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 DE BIOLOGIE



Réf:/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine: SNV Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biotechnologie microbienne

Présenté par :

Boutrik Sabrine et Fedala Sarra

Thème

Isolement et identification des agents responsables de la verticilliose et de la tuberculose de l'olivier dans la wilaya de Bouira.

Soutenu le : 27/06/2018 Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
Mme MERIBAI BOUGHELIT N	MAA.	Univ. de Bouira	Présidente
Mme. HAMID S	MCB	Univ. de Bouira	Promotrice
Melle MEBDOUA S	MCB	Univ. de Bouira	Examinatrice

Année Universitaire: 2017/2018

Remerciments

Ce travail a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre. Université Akli Mohand Oulhadj. Bouira.

Le grand Merci nous le réservons à DIEU le tout puissant pour le courage et la volonté qu'il nous a accordé pour mener à bien notre travail.

Nos profonds remerciements sont adressés à notre promotrice Mme HAMID S, d'avoir accepté de diriger notre travail avec beaucoup de compétence et d'efficacité.

Nous tenons à remercie sincèrement Mme MERIBAI BOUGHELIT pour l'honneur qu'il nous fait En acceptant de présider le jury de ce travail.

Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude à Melle MEBDOUA pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant d'examiner notre travail.

Merci à tous nos enseignants pour leurs efforts puissants au cours de toutes ces années et nous leur exprimons toute notre gratitude pour leur aide.

Nous remercions le propriétaire du verger de la famille Siad et Mr lamouri, de nous avoir permis de prélever les échantillons nécessaires pour nos étude. Nous le remercions pour son humilité et pour son accueil chaleureux.

Un grand merci chaleureux pour tous nos collègues. Nous avons partagé ensemble nos doutes et nos craintes, nous n'oublierons jamais tous les moments que l'on a partagés ensemble.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

A mes chères parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur, de leur amour inestimable, leur confiance, leur confiance, leur sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer. C'est grâce a eux que je suis arrivé la aujourd'hui, que dieu les protèges et leur procure bonne santé et longue vie.

A Ma chère sœur Saloua et mes frères Amine et Hamza.

A mon binôme Sarra.

A mes toutes chères amies.

Sabrine

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

A mes chères parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur, de leur amour inestimable, leur confiance, leur confiance, leur sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer. C'est grâce a eux que je suis arrivé la aujourd'hui, que dieu les protèges et leur procure bonne santé et longue vie.

A Ma chère sœur yasmine et mon frère Abd el malak et sa femme Amina.

A mon chère grand père.

A ma petite tante Afaf.

A mon binôme Sabrine.

A mes toutes chères amies.

Sarra

Liste des abréviations

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique.

C : Chloramphénicol.

CD: Clindamycin.

COI: Conseil Oléicole Internationale.

CTX: Céfotaxime.

DSA: Direction des services Agricole.

EDS: Eau distillé stérile.

FAO: Food and Agriculture Organization.

GEN: Gentamicine.

GN: Gélose nutritif.

INPV: Institut National de la protection des végétaux.

INRA: Institut National de la Recherche Agronomique.

NA: Acide nalidixique.

PDA: Potato dextrose agar.

TE : Tétracycline.

VA: Vancomycine.

Liste des figures

Figure 01 : Cycle annuel de l'olivier	
Figure 02 : Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin méditerranéen.	6
Figure 03 : Répartition géographique de l'olivier en Algérie	
Figure 04 : Colonie de psylle de l'olivier (Euphylluraolivina)	8
Figure 05: Cochenille noir (Saissetiaolea)	9
Figure 06 : A: Chenille mineuse de Teigne de l'olivier. B: Adulte de teigne de l'olivier.	9
Figure 07 : Dacusoleae adulte sur un olivier	10
Figure 08 :Tache foliaire classique dû au Cycloconiumoleaginum	11
Figure 09 : La verticilliose de l'olivier.	12
Figure 10 :Verticilluimdahliae	14
Figure 11 : Cycle infectieus de Verticilluimdahliae	16
Figure 12 : La tuberculose de l'olivier	18
Figure 13 :Pseudomonas savastanoi	19
Figure 14: les limites administratives d'Ait laaziz.	22
Figure 15 :les limites administratives d'El hachimia	22
Figure 16 : Isolement des souches fongiques	23
Figure 17 : Repiquage des isolats fongiques	24
Figure 18 : Isolement de <i>Pseudomonas savastanoi</i> à partir des tumeurs	25
Figure 19 : Coloration de Gram	27
Figure 20 : Test Catalase	28

Liste des figures

Figure 21 : Test Oxydase.	.28
Figure 22 : Test Mannitol mobilité.	29
Figure 23 : Antibiogramme de l'agent responsable de la tuberculose	29
Figure24 : caractères macroscopiquede l'espèce V. dahliae.	30
Figure25 : caractères microscopiquede l'espèce <i>V. dahliae</i> .sous microscope optique Gx400.	31
Figure 26 : caractères macroscopique d'une culture de sept jours d'Alternariasp	.32
Figure 27: Aspect du mycélium et des conidies d' <i>Alternariasp</i> sous microscope optique grossissement X 400.	
Figure 28 : Effet inhibiteur par confrontation directe du <i>Staphylococcus aureus</i> sur la croissance mycélienne du <i>Verticilliumdahliae</i> pour une durée d'incubation de sept jours	
Figure 29 : comparaison entre le développement mycélien du <i>V. dahliae</i> traité	34
parconfrontation directe avec <i>Staphylococcus aureus</i> , et leur témoin	34
Figure 30:pourcentage d'inhibition de développement mycélien du V. dahliaetraité par	
confrontation directe avec Staphylococcus aureus	35
Figure 31 : Effet inhibiteur par confrontation directe du <i>Staphylococcus aureus</i> sur la croissance mycélienne d' <i>Alternariasp</i> pour une durée d'incubation de sept jours à 26 °C.	36
Figure 32:comparaison entre le développement mycélien du d'Alternariasp traité	
parconfrontation directe avec Staphylococcus aureus, et leur témoin	38
Figure 33 : Pourcentage d'inhibitionde développement mycélien du <i>l'Alternariasp</i> traité parconfrontation directe avec <i>Staphylococcus aureus</i>	.37
Figure 34 : caractères macroscopique des bactéries isolées.	38

Liste des figures

Figure 35 : Aspect microscopique des souches isolées après coloration du Gram	observer
sous microscope optique X400.	39
Figure 36 : Résultat de test catalase.	40
Figure37 : Résultat de test mannitol-mobilité	41
Figure 38 : Résultat d'antibiogramme	43

Liste des tableaux

TableauN°1 : La classification botanique de l'olivier selon Therios ,2009	4
Tableau N°2 : les principales variétés d'oliviers cultivées en Algérie	7
Tableau N°3: Classification de <i>Verticilluimdahliae</i>	14
Tableau N°4 :Classification de Pseudomonas savastanoi	19
Tableau N°5 : caractérisation biochimique et physiologique de la souche bactérienne isolée.	
Tableau 06 : les résultats de lecture d'antibiogramme de la souche isolée	41
Tableau 07: Les profils de résistance des souches caractérisées.	42

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Introduction	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur l'olivier	
I .1. Historique de la culture d'olivier	3
I. 2. Classification d'olivier	3
I. 3. Cycle de développement.	4
I.4. Répartition géographique	5
I. 4. 1. Dans le monde	5
I. 4. 2. En Algérie	6
I. 6. Variétés cultivée en Algérie	7
Chapitre II : Maladies et ravageurs d'olivier	
II. 1. Les principaux ravageurs de l'olivier	8
II. 1. 1. Le psylle de l'olivier (<i>Euphylluraolivina</i>)	8
II. 1. 2. Cochenille noire de l'olivier (Saissentiaoleae)	8
II.1.2.1. Dégâts	8
II.1.3. La teigne de l'olivier.	9
II.1.4. la Mouche de l'olive (<i>Dacusoleae</i>)	10
II.2. Les maladies fongiques d'olivier	10
II.2.1. La fumagine	11
II.2.2. L'œil de paon (le cycloconium)	11

II.2.3. La verticilliose	2
II.2.3.1. les symptômes de la maladie	12
II.2.3.2. Description de l'agent pathogène	13
II.2.3.2.1. Morphologie et physiologie	13
II.2.3.2.2. La classification de <i>Verticilluimdahliae</i>	14
II.2.3.2.3.Cycle de développement et le processus d'infection de Verticillium d'ahliae	
II.2.3.3. La lutte contre la verticilliose de l'olivier	16
II.3. Les maladies bactériennes d'olivier	17
II.3.1. La bactériose ou La tuberculose de l'olivier	7
II.3.1.1. Les symptômes de la maladie	17
II.3.1.2. Description de l'agent causal	8
II.3.1.2.1. Morphologie et physiologie	. 8
II.3.1.2.2. Classification de <i>Pseudomonas savastanoi</i>	19
II.3.1.2.3. Cycle de développement de <i>Pseudomonas savastanoi</i> 1	19
II.3.1.3. La lute contre la tuberculose de l'olivier	20
Partie II : Expérimentale	
Chapitre I : Matériel et méthode	
I.1.Matériel2	21
I.1.1. Matériel biologique2	21
I.1.2. Matériels non biologique	21
I.2. Méthode	21
I.2.1. Echantillonnage	21

I.2.2.Isolement et identification	23
I.2.2.1.Isolement des souches fongiques.	23
I.2.2.2.Obtention des isolats fongiques	23
I.2.2.3.Observation macroscopique et microscopique	24
I.2.2.3.1. Observation macroscopique de la culture	24
I.2.2.3.2. Observation microscopique	24
I.2.2.4.Technique d'antagonisme.	24
I.2.3.Isolement des bactéries à partir des tumeurs	25
I.2.3.1.Prélèvement des échantillons et macération	25
I.2.3.2. Ensemencement.	26
I.2.3.3.Purification.	26
I.2.3.4.Observation macroscopique et microscopique	26
I.2.3.4.1. observation macroscopique	26
I.2.3.4.2.observation microscopique	26
I.2.3.4.3.Etude à l'état frais.	26
I.2.3.4.4.Coloration de Gram	26
I.2.3.5.Tests biochimiques.	27
I.2.3.5.1.Catalase.	27
I.2.3.5.2.Oxydase.	28
I.2.3.5.3. Mannitol mobilité	28
I.2.3.6. Le profil de résistance aux antibiotiques	29

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Isolement et identification
II.1.1 identification des espèces fongiques
II.1.1.1 Etude macroscopique et microscopique de Verticilluim dahliae35
II.1.1.2. Activité d'antagonisme
II.1.1.2.1.Confrontation directe sur milieu de culture entre Verticilliumdahliae et Staphylococcus aureur
II.1.1.2.2.Confrontation directe sur milieu de culture entre <i>d'Alternariasp</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>
II.1.2. Isolement des bactéries à partir des tumeurs
II.1.2.1. Etude des caractères macroscopiques
II.1.2.2. Etude des caractères microscopiques
II.1.2.3. Etude des caractères biochimiques
II.1.2.4. l'antibiogramme
Conclusion
Références bibliographiques 43

Résumé

Résumé

L'olivier est parmi les plus anciens arbres fruitiers cultivés principalement dans les pays méditerranéens, cet arbre est bien connu pour son intérêt alimentaire et thérapeutique.

