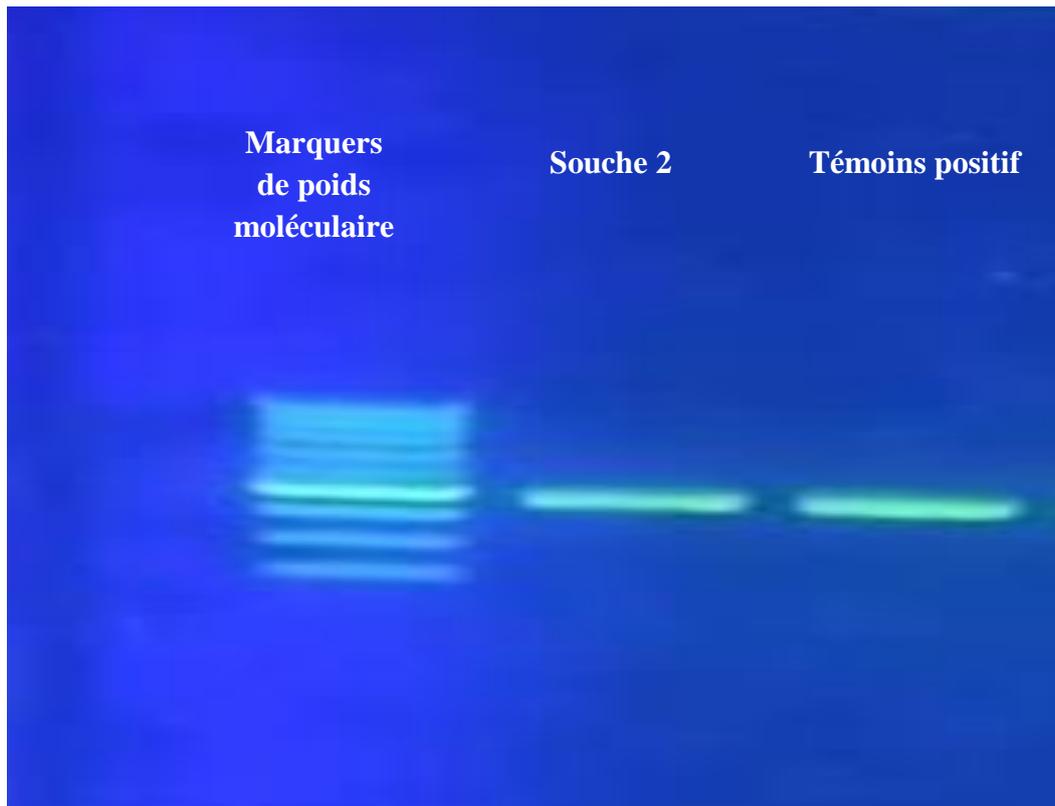


Figure 30 : résultats de la PCR

CONCLUSION

GENERAL

Conclusion générale

La culture de l'olivier est en constante extension en Algérie durant ces dernières années, cette extension a engendré une augmentation des rendements en olive et en huile d'olive, mais elle a aussi causée la propagation de certains nombres de maladie dont on cite la tuberculose de l'olivier.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la tuberculose de l'olivier dans la wilaya de Bouira, une wilaya oléicole par excellence. Les prospections préliminaires dans 7 vergers au niveau de la commune de L'El Asnam ont révélé la présence de la maladie dans cinq vergers avec des pourcentages d'attaque allant de 5 à 80%. La taille des tumeurs observées sur les rameaux et sur le tronc varie entre 0.5 et 15 cm en diamètre.

L'isolement des bactéries sur le milieu King B a concerné des tumeurs provenant d'un seul verger de la commune d'El Asnam et a donné trois isolats dont deux présentent des caractéristiques morphologiques de *Pseudomonas savastanoi*. Les tests biochimiques effectués ont révélé que ces trois souches sont de gram négatif, catalase positif, oxydase négatif, pectinase négatif, levane positif. Les souches ont répondu différemment aux tests de l'activité gélatinase, arginine dihydrolase, utilisation de citrate et la fermentation des sucres. La réponse a été variable aussi vis à vis du test d'hypersensibilité sur feuille du tabac et vis à vis du test de pathogénéité.

Le test PCR effectué seulement sur la souche 02 a permis de confirmer avec certitude l'identité de cette souche comme étant *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi*.

En perspective, il est intéressant de compléter cette étude avec les tests biochimiques complémentaires qui auront pour but une caractérisation plus précise des souches. Et d'élargir la zone d'étude vers toutes les régions à vocation oléiculture. Il sera utile également d'effectuer des analyses génétiques pour connaître s'il y a une variabilité génétique de *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* dans la région de Bouira ou entre les différentes souches isolées sur le territoire nationale pour pouvoir comparer l'agressivité de ces souches.

REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographiques

1. AFEDOL.ASSOCIATION FRANÇAISE INTERPROFESSIONNELLE DE L'OLIVE] en ligne (page consultée le 03/05/2021) Disponible sur : <http://afidol.org/lettres-d'information>
2. Alloum D., 1974. L'oléiculture algérienne. Options méditerranéennes n°24. Pp : 45-48.
3. AOP, (2016). Appellation d'origine Protégée, huile d'olive et olive. (Ph. D.). Universidad Politécnica de Valencia, Spain.
4. Benedicte, D. (2015).Dictionnaire visuel des arbres et arbustes communs : olivier. Paris : Ulmer.319p.
5. Bensemmane A., 2009. L'oléiculture: Développons le secteur de l'Huile d'Olive en Algérie. Revue Fillaha Innove N°4 Avril-Mai 2009. 23p.
6. 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.
7. Borkar S.G. 2017. Laboratory Techniques in Plant Bacteriology. Boca Raton 1ere Edition, 342p.
8. Bradbury, J.F. (1986). Guide to plant pathogenic bacteria. CAB International Mycological Institute, Kew, UK, p 332.
9. Breton, C.(2006). Adaptation et évolution de l'olivier et de l'oléastre dans diverses conditions d'isolement, de culture et d'environnement. Tela Botanica. http://www.telabotanica.org/page:adaptation_evolution_olivier?langue=fr (consulté en Mai 2016).
10. C.O.I, (2006). Conseil Oléicole International, Techniques de production en oléiculture.
11. C.O.I. 2007.Tunisie : la production mondiale d'huile d'olives. Doc Internet : www.investir-en-tunisie.net/news/article.php?Id:948 (Mai 2007).
12. Clémentine, Desfemmes. (2016) .Maladies de l'olivier.2p
13. COI., 2007. Techniques de production en oléiculture.
14. Coléno A. (1973). Contribution à l'étude taxonomique de quelques Pseudomonas phytopathogènes Thèse doctorat d'état, Univ Rennes, 127 pp.
15. Cornara D. and Porcelli F. (2014). Observations on the biology and ethology of Aphrophoridae: Philaenus spumarius in the Salento peninsula.In: (eds). International

- Symposium on the European Outbreak of *Xylella fastidiosa* in Olive, Journal of Plant Pathology. 96.
16. 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.
 17. DANIEL, B. (2015).Le guide clause : guide pratique complet de jardinage. Italie : Vilmorin jardin SA.719p.
 18. Doksöz S F, Bozkurt I.A, 2020. A new and simple pathogenicity test using carrot slices for *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, causal disease agent of olive knot. Journal of Plant Pathology 102, 1173–1177
 19. EFSA (2015a). Scientific opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. EFSA Journal, 13(1): 3989.
 20. FAOSTAT, 2021. Food and agriculture organization of the United Nations. Statistics division. <http://faostat.fao.org>. Consulté le 12.06.21
 21. FAOSTAT., 2013. Site web : <http://faostat.fao.org>
 22. GAOUAR BN., 1996. Apport de la biologie de la mouche de l'olivier *Bactocera oleae* dans la région de Tlemcen, thèse de doctorat à Tlemcen P : 116.
 23. Ghasemi, A., Salehi, S., Shahriari, D., & Baniameri, V. (2006). Occurrence of oleander knot disease (*Nerium oleander*) in Tehran. *Iran Journal of Plant Pathology*, 42, 703-704.
 24. Gomes S ; Martins-Lopes P et Guedes-Pinto H., 2012. Olive Tree Genetic Resources Characterization through Molecular Markers, Genetic Diversity in Plants, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0185-7, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/genetic-diversity-inplants/olivetree-genetic-resources-characterization-through-molecular-markers>
 25. Gratraud et Pinatel , 2011. Le nouvel olivier. P18-20.
 26. Green PS, 2002. A revision of *Olea* L. (Oleaceae). Kew Bull, 57:91–140.
 27. Guido Marchi , Carlo Viti , Luciana Giovannetti and Guisepe Surico , 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.

28. Horne, T., Parker, B., & Daines, L.L ,1912. The method of spreading of the olive knot disease. *Phytopathology*. Vol. 2, pp. 101-105, ISSN: 0031-949X.
29. 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
30. Janse JD (2005) *Phytopathology: principles and practice*. CABI Publishing, Wallingford, 360 pp
31. Jilani H, Cilla A, Barbera´ R, Hamdi M ,2016. Improved bioaccessibility and antioxidant capacity of olive leaf (*Olea europaea* L.) polyphenols through biosorption on *Saccharomyces cerevisiae*. *Ind Crops Prod* 84:131–138 .
32. 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
33. Lamichhane JR, Varvaro L. 2013 Epiphytic *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* can infect and cause olive knot disease on *Olea europaea* subsp. *cuspidata*. *Australas Plant Pathol* 42: 219– 225
34. Lavermicocca, P., Lonigro, S. L., Valerio, F., Evidente, A., Visconti, A., (2002). Reduction of Olive Knot Disease by a Bacteriocin from *Pseudomonas syringae* pv. *ciccaronei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, (3), 1403-1407. DOI: 10.1128/AEM.68.3.1403-1407.2002.
35. LOUSSERT L., BROUSSE., 1978. L'olivier technique agricoles et production méditerranés, p : 44.
36. Loussert, R.& Brousse, G. (1978).L'olivier. ED. Maisonneuve et larosse, Paris, page 464.
37. Loussert,L.&Brousse, G. (1978).L'olivier techniques agricoleset production méditerranés, (Eds) Maisonneuve et Larousse, Paris, France,Page 480.
38. Maillard, R. (1975).L'olivier. Institut de vulgarisation pour les fruits, légumes et champignons. Paris, page 147.
39. 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

40. 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.
41. 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.
42. Melotto, M. & Kunkel, B.N. (2013). Virulence strategies of plant pathogenic bacteria. In: *The Prokaryotes – Prokaryotic Physiology and Biochemistry*, eds. E. Rosenberg et al. Springer-Verlag, Berlin, pp. 61-82.
43. Mendil M et Sebai A., 2006. Catalogue national des variétés de l'olivier. 100p.
44. 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.
45. Muzzalupo I ; Vendramin G.G et Chiappetta A., 2014. Genetic Biodiversity of Italian Olives (*Olea europaea*) Germplasm Analyzed by SSR Markers. *The Scientific World Journal*, 12 pages
46. Ouaouich A., Chimi H., 2007. Guide de producteur de l'huile d'olive. Organisation des Nations Unies pour le développement industriel. Vienne
47. Pagnol, J. (1996). *L'olivier*, ed. Aubbanel, 95p.
48. Penyalver R, Garcia A, Ferrer A, Bertolini E, Lopez MM ., 2000. Detection of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive plants by enrichment and PCR. *Appl Environ Microbiol* 66:2673–2677
49. Polese J. M., (2015). *L'olivier*. Padoue Italie: Papergraf. p 93
50. Quesada J.M., Penyalver R., Pérez-Panadés, J., Salcedo C.I., Carbonell E.A., López, Quesada JM, Penyalver R, Pérez-Panadés J, Salcedo CI, Carbonell EA López MM ,2010. Dissemination of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations and subsequent appearance of olive knot disease. *Plant Pathol* 59:262–269.
51. Quesada JM, Penyalver R, Pérez-Panadés J, Salcedo CI, Carbonell EA, López MM ,2010b. Comparison of chemical treatments for reducing epiphytic *Pseudomonas savastanoi* pv.

52. Rathore, M., Sharma, M., et Sharma, N., (2000). Microbial pectinase: sources, characterization and application, *Environmental Science and Biotechnology*, DOI 10.1007/s11157-012-9276-9.
53. Saad, D. (2009). Etude des endomycorhizes de la variété sigoise d'olivier (*Olea europea* L.) et essai de leur application a des boutures semi-ligneuses, Mémoire de magister, université d'Oran, 2009, 98 P.
54. Saponari M., Loconsole G., Cornara D., Yokomi R. K., De Stradis A., Boscia D., Bosco D., Martelli G. P., Krugner R. and Porcelli F. (2014c). Infectivity and transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy. *Journal of economic entomology*, 107(4): 1316-1319
55. Sasanelli R., 2009 – L'olivier, Edit, INVUFLEC, Paris, 147p.
56. Savastanoi L. 1987. Tuberculosi «tumpri dell 'oil iperplasia. *Annali della Regia Scuola Superiore di Agraria de Portic* 5: 1-117p.
57. Schaad, N.W., Jones, J.B., et Chun. W. (2001). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, APS Press. Sr Paul, Minnesota (US). Third edition, 373p.
58. Sebai A., Saibi Z., Boukari N., Saidani F., Belkacemi S., Nait Taheen R., Boulouha B., Benchabane. Etude des caractéristiques de la biologie florale chez les clones sélectionnés de la variété population « picholine marocaine» *Olivae*. (1995). N° 58 : 48-53.
59. 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.
60. 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.
61. Singleton, D.R., Powell, S.V., Sangaiah, R., Gold, A., Ball, L.M., et 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.
62. Smidt, M. et Kosuge, T. 2000. Le rôle de l'indole-3- acétique par l'accumulation d'acide alpha- Méthyle - Tryptophane mutants résistants de *Pseudomonas syringae* dans la formation de galles au laurier-rose. *Physiol Plant Pathol* 13. 203-214