La tuberculose et la Verticiliiose sont des maladies bactériennes et fongiques affectant les oliviers causés par *Pseudomonas savastanoi* et *Verticillium dahliae*, respectivement.

L'objectif de notre travail est l'isolement des agents pathogènes qui causent la Verticelliose et la Tuberculose chez l'olivier à partir des organes qui présentent des symptômes caractéristiques de chaque maladie sur les oliviers cultivés dans le verger de la famille Siad située à Maala commune d'Ait Laaziz et le verger Mr Lamouri situé à la commune d'Elhachimia wilaya de Bouira.

Les études macroscopique et microscopique réalisées montrent la présence de deux espèces de champignons phytopathogénes : *Verticillium dahliae* et *Alternaria sp*. La sensibilité de *Verticillium dahliae* à l'effet inhibiteur du *Staphylococcus aureus* est plus importante que la sensibilité d'Alternaria sp.

L'isolement et l'identification de Pseudomonas savastanoi ont été réalisés et assurés par des études microscopiques et biochimiques. Le test d'antibiogramme révèle que la souche *Pseudomonas savastanoi* est hautement sensible à la majorité des antibiotiques testés.

Les mots clés: Olivier, Olea europea L, chemlal, tuberculose, verticilliose, *Pseudomonas savastanoi Verticillium dahliae*, *Staphylococcus aureus*, Antagonisme, Antibiogramme

Abstract

The olive tree is among the oldest fruit trees grown mainly in the Mediterranean countries, this tree is well known for its nutritional and therapeutic interest. Tuberculosis and Verticiliosis are bacterial and fungal diseases affecting olive trees caused by *Pseudomonas savastanoi* and *Verticillium dahliae*, respectively.

The objective of our work is the isolation of pathogens that cause Verticelliosis and Tuberculosis in olive trees from organs that display characteristic symptoms of each disease on olive trees grown in the orchard of Siad family located in Maala. commune of Ait Laaziz and Mr Lamouri orchard located in the municipality of Elhachimia wilaya de Bouira.

The macroscopic and microscopic studies carried out show the presence of two species of phytopathogenic fungi: *Verticillium dahliae* and *Alternaria sp*. The sensitivity of *Verticillium dahliae* to the inhibitory effect of *Staphylococcus aureus* is greater than the susceptibility of *Alternaria sp*. The isolation and identification of *Pseudomonas savastanoi* has been achieved and ensured by microscopic and biochemical studies. The sensitivity test reveals that *Pseudomonas savastanoi* is highly susceptible to the majority of antibiotics tested.

Key words: The Olivie, *Olea europea L*, chemlal, *tuberculosis*, verticilliosis, *Pseudomonas savastanoi Verticillium dahliae*, *Staphylococcus aureus*, Antagonism, Antibiogram

Résumé

الملخص:

تعتبر شجرة الزيتون من أقدم أشجار الفاكهة التي تزرع في دول البحر الأبيض المتوسط، وتشتهر هذه الشجرة بفوائدها الغذائية والعلاجية.

verticilliose, tuberculose هما أمراض بكتيرية وفطرية تؤثر على أشجار الزيتون الناتجة عن Verticillium dahliae على التوالى.

الهدف من عملنا هو عزل العوامل الممرضة التي تتسبب في Verticelliose و tuberculose في أشجار الزيتون من الأعضاء التي تظهر أعراض مميزة لكل مرض على أشجار الزيتون المزروعة في بستان عائلة سياد الواقعة في معالا . بلدية آيت لعزيز وبستان لاموري الواقع في بلدية الهاشمية بولاية البويرة.

تُظهر الدراسات المجهرية وجود نوعين من الفطريات النباتية Verticillium dahliae و جود نوعين من الفطريات النباتية Staphylococcus aureus أكبر من حساسية Verticillium dahliae أكبر من حساسية. Pseudomonas savastanoi وقد تم تحقيق العزلة والتعرف على Pseudomonas savastanoi وتكفلها الدراسات الميكروسكوبية والكيميائية الحيوية يكشف اختبار الحساسية ان Pseudomonas savastanoi حساسة لاغلبية المضادات الحيوية التي تم اختبار ها. Tuberculose, verticillium Pseudomonas , شملال Rolea europea, شملال Rolea europea, الكلمات المفتاحية: شجرة الزيتون , Olea europea , شملال Rolea europea اختبار الحساسية.

Introduction

Les plantes constituent la majorité des ressources énergétiques dont dépendent les hommes et les animaux. Malheureusement, lorsqu'une plante est atteinte d'une maladie, sa croissance, sa fertilité et sa productivité sont affectées. Des symptômes se développent et tout ou une partie de l'organisme peut mourir. Les agents responsables des maladies de plantes sont très similaires à ceux rencontrés chez l'homme et les animaux. Ils peuvent être biologiques ou physiques (Benizri *et al.*, 2001).

Les maladies des plantes sont parfois regroupées par types de symptômes, par type d'organes qu'elles affectent et par type de plantes affectées, mais le critère le plus utile reste la classification selon le pathogène responsable de la maladie (Benjama, 2003).

Les oliviers sont parmi les plus anciens arbres fruitiers cultivés dans le bassin méditerranéen y compris l'Algérie (Benjama,2003). Ces dernièrs occupent toute fois une part très importante dans l'économie agricole de certains pays méditerranéens (FAO, 2009)

L'oliveraie en Algérie occupe une superficie de 250 000 d'hectares, elle présente 3 % de la production mondiale distribués essentiellement dans les zones montagneuses (Bartolini et Petrucelli, 2002).

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

En 2012, plus de 5.000 oliviers ont été touchés par la tuberculose à Tébessa, et en 2013,16% des oliviers à Oran et 45% à Ain-Temouchent ont été enregistrés. Jusqu'à présent, et en absence de statistique officielle, les régions atteintes par l'infection pourraient être beaucoup plus vaste (INPV, 2017).

Pseudomonas savastanoi est une bactérie largement répandue dans le sol, l'eau et l'air, c'est un agent phytopathogéne causant des excroissances, dénommé galles, des noeuds ou des tumeurs, principalement sur les parties aériennes des plantes (Benjama, 2003 ., Young , 2004). Résident commun dans la phyllosphère d'olive. Elle a la capacité de passer d'un mode de vie épiphytique à un mode de vie parasite à chaque fois que des blessures de nature diverse lui permettent d'envahir les tissus de l'hôte (Ercolani, 1978). Le résultat macroscopique est la formation de nœuds.

Introduction

Verticilluim dalhiae est un champignon se trouve dans le sol et pénètre dans l'arbre par ses racines puis progresse à l'intérieur de celui-ci véhiculé par la sève. (Resende et al.,1996). Il provoque des lésions dans le système vasculaire de l'olivier ce qui entraîne le dessèchement d'une partie de ses rameaux ou même de sa totalité puis flétrissements et des chloroses suivis de nécroses et de défoliation (Fradin et Thomma,2006).

L'objectif de notre travail est de prospecter l'existence des symptômes ses maladies d'olivier au niveau des vergers afin d'isoler à partir des fragments d'olivier infectés quelques agents pathogènes et les identifier sur la base des symptômes des maladies et leurs caractéristiques morphologiques et d'étudier leurs caractères biochimiques, sensibilité aux antibiotiques et l'effet antagonisme des souches bactériennes vis-à-vis les agents phytopathogènes isolés.

Ce document décrit notre travail et s'articule comme suit :

- ✓ Une première partie relative à l'étude bibliographique comprenant deux chapitres dont le premier est une présentation générales de l'olivier, y compris son origine, historique une description botanique de cette variété et ces exigences enfin leur répartition géographique en Algérie et dans le monde. Un deuxième chapitre décrit les principaux ravageurs et maladies de l'olivier ainsi les différents agents phytopathogènes responsables de ces maladies.
- ✓ Une deuxième partie présentant le matériel biologique utilisé, les techniques et les méthodes utilisées pour l'isolement et l'identification des agents phytopathogénes de l'olivier
- ✓ Une troisième partie concernant l'ensemble des résultats obtenus, leurs analyses et leurs discussions.

Enfin une synthèse générale des résultats obtenus, puis une conclusion résumant les différents résultats obtenus et les perspectives de ce travail.

Annexe

Annexe 01 : Matériels non biologique

Verrerie et petit matériel	Appareillage	Produites chimique réactifs
Boites de pétri stérile	Balance de précision (Scout Tm SE/SE402F)	Eau distillé stérile
Lame de microscopie	Autoclave (WiseClave)	Eau de javel
Bécher	Etuve	violet de gentiane
Spatule	Bec bunsen	alcool à 90%
Baron magnétique	Plaque chauffante(LabTech)	fuchsine
Anse de platine	Microscope optique (OPTIKA)	lugol
Pipettes pasteur		H^2O^2
Entonnoir sécateur		

Annexe

Annexe 02 : Composition en grammes par litre d'eau distillée des Milieux de culture

• Gélose nutritif (Guiraud, 1998)

Milieu de base utilisé pour cultiver et isoler les bactéries non exigeantes.

> Utilisation

Usages multiples, examen de l'eau, du lait, des aliments. Isolation de colonies en vue d'effectuer leur description, des colorations ou divers tests.

Tableau I: Gélose nutritif

composant	Quantité
Extrait de viande	1g
Peptone	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
pH=7	

• PDA (Potato Dextrose Agar)(Shadwick,1938)

composant	quantité
Extrait de pomme de terre	200g
Glucose	20g
agar	15g
Eau distillée	1000ml
PH= 5,6	

• Gélose Sabouraud (Philippe, 2018)

Neopeptone	10g	
Glucose	20g	
Agar	15g	
Eau distillée	1000ml	
$\mathbf{pH} = 7.0$		

Annexe

Annexe 03:résultants des tests d'antagonismes

Tableau I: Représente les résultats obtenus par confrontation directe entre *Escherichia coli* et *Verticillium dahliae*, et leur pourcentage d'inhibition exercé.

Jours	Diamètre de <i>V,dahliae</i> traité	Diamètre de <i>V,dahliae</i> témoin	pourcentage d'inhibition
$1^{\rm er}$	8mm	8mm	0%
2em	11mm	15mm	26.66%
3em	12mm	17mm	29.41%
4em	18mm	26mm	30.77%
5em	20mm	30mm	33.33%
6em	23mm	35mm	34.28%
7em	26mm	40mm	35%

Tableau II: Représente les résultats obtenus par confrontation directe entre *Staphylococcus aureus* et *Alternaria sp*, et leur pourcentage d'inhibition exercé.

Jours	Diamètre d <i>'Alternaria</i> <i>sp</i> traité	Diamètre de d <i>'Alternaria</i> témoin	pourcentage d'inhibition
1 ^{er}	8mm	8mm	0%
2em	10mm	11mm	9.09%
3em	12mm	14mm	14.28
4em	16mm	20mm	20%
5em	20mm	28mm	28.57%
бет	22mm	33mm	33.33%
7em	25mm	38mm	34.21%

I. Généralité sur l'olivier

I.1. Historique de la culture d'olivier

Il existe deux théories se rapportant aux premiers cultivateurs de l'olivier : certains mentionnent la Phénicie, d'autres la Crête datant de 3500 avant J.-C. ont été découverte ou l'huile d'olive y faisait l'objet d'un commerce important. Dans la Grèce antique, les oliviers étaient quasi vénérés, et des lois les protégeaient ; aucun bois d'olivier ne pouvait être vendu. Ce commerce était très contrôlé, car l'huile était fortement liée au pouvoir économique et religieux (Loumon et Giourage, 2003).

L'extension de la culture des oliviers à l'âge de bronze améliora l'équilibre diététique des Grecs et facilitera leurs éclairages. L'olivier était devenu un élément fondamental de la civilisation grecque. Au VII e et VIIIe siècle avant J.C. Les grecs fondent des vergers d'olivier sur tout le bassin méditerranéen : en Egypte, en Italie, en Espagne, en Tunisie, en Algérie, et au Maroc (Liphschitz,1991). A l'arrivée des Romains, la culture d'olivier existait déjà. Cependant ces derniers ont permis l'extension de cette culture c'est le cas de la foule mosaïque trouvée en Tunisie et en Algérie (Dahbia, 2009).

Avec la découverte de nouveau monde, les espagnoles introduisent l'olivier dans leurs anciennes colonies des Amériques, comme l'Argentine, le Mexique le Pérou, le Chili et la Californie. C'est au XIXème siècle, lors de l'apogée de la démographie des compagnes et de la colonisation européenne, que l'olivier atteint son extension maximale (Amourett et Comet, 2000). La colonisation française a contribué à l'extension de l'oléiculture en Afrique du Nord, telles que l'oliveraie de Sfax en Tunisie, de Sig en Algérie et des oliveraies situées entre Meknès et Fez, au Maroc Après plusieurs tentatives infructueuses pour introduire la culture des olives dans le centre de l'Amérique du Nord au cours du 18ieme siècle, la production d'olives a récemment commencé dans de nouveaux pays comme l'Argentine, le Chili, le Mexique, Etats-Unis (Californie), Nouvelle-Zélande, l'Australie et l'Afrique du Sud (Baldoni et Belaj, 2009).

I.2. Classification d'olivier

L'arbre d'olivier appartient à la famille des Oléacées dans l'ordre botanique des ligustrales qui comprend près de 30 genres et 500 espèces comme l'olivier sauvage (oleaster) et l'olivier cultivé (Stiva) relèvent de la même espèce Olea europea(Patrick, 2008) tableau N°1.

Tableau N°1: La classification botanique de l'olivier (Therios, 2009).

Règne	Plantae
Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliopsida
Classe	Dialypétales
Sous-classe	Lamiales
Famille	Oleaceae
Genre	Olea
Espèce	Olea europaea L
Sous-espèces	O.Europaea .europaea .Sylvestris
	O. Europaea .europaea var.europea

I.3. Cycle de développement

Après le repos hivernal de Novembre à février, la végétation démarre à partir de Mars - Avril, les pousses terminales s'allongent, les bourgeons axillaires se développent après s'être différenciés en boutons floraux ou en yeux à bois, les bourgeons végétatifs débourrent vers la fin du mois de Mars un peu après les bourgeons floraux, la floraison se déroule entre Mai et Juin, l'endocarpe (noyau) se scarifie en Juillet-aout. La pousse de printemps la plus importante dans la croissance annuelle, dure jusqu'à mi-juillet environ, une deuxième pousse peut avoir lieu entre Septembre et mi-octobre, si les conditions le permettent. Chez les arbres qui ne portent pas de fruits une croissance continue mais irrégulière peut être observée pendant toute la période de Mars à Octobre. L'ampleur de croissance des rameaux est très affectée par la quantité de fruits portés par l'arbre. Les feuilles de troisième année jaunissent puis chutent à un âge compris entre 28 et30 mois en moyenne. L'arbre rentre enfin en repos hivernal (Argenson et al.,1999). La floraison s'effectue sur la pousse de l'année précédente et sur la pousse de la deuxième année de croissance. L'induction florale est déjà intervenue 90 à 100 jours avant le début de la floraison et vraisemblablement antérieurement à une période ou aucune évolution n'est visible, ce caractère traduit une exigence pour l'oléiculture, celle de ne tailler l'olivier qu'après le bon déroulement de cette induction florale. Une taille d'automme va automatiquement conduire l'olivier à privilégier une pousse à bois déterminent d'une croissance florale. La régularité d'une pousse annuelle est par conséquent une condition pour obtenir une fructification (Himoue, 2012) Figure 01.

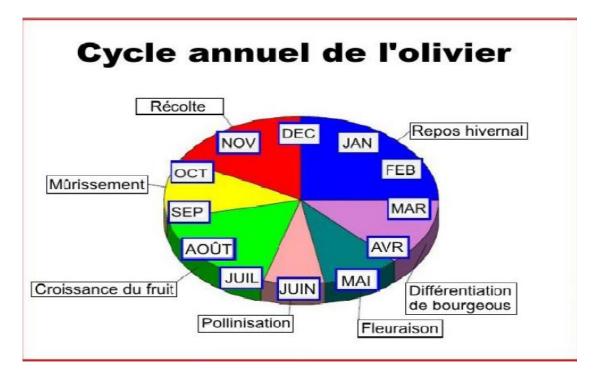
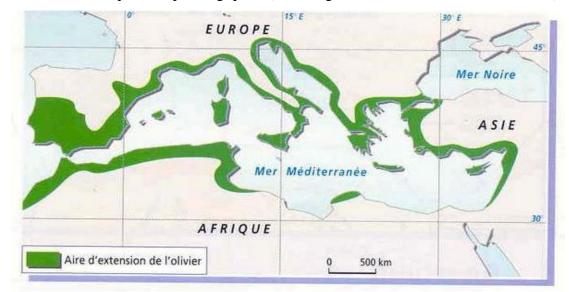


Figure 01: cycle annuel de l'olivier (AOP, 2010).

I.4. Répartition géographique

I.4.1. Dans le monde

L'aire d'extension de la culture de l'olivier définit l'airebiogéographique de la sphère méditerranéenne et du climat méditerranéen.(Ghedira K, 2008).L'olivier (*Olea europaea L*) est cultivé depuis très longtemps autour de la méditerranée et de la mer noire surtout en : Espagne, Italie,Grèce,Turquie, France, Tunisie, Algérie et Croatie. Aujourd'hui, on trouve des plantations en Californie, Australie, Afrique du sud. cette répartition géographique est influencée par des



facteurs climatiques et pédologiques (Gaussorgues, 2009; Carrion, et al., 2010).

Figure 02 : Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin méditerranéen (Ghedira, 2008)

I.4.2.En Algérie

L'Algérie grâce à sa situation géographique et à sa diversité pédoclimatique dispose d'un assortiment assez riche de variétés marquant chacune les traits édaphiques et climatiques qui caractérisent sa zone d'implantation (Douzane M., et *al* 2010).

Plus de 50% du genre algérien d'olivier est localisé en Kabylie. Le partie restante se rencontre à Jijel, Mitidja, Constantine, Oran, Biskra Eloued(COI,2009) figuer 3.

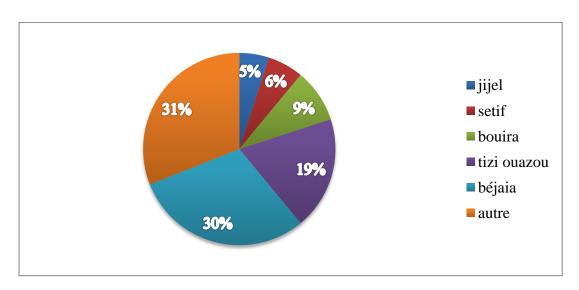


Figure 03: répartition géographique de l'olivier en Algérie (COI,2009).

I.5. Variétés cultivée en Algérie

La description des variétés d'olivier cultivées en Algérie ayant déjà fait l'objet de nombreuses études, nous ne ferons que rappeler les noms des variétés de base des principales oléicoles(Ennajeh et *al.*,2008).

Tableau N°2: les principales variétés d'oliviers cultivées en Algérie

variétés	Description
La variété Chemlal et limli	Rencontre dans toute la Kabylie, elle est considérée commz étant productrice d'huile de bonne qualité (Ennajeh et <i>al.</i> , 2008).
Les variétés, azeradj	variété de Kabylie, destinée essentiellement à la conserver en vert (Ennajeh et <i>al.</i> ,2008).
Variété sigoise	Sigoise est connu par la qualité de ses olives de tables. D'ailleurs, cette variété est plutôt destinée à la consommation des olives qu'a la production de l'huile dans l'ouest du pays (Chartzoulakis, 2005)
Rougette	Variété de l'est, connu pour son huile douce avec des olives de table rouge (Chartzoulakis,2005)

II.1.Les principaux ravageurs de l'olivier

II.1.1.Le psylle de l'olivier (*Euphylluraolivina*)

Euphylliraolivina est un ravageur fréquent et spécifique de l'olivier dans tous les pays méditerranéens. Ses dégâts se manifestent essentiellement au printemps et sont causés par les larves les plus âgées qui entravent la fécondation des grappes florales en absorbant avidement la sève des organes attaqués. Des groupements massifs de larves se forment alors sur les inflorescences, autour des fleurs non encore épanouies. Ils implantent leur rostre dans les boutons floraux ou leur pédoncule et font avorter les fleurs (Anonyme,2005).