63. 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.
64. Suslow T. V., Schroth M.N., Isaka M., 1982. Application of rapide method for Gram diferenciation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. *Phytopathology* , vol 72: 917-918
65. Taghavi, M., Hasani, S. (2012). Occurrence of *Pseudomonas savastanoi* the causal agent of winter jasmine gall in Iran. *Iran Agricultural Research*, 31(1), 39-48.
66. Tombesi A., 2007 - Techniques de production en oléiculture, Ed. Conseil oléicole international. Espagne.
67. Tsuji, M., Ohta, K., Tanaka, K. et 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
68. Villemur M, Dosba C, 1997 .L'olivier techniques agricoles et production méditerranées, (Eds) Maisonneuve et Larousse, Paris, France,Page 480.
69. Wilson, E.E. ,1935. The olive knot disease: its inception, development and control. *Hilgardia*, 9, pp 233-264.
70. Young, J. ,2004. Olive knot and its pathogens. *Australien Plant Pathology*, 33: 33–39.
71. Young, J. M. & Triggs, C. M. 1994 |'évaluation des testes déterminant pou pathovars de *Pseudomonas yingae* van Hal 1902 J Appl Bacterial 77 195-207.
72. Young, J.M., Saddler, G.S., Takikawa, Y., De Boer, S.H.,Vaqueterin, L.,Gardan, L.,Gvozdyak, R.I. & Stead De .(1996). Names of plant pathogenic bacteria. Review of plant pathology, 75: 721-763.

ANNEXE

Annexe 01

UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA –
DEPARTEMENT DE SCIENCES AGRONOMIQUES

FICHE D'ENQUETE

Tuberculose de l'olivier

- Date de sortie :
- Wilaya : Commune :
- Exploitation /agriculteur :
- Stade phénologique :
- Variété : Age de l'olivier :
- Superficie :
- Etat phytosanitaire de l'olivier :
- Problème phytosanitaire observés :
- Date d'apparition des symptômes :
- Pourcentage d'attaque :
- Traitements ou autres mesures utilisées :

Autres observations :

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Modèle de fiche d'enquête utilisé dans notre travail.

Annexe 02**Les réactifs utilisés dans la galerie biochimique API20E****JAMES**

R1: HCl 1N100 ml

R2: Compound J 2183.....0,66 g

VP : Voge Proskauer

• VP1

Hydroxydode potassium40 g

H₂O100ml**• VP2** α -Naphтол.....6 g

Ethanol100ml

Nitrate réductase (NR)

• NIT 1

Acide sulfanilique.....0,4 g

Acidacétique.....30g

H₂O.....70ml**• NIT II**

AN, N-dimethyl-1-naphthylamine.....0,6g

Acidacétique.....30 g

H₂O.....70ml**TDA: tryptophan desaminase**

Perchlorure de fer3.4g

H₂O.....100ml

Huile de vaseline

Poudre de Zin

Annexe 03

Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée API20.

Tests	Réactions	Composants actifs	Ajout de réactifs	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	Bêta-galactosidase	2-nitrophénil bêta-D-galactopyranoside	Non	Incolore	Jaune
ADH	Arginine dihydrolase	L-arginine	Non	Jaune	Orange ou rouge
LDC	Lysine décarboxylase	L-lysine	Non	Jaune	Orange ou rouge
ODC	Ornithine décarboxylase	L-ornithine	Non	Jaune	Orange ou rouge
CIT	Assimilation de citrate	Citrate trisodique	Non	Vert pale ou jaune	Bleu vert ou bleu
H₂S	Thiosulfate réductase	Thiosulfate de sodium	Non	Incolore ou grisâtre	Dépôt noir
URE	Uréase	Urée	Non	Jaune	Orange ou rouge violacé
TDA	Tryptophane désaminase	L-tryptophane	TDA	Jaune	Marron ou brun foncé
IND	Production d'indole	L-tryptophane	James	Jaune	Rose ou rouge
VP	Production d'acétoïne	Pyruvate de sodium	VP1 VP2	Incolore	Rose ou rouge
GEL	Gélatinase	Gélatine de bœuf	Non	Non Diffusion du charbon	Diffusion du charbon
GLU	Glucose	D-glucose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
MAN	Mannitol	D-mannitol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Inositol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	D-sorbitol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	L-rhamnose	Non	Bleu ou bleu Vert	Jaune
SAC	Saccharose	D-saccharose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
MEL	Mélibiose	D-mélibiose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Amygdaline	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
ARA	Arabinose	L-arabinose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune

Annexe 04

Tableau de l'état phytosanitaire des parcelles visitées d'avril à juin.