Figure04 : Colonie de psylle de l'olivier *Euphylluraolivina*(Bruno et Hervé, 2012).

II.1.2. Cochenille noire de l'olivier (Saissetiaoleae)

Cette espèce subtropicale, généralement abondante, attaque de nombreux arbres et arbustes, notamment des plantes ornementales telles que l'olivier*Olea europaea*(Alford, 2013).

II.1.2.1.Dégâts

Les fortes infections affaiblissent les végétaux, dont les pousses et les feuilles peuvent se flétrir. Par ailleurs, les importantes quantités de miellat excrétées par les larves en développement favorisent un rapide envahissement par la fumagine, qui va contribuer elle aussi à affaiblir la plante (Alford, 2013).

Chapitre II : Maladies et ravageurs de l'olivier



Figure 05: Cochenille noire Saissetiaoleae (Alford, 2013).

II.1.3. La teigne de l'olivier

La Teigne de l'olivier, de la famille des Yponomeutidés, effectue trois générations annuelles, les trois générations occasionnent des dégâts sur feuilles et pousses, sur pièces florales et sur fruits. la consommation des organes floraux par les jeunes chenilles rend toute fécondation impossible. Dans des conditions particulièrement humides, la destruction de la floraison peut être quasi-totale.

Les dégâts sur fruit se manifestent par deux chutes successives, la première intervient en juillet. Une deuxième chute peut intervenir en septembre octobre, lorsque la chentille quitte le fruit et fore une galerie en direction du pédoncule. On estime que la teigne provoque 30 à40% des pertes d'olive (Argenson et *al.*, 1999).



Figure 06 :A:Chinille mineuse de Teigne de l'olivier. **B:** Adulte de teigne de l'olivier (Bruno et Hervé,2012).

II.1.4. la Mouche de l'olive (*Dacusoleae*)

Le principal ennemi de l'olivier, celui qui préoccupe le plus vivement dans ce moment-ci l'opinion publique, c'est la mouche appelée *Dacusoleae* scientifiquement, et de temps immémorial Queiron, Keiroun ou Keiron par les cultivateurs (Peragallo,1882).



Figure 07: Dacusoleae adulte sur un olivier (Peragallo, 1882).

La mouche de l'Olive cause des dégâts à la fois qualitatifs et quantitatifs. Les fruits attaqués ont un aspect fripé. L'adulte quitte le fruit en creusant un trou de 1 mm de diamètre environ parfaitement visible et caractéristique, il forme une petite tache brune aux bords nécrosés. Le développement de la larve à l'intérieur de l'Olive affecte directement l'alimentation du fruit, sa maturation et sa force d'attachement au pédoncule, provoquant ainsi une chute accélérée. En mettant la pulpe de l'Olive au contact de l'air et des déjections de la larve, la qualité de l'huile est altérée par augmentation du taux d'acidité (I. N. P. V, 2009).

II.2.Les maladies fongiques d'olivier

L'ensemble des maladies de l'olivier entraîne des chutes de rendement considérables et représente une menace pour l'oléiculture. La fumagine, le cycloconium ou l'œil de paon et la verticilliose sont des maladies fongiques qui peuvent occasionner le plus de dégâts au niveau de l'olivier car elles s'attaquent non seulement aux feuilles mais également aux fruits(Ghezlaoui, 2011).

II.2.1.La fumagine

La fumagine ou « noir de l'olivier » est une maladie colportée par différents champignons qui se développent sur les substances sucrées du miellat sécrété par les insectes suceurs de sèves (cochenille noire de l'olivier, psylle).

Les feuilles sont recouvertes d'une sorte de poussière noire ressemblant à de la suie, empêchant l'arbre de respirer et le condamnant à mourir par asphyxie (Aygalliers ,1900).

La fumagine est en fait le produit d'un complexe de plusieurs champignons appartenant à deux groupes:

- Ascomycètes, ordre de Périsporiales, famille des Capnodiacées, genre Capnodium, espèce: Capnodium *Olea arnaud, Méridionale arnaud, Herbarumlink; Salicinum mont. Oleaphilumprill*(Argenson et *al.*, 1999).
- ➤ Deutéromycètes, ordre des Hyphales, famille des Dématiacées : CladosporiumherbarumLink, CladosporiumfumagoLink, formes conidiennes de CapnodiumsalicinumMont, et AlternariatenuisNeos (Argenson et al., 1999).

II.2.2. L'œil de paon (le cycloconium)

L'œil de paon cette maladie est aussi appelée « tavelure de l'olivier ». Il s'agit d'un champignon cryptogamique(*Cycloconiumoleaginum*) attaquant les feuilles de l'arbre dès le printemps, à la faveur d'une hygrométrie suffisante. Les symptômes consistent en des taches circulaires allant du jaune au centre au brun-vert sur les bords, évoquant l'œil de paon, d'où le nom donné à la maladie (anonyme, 2005).



Figure 08: Tache foliaire classique dû au *Cycloconiumoleaginum*(RsNeun.1968).

II.2.3.La verticilliose

La verticilliose est, l'une des maladies les plus graves de l'olivier. Elle est causée par un champignon présent dans le sol, *Verticilliumdahliae*, qui affecte d'abord les racines puis le système vasculaire de l'arbre, et cause des dommages dans les parties aériennes. Selon l'ampleur de l'atteinte, la verticilliose se manifeste par le dessèchement brutal d'un ou plusieurs rameaux ou de branches plus grosses, parfois même de l'arbre entier. Les feuilles prennent une teinte grise puis brune, et le bois se colore de brun-rouge (Clémentine, 2016).

II.2.3.1.Les symptômes de la maladie

Les symptômes sont très fréquents et grave dans les années humides ou dans les zones où le sol est excessivement humide en été. L'intensité de la maladie varie de saison en saison, les plantes atteintes peuvent sembler saines l'année suivante et pendant ensuite plusieurs année (Levin ,2003).

Cette maladie n'affecte généralement qu'une partie de l'arbre, une branche ou une charpentière située à proximité du tronc. Les feuilles de la partie attaquée se recroquevillent légèrement vers la nervure centrale de la face inférieure, perdent leur coloration vert franc pour virer au brun clair, puis se dessèchent complètement. Sur les ramifications atteintes, les fleurs ou les fruits restent suspendus.les attaques sont brutales .elles peuvent s'accompagner d'une émission abondante de rejets soit au pied de l'arbre soit à la base de la charpentière infestée (Argenson et *al.*, 1999).



Figure 09 : la verticilliose de l'olivier (Levin, 2003).

II.2.3.2.Description de l'agent pathogène

Le genre *Verticillium* a une longue histoire taxonomique. Il a été évoqué pour la première fois en 1816 par Von Ness. Il désignait un groupe de Deutéromycètes caractérisés par un conidiophore verticillé d'où le nom *Verticllium*, à l'époque cette définition incluait plus de 50 espèces dont les parasites d'insectes. De nématodes ou d'autres champignons et un groupe d'espèces particulières qui provoquent des maladies de flétrissement vasculaire chez les dicotylédones. Ces derniers de distinguent des autres par le fait qu'elles forment des structures de dormance. dans ce groupe on trouve *Verticilluimalbo-atrum*, *Verticillumdahliae*, *Verticilluimtricopus* et *Verticilliumnigrescens*. L'agent causal le plus important économique et le plus étudié est *verticilluimdahliae* (Toueni, 2014).

II.2.3.2.1. Morphologie et physiologie

Verticillumdahliaeest un microchampignon qui se conserve dans le sol sous forme de microsclérotes, petits amas de cellules (0.1 à 0.5 mm) à paroi très épaissie et protégée. Ces organes peuvent ainsi subsister de nombreuses années dans le sol (5 à 10 ans). Ce sont les racines de la plante hôte qui par leurs sécrétions vont stimuler la germination de ces espèces de graines. Le filament produit va s'insinuer dans la racine surtout si cette dernière porte des blessures (Gratraud et Pinatel, 2011).

Le champignon porte des conidiophores disposés en verticilles autour de l'axe principal de l'hyphe. Une phialide se trouve à l'extrémité de chacune de ces branches et les conidies sont formées une par une à l'extrémité de la phialide. Les conidies peuvent s'agglomérer à l'extrémité des phialides. Par ailleurs, *Verticilluimdahliae* produit sous certaines conditions des microsclérotes. Cette particularité permet de le distinguer de *Verticilliumalbo-altrum*(Gratraud et Pinatel, 2011).

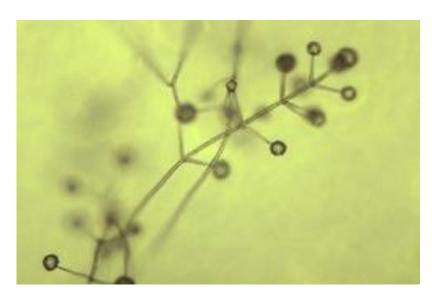


Figure 10 : Verticilliumdahliae (Luis Gómez-Alpízar, 2001).

II.2.3.2.2. La classification de Verticilluimdahliae

Tableau N°03: Selon (Botton et al., 1990) Classification de *Verticilluimdahliae*.

Règne	Mycota
Division	Ascomycota
Subdivision	Sordaryomycétes
Classe	Hypocreomycetidae
Ordre	Incertaesedis
Famille	Plectophaerellaceae
Genre	Verticilluim
Espèce	Dahaliae

II.2.3.2.3. Cycle de développement et le processus d'infection de Verticilliumdahliae

Le cycle de développement de *Verticilliumdahliae*se déroule en deux phases, une phase non parasitaire et une phase parasitaire.

a. La phase nonparasitaire

Les microsclérotes sont des structures de résistance, incorporés dans le sol lors de la dégradation des débris végétaux pendant la phase non-parasitaire du cycle de vie de *Verticilliumdahliae*. Ces structures de repos peuvent résister aux facteurs biotiques et abiotiques défavorables, se trouvant habituellement dans les sols, et restant viables pour un maximum de 15 ans en attendant que les conditions environnementales soient favorables. En revanche, les hyphes et les conidies de *Verticilliumdahliae* perdent leur viabilité dans les sols pendant une courte période de temps (Prieto et al., 2009). La dispersion des MS. Se fait par un certain nombre de mécanismes naturels (mouvement du sol, l'air, l'irrigation...etc.) et humaines (engins...etc.). L'efficacité de la dispersion de certains de ces mécanismes peut expliquer la large distribution de la pathogènicité dans certaines zones de culture d'oliviers (Navas-Cortés et al., 2008).

b. La phaseparasitaire

Cette phase du cycle biologique de Verticillium dahliae commence avec la germination de la MS dans le sol, stimulée par la présence de racinaires de plantes sensibles ou non sensibles. Cette germination donne lieu à la formation d'hyphes qui pénètrent dans les racines. La pénétration d'hyphes infectieux dans le système racinaire d'olive se fait par les blessures produites naturellement (nématodes), ou par les dommages causés par l'homme (pratiques culturelles). Une fois installer dans le système vasculaire des racines, la colonisation du pathogène des tissus de la partie aérienne des plantes peut être très rapide, et peut éventuellement atteindre les pétioles des feuilles (Heinz et al., 1998).

En effet, *Verticilliumdahliae* peut progresser sur toute la longueur de la plante à l'aide d'un processus cyclique comprenant la prolifération des hyphes, la production et la germination des conidies. La production de conidies semble être favorisée dans les vaisseaux duxylème des arbres, probablement dû à un environnement physico-chimique particulier (Prieto*et al.*, 2009).

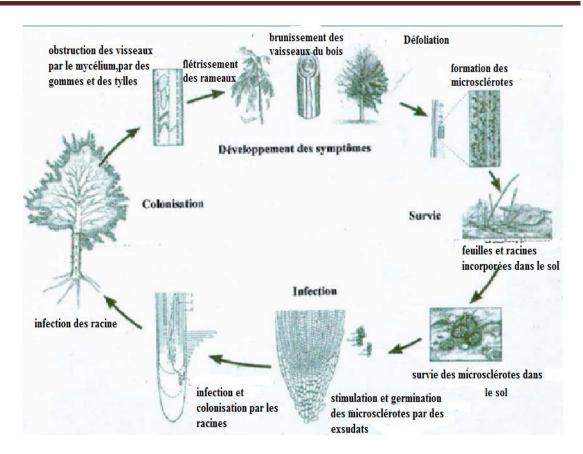


Figure 11: Cycle infectious de Verticilluium dahliae (Hiemestra, 1998)

II.2.3.3. La lutte contre la verticilliose de l'olivier

Comme la plupart des maladies vasculaires causées par des organismes fongiques, la verticilliose d'olivier, est difficile à contrôler. Parmi les facteurs qui entravent leur contrôle sont: la large gamme de plantes-hôtes sensibles, la capacité à survivre dans le sol et l'emplacement dans le xylème, ce qui entrave l'accès pour effectuer des traitements chimiques. Dans le cas particulier de l'olivier, le contrôle de *verticilluimdahliae*doit être conçue dans un contexte de gestion intégrée, une série de mesures qui commencent avant l'établissement de la plantation et devrait se poursuivre durant le développement des cultures (Bhat et Subbarao, 1999).

En cas de persistante de la verticilliose, une attention toute particulière sera apportée pour l'entretien du sol :

- Arrachage des pieds de plantes support (amarante, chénopode, morelle, Luzerne
 ...)
- Mise en place d'un couvert végétal permanent compose de graminées (fétuque, pâturin,brachypode ...) ou de moutarde blanche (crucifère).

Chapitre II : Maladies et ravageurs de l'olivier

➤ Désherbage chimique sur le rang, si la culture n'est pas efficace contre la morelle sinon en cas de culture biologique,enherber la totalité du verger et faucher.

Des méthodes prophylactiques complémentaires visant à limiter la vigueur des arbres sont à mettre en place dans tout le verger:

- > Arrét des fertilisations importantes.
- Forte limitation des irrigations (Gratraud et Pinatel, 2011).

II.3. Les maladies bactériennes d'olivier

II. 3.1. La bactériose ou La tuberculose de l'olivier

C'est une maladie infectieuse causée par une bactérie *P*seudomonas *savastanoi*qui a été signalée au 4^{éme} siècle par le grec, Theophrastus. Le pathogène semble avoir été disséminé avec des plantes d'olivier puis étendus et propagés dans beaucoup de régions dans le monde. Cette bactérie, a été isolée par Luigi savastanoi (Bradbury, 1986).

Le nom actuel est *Pseudomonas savastanoi* (Gardan*et al.* 1992). Cette bactérie est considérée comme le seul pathogène responsable de la formation des nœuds (nécroses) bactériennes es olives (Philippe, 2007). En Italie, la maladie est appelée « rogne » de l'olivier, en Espagne « verrue » ou« Tuberculose » de l'olivier, en France et en Afrique du Nord on lui donne le nom de Tuberculose ou le chancre bactérien de l'olivier.

La maladie agit sur la croissance des repousses et elle affecte les organes reproducteurs, et s'attaque même à d'autres plantes comme le laurier rose, le frêne, le troène, le jasmin, Elle peut tuer les arbres si les infections se produisent sur la ceinture et les troncs de jeunes arbres pour cause de blessure de taille (Gardan*et al.* 1992).

Cette maladie est parmi celles qui produisent le plus de dommages sur la culture de l'olivier, affectant même la qualité des fruits et donnant naissance à des odeurs indésirable. (Hall *et al.*, 2004).

II.3.1.1. Les symptômes de la maladie

Le symptôme caractéristique de l'infection est le développement des tumeurs, ou

"Galles" dans les sites d'infection. Les galles sont le plus souvent formées au niveau des sitesde développement des bourgeons, en raison de l'infection des cicatrices foliaires par la

Chapitre II : Maladies et ravageurs de l'olivier

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.

L'infection de par *Pseudomonas savastanoi*dans les plaies fraiches commence par une petite cavité sur les sites d'infection résultant de la prolifération des tissus végétaux.

*Pseudomonas savastanoi*entraine 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, puis sur les rameaux et parfois sur les feuilles et les fruits (Surico,1986).

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 transportés par les éclaboussures de pluie, aérosols chablis, insectes et pratiques culturelles (Horne et *al.*, 1912). 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 (Wilson, 1935).



Figure 12: Tuberculose de l'olivier (Serdoun, 2013).

II.3.1.2. Description de l'agent causal

Pseudomonas savastanoiest l'agent causal de la tuberculose de l'olivier, observé pour la première fois par Savastanoi en 1870 puis au début du vingtième siècle par Smith et Rorer 1904 (Gardan*et al.* 1992).

II.3.1.2.1. Morphologie et physiologie

Se sont des bactéries bâtonnets (0.4-0.8 x1.0-3.0), Gram négatives, catalase positive, mobiles avec un ou plusieurs flagelles polaires, une croissance plutôt lente, les colonies sont blanche grise ou crème, lisses plates, scintillantes, produisant une réaction d'hypersensibilité sur tabac, métabolisme respiratoire, n'hydrolyse pas la gélatine et l'amidon, assimile plusieurs sucre : sucrose, L-arabinose, gluconate, caprylate (Bergey, 2003).

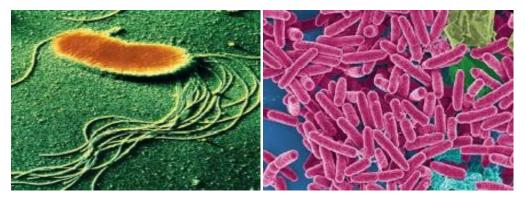


Figure 13: Pseudomonas savastanoi (Serdoun, 2013).

II.3.1.2.2. Classification de *Pseudomonas savastanoi*(Palleroni, 1993)

Tableau N°04 : Classification de *Pseudomonas savastanoi*

Règne	Bactéries
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Famille	Pseudomondaceae
Ordre	Pseudomondales
Genre	Pseudomonas
Espèce	Pseudomonas savastanoipvsavastanoi

II.3.1.2.3. Cycle de développement de Pseudomonas savastanoi

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 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 (Surico., Lavermicocca,1989). Des études récentes montrent que la bactérie peut être transportée dans la plante par les vaisseaux du xylène, ce qui provoque des nœuds « secondaire » le long de la 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 (Young et Triggs,1994).

Chapitre II : Maladies et ravageurs de l'olivier

II.3.1.3. La lutte contre la tuberculose de l'olivier

Il n'ya malheureusement, à ce jour, aucun remède connu et efficace contre ce fléau. Il faut cependant prendre quelques précautions afin de limiter la propagation de cette bactérie aux autres arbres :

➤ la principale est de désinfecter soigneusement tous les outils de taille en prenant la précaution de graisser par la suite les outils afin de leurs éviter de rouiller toutes les parties atteintes seront, si possible, sectionner et détruites par le feu.

Les chercheurs de l'INRA qui sont parmi les meilleurs du monde dans cette discipline préfèrent l'utilisation de la flamme de chalumeau qui est le seul instrument de désinfection efficace contre les bactéries, cette opération prend moins d'une minute et évite de transmettre la maladie d'un arbre à l'autre (Benyoub, 2011).

- > éviter les excès d'irrigation de l'arbre.
- éviter de blesser l'arbre (Benyoub, 2011).

I. Matériels et Méthodes

L'objectif de notre travail est l'isolement des agents pathogènes qui causent la Verticelliose et la Tuberculose et chez l'olivier à partir des organes qui présentent des symptômes caractéristiques de chaque maladie.

Notre recherche a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre. Université Akli Mohand Oulhadj. Bouira.

I.1.Matériels

I.1.1. Matériels biologique

- ✓ Le matériel végétal utilisé est présenté par des plantes de l'olivier (Oleaeuropea) variété chemlal. Elles ont été séléctionnés pour l'isolement des souches *Verticilliumdahliae*, *Pseudomonas Savastonoi*.
- ✓ La souche bactérienne *Staphylococcus aureus* a été isolée par Dribine Asma 2018 à partir d'un sol rhizophérique situé dans la région M'chedallah (wilaya de Bouira).

I.1.2. Matériels non biologique

Le matériel non biologique utilisé pour réaliser notre étude comprend les milieux de culture, la verrerie, les équipements et appareillage y compris l'ensemble de réactifs et de produits chimique sont présentés dans un tableau en annexes 1

II.2. Méthodes

II.2.1. Echantillonnage

Deux sorties ont été organisées dans le but de diagnostiquer les maladies de l'olivier et réaliser l'échantillonnage.