N°	Etat phytosanitaire général	Autres problèmes phytosanitaires observés	Système de plantation (unité mètre) et d'irrigation	Observations
1	Bon	Mouche de l'olive	-Plantation alignée, extensive (10*10) - Irrigation par gravité	- Labour - La taille - Piégeage massif contre la mouche de l'olive
2	Mauvais	- Œil de paon - Cercosporiose - Verticilliose	-Plantation alignée, extensive (9*9) -Irrigation par gravité	- Labour - La taille
3	Mauvais	- Mouche de l'olive - Teigne de l'olivier - Œil de paon	-Plantation aléatoire, extensive (9*8) -Irrigation par gravité	- Labour - Piégeage massif contre la mouche de l'olive
4	Bon	-Œil de paon	-Plantation alignée, intensive (5*5) -Irrigation par gravité	- Labour - La taille - Engrais azoté (urée 46)
5	Bon	- - Teigne de l'olivier	-Plantation alignée, extensive (10*10) -Irrigation goutte à goutte	- Labour - La taille - Engrais azoté (urée 46) - Piège à phéromone contre la teigne de l'olivier
6	Bon	- Œil de paon - Cercosporiose - verticilliose	-Plantation alignée, extensive (9*9) -Irrigation par gravité	- Labour - La taille - Désherbage mécanique
7	Bon	- Œil de paon - Jaunissement -Mouche d'olivier - Psylle	-Plantation alignée, extensive (10*10) -Irrigation par gravité et par aspersion.	- Labour - La taille - Engrais azoté (urée 46)

Résumé

L'objectif de ce travail est d'isoler et de caractériser les souches de *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* à partir des échantillons présentant des nœuds formés sur les oliviers cultivés dans la région d'El Asnam de la wilaya de Bouira. L'isolement et la purification sur le milieu king B a permis d'obtenir 3 souches de caractères morphologiques différents, les tests biochimiques effectués ont révélé que ces trois souches sont de gram négatif, catalase positif, oxydase négatif, pectinase négatif, levane positif. Les souches ont répondu différemment aux tests de l'activité gélatinase, arginine dihydrolase, utilisation de citrate et la fermentation des sucres. La réponse a été variable aussi vis à vis au test d'hypersensibilité sur feuille du tabac, test de pathogénicité et les tests moléculaires.

Mots clés : Tuberculose *Pseudomonas savastanoi*, olivier, tests biochimiques, isolement.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو عزل وتوصيف سلالات *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* من العينات التي تظهر العقد المتكونة على أشجار الزيتون المزروعة في منطقة الأصنام بولاية البويرة.

أتاح العزل والتنقية على وسيط الحصول على 3 سلالات من الخصائص المورفولوجية المختلفة king B

وأظهرت الاختبارات البيوكيميائية التي تم إجراؤها أن هذه السلالات الثلاثة سالبة الجرام ، وموجبة الكاتلاز ، وسلبية أوكسيديز ، وسلبية البكتيناز ، وإيجابية ليفان. استجابت السلالات بشكل مختلف لاختبارات الجيلاتيناز ، والأرجينين ثنائي هيدرولاز ، واستخدام السيترات ، وتخمير السكر. كانت الاستجابة أيضًا متغيرة فيما يتعلق باختبار فرط الحساسية لأوراق التبغ واختبار الأمراض والاختبارات الجزيئية.

الكلمات المفتاحية: السل *Pseudomonas savastanoi* ، شجرة الزيتون ، الاختبارات البيوكيميائية ، العزلة.

Summary

The objective of this work is to isolate and characterize the strains of *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* from samples showing knots formed on olive trees cultivated in the El Asnam region of the wilaya of Bouira. Isolation and purification on king B medium made it possible to obtain 3 strains of different morphological characters, the biochemical tests carried out revealed that these three strains are gram negative, catalase positive, oxidase negative, pectinase negative, and levan positive. The strains responded differently to tests for gelatinase, arginine dihydrolase, citrate use, and sugar fermentation. The response was also variable with respect to the hypersensitivity test on tobacco leaf, pathogenesis test and molecular tests.

Keywords: Tuberculosis *Pseudomonas savastanoi*, olive tree, biochemical tests, isolation.