La première sortie a été réalisée le 16/04/2018 au verger de la famille Siad située à Maala commune d'Ait Laaziz wilaya de Bouira. Cette dernière se situé à 18.6 km de wilaya de bouira et à 98 km de la capitale Alger.

Chapitre I : Matériels et méthodes



Figure 14: Les limites administratives d'Ait Laaziz wilaya de Bouira. (DSA.2010)

La deuxième destination le 18/04/2018 était vers le verger de Mr Lamouri situé à lacommune d'Elhachimia wilaya de Bouira. Cette dernière se situé à 20.8 km de wilaya de bouira et à 127 km de la capitale Alger.



Figure 15: Les limites administratives d'Elhachimia wilaya de Bouira. (DSA.2010)

Les échantillons ont été prélevés durant lapériode de floraison de l'olivier. Lessymptômes des maladies sont visibles sur les arbres touchés au niveau du site d'étude.

Les prélèvements ont été réalisés à partir de trois oliviers infectés et collectés sur des distances chronologiquement espacées de chaque verger, des petites branches ont étécoupées à l'aide d'un sécateur désinfecté. Les échantillonsont été placés dans un sac en papier et transportés directement au laboratoire dans desconditions isothermes de 4°C.

II.2.2.Isolement et identification

II.2.2.1.Isolement des souches fongiques

L'isolement du champignon est effectué à partir de fragments de rameaux malades là ou les tissus sont encore verts, présentant un aspect sain. La technique utilisée est celle décrite par (Rappily,1968). Elle consiste à éliminer les couches externes du matériel végétal, le laver soigneusement à l'eau courante et le découper en petits fragments au niveau du xylème. Les fragments ainsi obtenus sont trempés dans l'eau de javel, pendant deux à trois minutes, puis rincés 3 fois successives à l'eau distillée stérile. Après leur séchage sur du papier filtre stérile, les fragments sont déposés à raison de 10 par boîte de Pétri sur le milieu PDA la face interne contre ce dernier. Les boîtes sont ensuite incubées à 25°C à l'obscurité, pendant 06 à 07 jours.



Figure 16: Isolement des souches fongiques

II.2.2.2.Obtention des isolatsfongiques

A partir des isolements primaires, des explants fongiques ont été prélevés de la zone périphérique des colonies fongiques et repiqués aseptiquement sur un milieu PDA en boîtes de Pétri. Les cultures sont de nouveau incubées à 25 °C comme précédemment. Des repiquages successifs se poursuivent jusqu'à l'obtention d'une culture pure des isolats

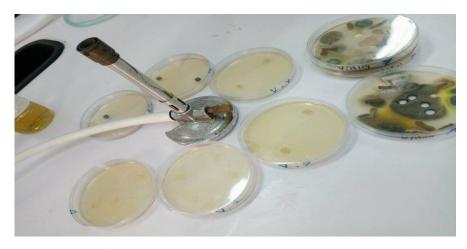


Figure 17: Repiquage des isolats fongiques

II.2.2.3. Observation macroscopique et microscopique

II.2.2.3.1. Observation macroscopique de la culture

Les observations portent en particulier sur les caractères culturaux, indispensables à la détermination des espèces.

Cette opération doit se faire dans des conditions de milieu parfaitement définies (substrat nutritif, température, éclairage ... etc.).

L'aspect du mycélium aérien (dense, poudreux, floconneux ...). La couleur des colonies, lasporulation, le revers de la culture, la diffusion ou non d'un pigment dans la géloseetc.

Une deuxième lecture effectuée 3 a 4 jours après la première, permet de confirmer les caractères notés. (Mourida, 2014)

II.2.2.3.2. Observation microscopique

Comme pour les observations macroscopiques, l'examen microscopique porte aussi bien sur le végétal que sur l'organisme isolé.

L'observation du parasite seul est extrêmement importante, car elle permet en se basant sur les caractères du mycélium et sur le type de spores.

II.2.2.4. Technique d'antagonisme

L'évaluation du phénomène d'antagonisme la souche *Staphylococcus aureus* vis-à-vis du *Verticillium dahliae* peut être étudiée par différentes techniques.

Le principe de la technique de confrontation directe consiste à mettre deux disques de chaque souches fongiques proviennent de pré cultures en boîtes de PétriUn disque de 08 mm de diamètre est prélevé puis déposé à l'aide d'un emporte-pièce stérile sur une boîte de Pétri contenant le milieu gélose nutritive. A 02 cm de la pastille de champignon une souche *Staphylococcus aureus* est ensemencée en trait dans différentes boites. Chaque souche

bactérienne est confrontée aux souches fongiques à raison de 3 répétitions pour chaque champignon.

Le témoin consiste en une boîte contenant une pastille du champignon de 08 mm de diamètre sans ensemencement de la bactérie.

L'incubation des boîtes est faite à 28°C pendant 7 jours. La lecture des résultats consiste à mesurer la distance parcourue par le champignon en direction de l'antagoniste bactérien (Harir, 2010)

Ainsi le pourcentage d'inhibition (%) a été calculé selon la formule suivante (Wang et *al* ; 2002) :

(%) inhibition = (Rtémoin-Rtest)/ Rtémoin x100

Rtémoin : distance radiale maximale de croissance du champignon.

Rtest: distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste.

Il est à noter qu'à partir de 20%, on peut parler d'inhibition.

II.2.3.Isolement des bactéries à partir des tumeurs

II.2.3.1.Prélèvement des échantillons et macération

Deux branches de plante possédant au moins deux tumeurs ont été choisi pour l'isolement des bactéries présentes dans les tumeurs.

Les tumeurs sont coupés a l'aide d'un sécateur stérile en petites morceaux et déposés dans des boites de pétri en verre contenant une quantité d'eau distillé stérile (EDS) adéquate pendant trente minutes.



Figure 18 : Isolement de la bactérie à partir des tumeurs

II.2.3.2. Ensemencement

Après trente minutes à température ambiante 100 µl de la suspension ont été ensemencé par la méthode de stries sur deux boites de Pétri contenant le milieu gélose nutritive. Les boites ont été ensuite incubées à 26°C pendant 3 à 5 jours.

II.2.3.3.Purification

Après l'incubation on prélève une colonie typique qui possède les caractéristiques phénotypiques de *Pseudomonas Savastonoi* (colonie blanchâtre). Cette étape est réalisée dans le but de purifier la souche.

II.2.3.4. Observation macroscopique et microscopique

II.2.3.4.1. Observation macroscopique

C'est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation .c'est l'étude de l'aspect des colonies qui nécessite l'observation à l'œil nu. Il y a plusieurs critères de classification : forme, taille, couleur de colonies etc.

II.2.3.4.2.Observation microscopique

L'étude des caractères microscopique permet d'avoir un certain nombre d'information pour l'élaboration d'une identification préliminaire. Pour cela plusieurs observations ont été effectuées :

II.2.3.4.3. Etude à l'état frais

L'analyse à l'état frais permet d'observer les bactéries à l'état vivant et d'étudier leur forme, leur regroupement ainsi leur mobilité.

Afin de réaliser cette étude, on a déposéune petite goutte d'eau sur la lame puis on a prélevé une fraction de colonies sur gélose. Ensuite la suspension homogène a été préparée en incorporant progressivement l'inoculum dans la goutte d'eau et en remuant très délicatement.

On met une lamelle dessus la formation des bulles d'air, et enfin l'observation s'effectuérapidement sous microscope optique à l'objectif x400.

II.2.3.4.4.Coloration de Gram

La coloration de Gram est utilisée pour différencier les bactéries Gram positif des bactéries Gram négatif. Cette coloration différentielle repose sur l'aptitude ou non de la paroi bactérienne à s'opposer à la coloration par éthanol. Les bactéries dites Gram positif possèdent une paroi épaisse, composée de peptidoglycane en leur donnant une imperméabilité à l'éthanol, tandis que les bactéries Gram négatif ne contiennent qu'une fine couche de peptidoglycane et surtout de lipide en quantité importante et c'est ce qui va rendre la décoloration effective.

A l'aide d'une anse à ensemencement on prélève une colonie qu'on dépose sur une lame.

Une goutte d'eau distillée est déposée sur le frottis qui sera séché puis fixé du bec benzen La lame est colorée au violet de gentiane pendant 1min puis rincée abondamment à l'eau distillée. On fait agir le Lugol pendant 20 secondes en vu de consolider la fixation du premier colorant sur la paroi. Apres rinçage à l'eau distillée, la violet de gentiane est éliminé par lavage à l'éthanol jusqu'à décoloration totale. Une seconde coloration à la fuchsine est réalisée pendant 1min. on lave doucement à l'eau distillée. Apres séchage au bec bunsen, la lame est observée au microscope en ajoutant une goutte de l'huiled'immersion.(Serdoun, 2013)



Figure 19: Coloration de Gram

II.2.3.5.Tests biochimiques

II.2.3.5.1.Catalase

L'enzyme catalase sert à la détoxification de l'eau oxygénée produite au cours de certaines réactions métaboliques, présente chez beaucoup de bactéries aérobies ou aéroanaérobies et souvent absente chez les bactéries anaérobies. Sur une lame stérile ont dépose une goutte de la solution de peroxyde l'hydrogène (H₂O₂) 10V sur laquelle ont met une colonie. L'observation est faite immédiatement. Le dégagement gazeux d'oxygène (apparition de bulles d'air) est une réaction positive.(Benyoub, 2011)



Figure 20: Test Catalase

II.2.3.5.2.Oxydase

Le test a été réalisé en utilisant des disques d'oxydase .Un de ces disques a été placé sur une lame, sur celui-ci une colonie bactérienne a été déposéeen utilisant une pipette Pasteur stérilisée au préalable. S'il y a apparition d'une tache violetteau bout de trente secondes, la bactérie a oxydase positive et elle possède le cytochromeoxydase. L'absence de la coloration violette est due à l'absence de l'enzyme recherchée, celaindique que la bactérie est dépourvue de cette enzyme respiratoire (Prescott et *al* .,2003)

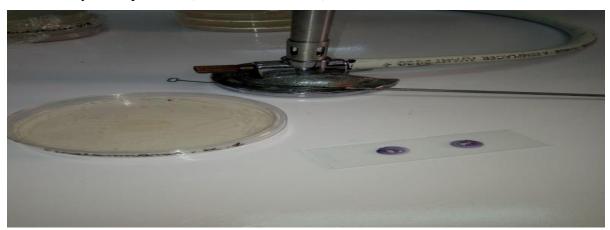


Figure 21: Test Oxydase

II.2.3.5.3.Mannitol mobilité

L'ensemencement du milieu mannitol et mobilité (Institut pasteur d'Algérie) s'est fait parpique centrale jusqu'au fond du tube de la souche à tester à l'aide d'une pipette pasteur.

Puis incubé à $26 \, \mathrm{C}^{\circ}$ durant 3 à 5 jours. La fermentation du mannitol provoque un virage de la coloration du milieu vers le jaune. Les bactéries mobiles envahissent tout le milieu à partir de la piqûre centrale. (Boulssen et al., 2016)



Figure 22: Test mannitol-mobilité

II.2.3.6. Le profil de résistance aux antibiotiques

Le principe consiste à placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques (disques) sur la culture bactérienne de la souche à tester préalablement.

L'ensemencement a été effectué par des stries extrêmement serrées, à l'aide d'une anse deplatine stérile sur la surface du milieu Mueller-Hinton en boite de Pétri. Enfin les disquesd'antibiotiques ont été appliqués sur la gélose en pressant chaque disque à l'aide de pincebactériologiquement stérile.

Les zones d'inhibitions ont été mesurées après incubation à 26°C durant 24h et comparées avec les valeurs critiques (Boulssen et *al* ., 2016)

Les antibiotiques utilisés :

Amoxicilline+acideclavulanique (Amoxiclav), Chloramphenicol, Cefotaxime, Vancomycin, Gentamycin, Clindamycin, Tetracycline, Nalidixicacid.

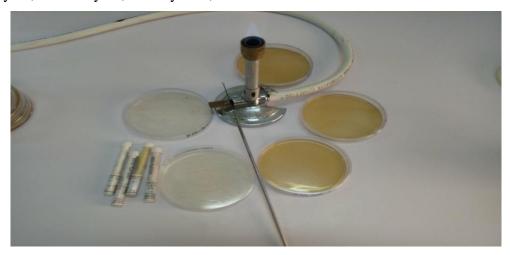


Figure 23 : Antibiogramme de l'agent de la tuberculose.

II.1. Isolement et identification

II.1.1. identification des espèces fongiques

II.1.1.1. Etude macroscopique et microscopique de V. dahliae

II.1.1.1.1.Caractéristiques culturales

Après 4 à 5 jours de culture sur milieu PDA, les colonies de *V. dahliae* présentent un mycélium blanc et dense plus au moins cotonneux, il devient ensuite crème à brun foncé puis noir après six à huit jours de culture en raison d'une abondante production de microsclérotes.ce résultat concorde avec celui de Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2010.

D'après les caractéristiques culturales des souches de *V. dahliae*ou de leur clone, on peut les classer en 3 morphotypes : hyalin, sauvage et intermédiaire.

Dans notre étude nous avons détecté la présence de morphotype sauvage qui est caractérisé par un mycélium blanc à l'état jeune devenant avec l'âge compact très mélanisé et noirâtre par la production abondante des microsclérotes. Ce morphotype a été décrit par Cherrab et *al.*,2002, Pegg et Brady,2002, Malik,2008et Harir,2010.

Ils Ont également montré sa variabilité morphologique contrairement au morphotype hyalin.

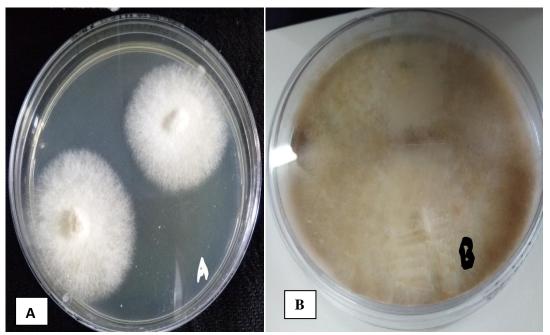


Figure24 : caractères macroscopiquede l'espèce *V. dahliae.* **A :** culture jeune, **B :** culture âgée.

II.1.1.2.Examens microscopique

L'identification de l'espèce *V. dahliae* est basée sur les caractéristiques morphologiques des hyphes et des organes de reproduction asexuée et en se référant au manuel de Barnett et Hunter,1972. Les observations microscopiques ont montré la présence d'hyphes mycéliens ramifiées. Des conidiophores portant des phialides , avec des conidies plus ou moins arrondies à leur extrémité.

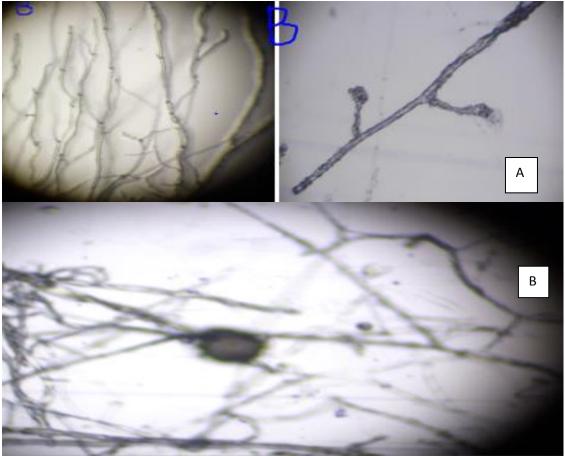


Figure25 : caractères microscopiquede l'espèce *V. dahliae*.sous microscope optique Gx400.*A : culture jeune*, *B :* Microsclérotes mélanisés en amas de *Verticillium dahliae*.

Durant la période de prospection des maladies fongiques de l'olivier, on a pu isoler une souche de champignon responsable de l'alternariose de l'olivier.

> Caractères macroscopique de la souche isolée

Le champignon se caractérise par des colonies qui présentent un mycélium vert foncé olivâtre et un aspect cotonneux avec une périphérie légèrement compacte et des bordures irréguliers, compactes de couleur claire.la surface des colonies est souvent hétérogène, présentant des zonesblanches constituées exclusivement d'hyphes aériens et des zones sombres rasantes renfermant les spores asexuées mélanisées ce qui correspond à la souche *Alternariasp*décrit par (Fraser, 2002).



Figure 26 : caractères macroscopique d'une culture de sept jours d'Alternariasp.

Caractères microscopique de la souche isolée

Sous microscope optique, les hyphes, septes, sont ramifiés et tardivement certains filaments sont pigmentés en brun. Les conidiophores sont cloisonnés, bruns, simples ou ramifiés, plus ou moins droits ou flexueux (géniculés).

Les conidies ou porospores sont brunes, pluricellulaires, d'aspect piriforme ou ovoïde, avec une partie basale arrondie et une extrémité apicale allongée en bec plus ou moins important. Ce sont des dictyospores. A maturité, elles présentent à la fois des cloisons transversales, obliques ou longitudinales. Ces spores à paroi lisse ou verruqueuse et de taille importante, sont souvent disposées en chaines. Ces caractères microscopiques de la souche fongique *Alternaraisp* correspondent à ceux décrit par Simmons, 2000.

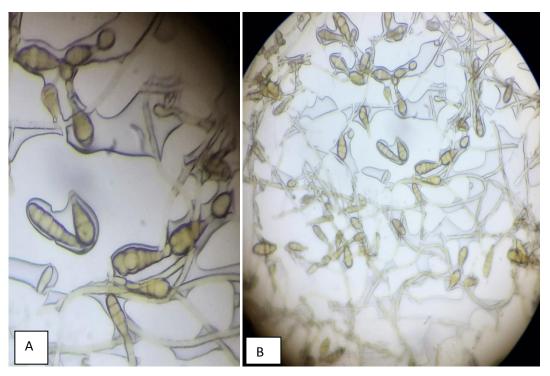


Figure 27:Aspect du mycélium et des conidies d'*Alternariasp*sous microscope optique grossissement X 400. *A* :conidies d'*Alternariasp*. *B* :mycélium d'*Alternariasp*.

II.1.1.2. Activité d'antagonisme

Avant la mise en œuvre d'une stratégie de lutte contre les champignons phytopathogènes à l'aide de produits biologiques, il est nécessaire de connaître le comportement des agents antagonistes et leurs interactions avec le pathogène (Prescott et al.,2003). C'est pourquoi des tests d'activité antagoniste ont été réalisés. Ces tests représentent un des critères de sélection, il a été effectué in vitro, par confrontation directe entre les deuxprotagonistes.

II.1.1.2.1.Confrontation directe sur milieu de culture entre *Verticillium dahliae* et *Staphylococcus aureus*

Le repiquage de *V.dahliae* et l'ensemencement de la bactérie *Staphylococcus aureus* à montré un taux de croissance faible de *V. dahliae* par apport au témoin, qui occupent une surface de 12 mm de diamètre et le témoin 17mm de diamètre et cela au 3eme jour d'incubation, donc la souche *Staphylococcus aureus* inhibe le développement de *V. dahliae*.



Figure 28 : Effet inhibiteur par confrontation directe du *Staphylococcus aureus* sur la croissance mycélienne du *Verticilliumdahliae ;* pour une durée d'incubation de sept jours à 26 °C(A) : témoin, (B) : traité.

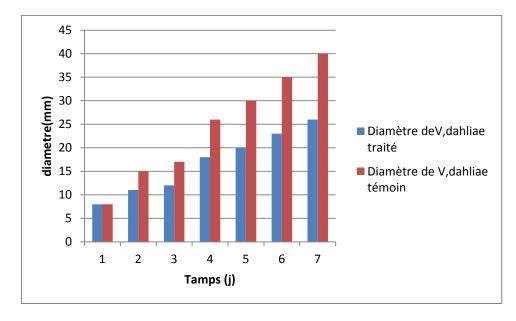


Figure 29 : comparaison entre le développement mycélien du *V. dahliae*traité parconfrontation directe avec*Staphylococcus aureus*, et leur témoin.

L'augmentation des taux d'inhibitions avec le temps démontre que l'activité antifongique est proportionnelle à la durée d'incubation de la culture duelle, cela peut être du à l'exposition prolongée aux métabolites secondaires produit et libérés dans le milieu par la souche testée et qui est responsable du pouvoir antagoniste de ce dernière.

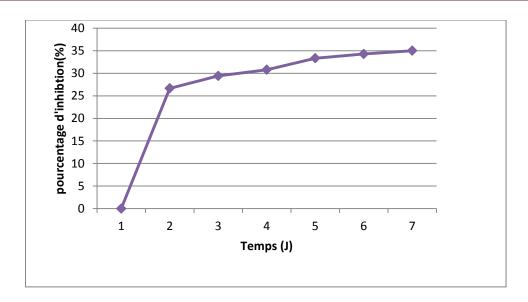


Figure 30:pourcentage d'inhibition de développement mycélien du *V. dahliae*traité par confrontation directe avec *Staphylococcus aureus*

Ce résultat obtenu est concorde avec Harir (2010) qui a travaillé sur les effets antagonistes entre les souches d'actinomycétes et *Verticiluimdahliae*kleb agent de la verticilliose de l'olivier, ainsi que Bezert et *al* en 1996 qui travaillée sur l'action d'actinomycéte sur *Verticiluimdahliae*, en signalant que la croissance de certain champignon est fortement inhibée par une bactérie et peu par une autre alors que celle-ci démontre son efficacité sur un autre champignon.

II.1.1.2.2.Confrontation directe sur milieu de culture entre d'Alternariasp et Staphylococcus aureus.

La confrontation directe de *staphylococcus aureus* avec *l'Alternariasp* sur le milieu de culture GN , nous a permis de mettre en évidence l'aptitude de *S.aureus* à inhiber la croissance mycélienne de l'agent pathogène durant les 3 premiers jours d'incubation.

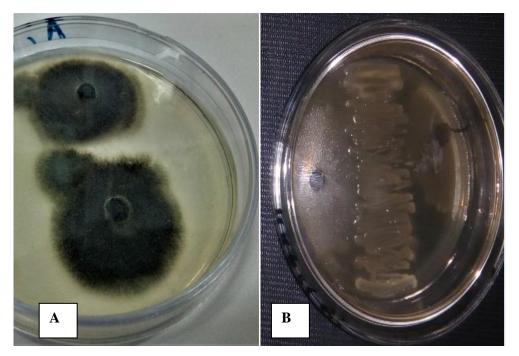


Figure 31 :Effet inhibiteur par confrontation directe du *Staphylococcus aureus* sur la croissance mycélienne d'*Alternariasp;* pour une durée d'incubation de sept jours à 26 °C(A) : témoin, (B) : traité.

En effet, après 7 jours d'incubation, la colonie *d'Alternariasp* présente dans la boite correspondant au témoin atteint environ 38mm de diamètre, alors qu'en présence de *S.aureus*, le diamètre *d'Alternariasp* ne dépasse pas les 25mm.

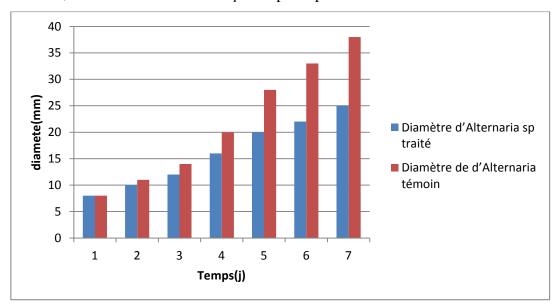


Figure 32:comparaison entre le développement mycélien du *d'Alternariasp*traité parconfrontation directe avec *Staphylococcus aureus*, et leur témoin.

Les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne *d'Alternariasp*représentés par la figure 33 montrent une action inhibitrice moins importante. Leurs pourcentages moyens d'inhibitions varient entre 30 et 10%

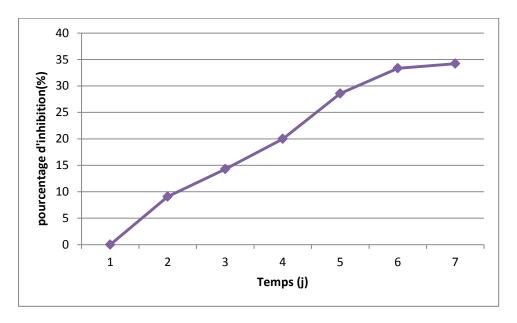


Figure 33 :Pourcentage d'inhibition de développement mycélien du *l'Alternariasp*traité par confrontation directe avec *Staphylococcus aureus*.

II.1.2.Isolement des bactéries à partir des tumeurs

Notre étude s'intéresse à l'identification des souches bactérienne de *P.savastanoipv.savastanoi*. Isolées à partir d'une macération des petits morceaux symptomatiques de plante de l'olivier (*Olea europaea*).

Apres plusieurs étapes de purification sur milieu GN, on a pu isoler une souche typique de *P.savastanoipv .savastanoi* à partir de chaque échantillon testé.

II.1.2.1. Etude des caractères macroscopiques

Après l'incubation à 26°C pendant 3 à 5 jours les bactéries ont poussées sur le milieu GN.

a. Caractères phénotypiques des colonies sur le milieu GN

Les ensemencements des galles sur la gélose nutritive, ont permis d'observer des colonies bactériennes présentant les caractéristiques morphologiques du genre *Pseudomonas* citées dans la littérature (Botelho et Leda, 2006) des colonies blanchâtres, crémeuses, brillantes, transparentes à bords et légèrement bombés ou plates.



Figure34 : caractères macroscopique des bactéries isolées.

II.1.2.2. Etude des caractères microscopiques

> L'état frais

Des observations microscopiques à l'état frais effectuées à partir des cultures sur milieu solide des isolats purifiés ont montré que les souches sont en forme de bâtonnet mobile dans toutes les directions.

> Coloration de Gram

L'examen microscopique des isolats (après coloration de Gram) a montré que tous les isolats sont des bacilles à Gram négatif. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles, dépourvus de spores et de capsules, mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires (après une culture sur milieu Mannitol-Mobilité)

Nous avons donc confirmé les caractéristiques morphologiques des *Pseudomonas* citées dans la littérature (Philippe, 2007).

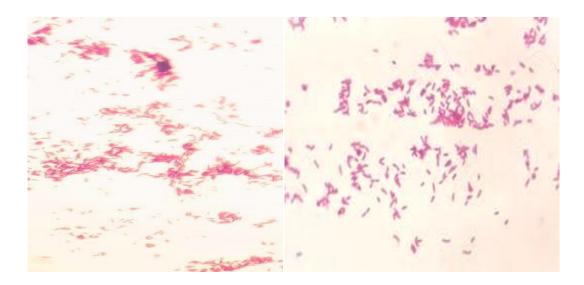


Figure 35 :Aspect microscopique des souches isolées après coloration du Gram observer sous microscope optique X400.

II.1.2.3. Etude des caractères biochimiques

Les résultats de la caractérisation biochimiques et physiologiques des isolats obtenus sont résumés dans le tableau 07.

TableauN°05 : caractérisation biochimique et physiologique de la souche bactérienne isolée.

Test	Essai 1	Essai 2
Oxydase	-	•
Catalase	++	+++
Mannitol	+	+
Mobilité	+	+

^{*-:} activité négatif +: activité faible, ++: activitéforte ; +++: activitétrès forte

> Catalase

L'apparition de bulles due à un dégagement gazeux de dioxygène signifie que la souche possède le catalase, métabolisme respiratoire qui peut détruire les peroxydes. La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en H_2O et $\frac{1}{2}O_2$. Selon la réaction suivante :

Le test est positif ce résultat en accord avec les résultats de Kird*et al.*,(2011) qui travaillée sur épidémiologie et étiologie de *Pseudomonas savastanoipv. savastanoi*, agent causal de la tuberculose de l'olivier en Tunisie, ainsi les travaux de Serdone en 2013 sur la détection de *pseudomonassavastanoi*.



Figure 36 : Résultat de test catalase.

Oxydase

Le test de l'oxydase est fondé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire.

En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif pour former un composé coloré en violet,(l'indophénol)(Delarras, 2014).

Les tests de l'oxydase nous ont permis de distinguer que les souches possédant une oxydase négatif (absence de colore violet). Cette résultat est en accord avec les résultats de K*rid et al.*,(2011).

> Mannitol -mobilité

La lecture des résultats sur milieu mannitol- mobilité à monter que la bactérie a la capacité de fermenter le sucre mannitol à26°C, cela setraduit par le virage de l'indicateur coloré (rouge de phénol) du rouge vers le jaune due à la production d'acides et également a la capacité de se déplacer, cela se traduit par une diffusion de la culture à partir de la ligne de la piqure centrale dans le milieu. Notre résultat est en accord avec celui signalé par Boulssen et *al.*,(2016).



Figure37 : Résultat de test mannitol-mobilité : (**A**) : témoin (**B**) : virage de l'indicateur coloré.

II.1.2.4. L'antibiogramme

L'antibiotique diffus à partir du disque en créant une zone d'inhibition, la mesure des diamètres d'inhibition avec une règle graduée (mm) en les comparants avec les valeurs de référence permettent de définir la catégorie de la souche étudiée, les résultats de l'antibiogramme réalisé dans notre étude sontreprésentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 06: les résultats de lecture d'antibiogramme de la souche isolée.

ATB	Essais 1	Essais 2	Essais3	Moyen
C^{30}	3.5 cm	4cm	4cm	3.8 cm
TE^{30}	3.5cm	3cm	3.5cm	3.33cm
VA^{30}	3cm	2.5cm	3cm	2.83 cm
CTX^{30}	1.5cm	1.5cm	1.5cm	1.5cm
NA^{30}	3.5cm	4cm	3.8cm	3.76cm
AMC^{30}	2cm	1.5cm	2cm	1.83cm
GEN^{10}	4cm	4cm	4cm	4cm
CD^2	0	1cm	1.5cm	0.83cm

D'après les résultats obtenus et selon les recommandations 2015 du CA-SFM en comparant les valeurs mesurées avec les diamètres critiques, on peut classer la souche

bactérienne selon leurs diamètres d'inhibition pour chaque antibiotique en deux catégories bien définis.

Tableau N°07: Les profils de résistance des souches caractérisées

ATB	Profil de résistance
C^{30} TE^{30}	I
${ m TE}^{30}$	S
VA^{30}	S
CTX^{30}	R
NA^{30}	S
AMC^{30}	S
GEN^{10} CD^2	S
$\overline{\mathrm{CD}^2}$	R

R: la souche est Résistante S: la souche est Sensible I: la souche est Intermédiaire

Les souches catégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte, les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et dose d'antibiotique utilisée, les souches catégorisées I sont celles pour lesquelles le sucées thérapeutique est imprévisible.

D'après les résultats d'antibiogramme qui ont révélé que la souche bactérienne Pseudomonas savastanoiest résistante au Cefotaxime et Clindamycine, intermédiaire au Chloramphénicol, et sensible à l'ensemble des autres antibiotiques utilisés (Amoxiclav, Vancomycin, , , Tétracycline, Nalidixicacid).

Ces résultat est différent de celui trouvé par Boulssen et *al* en 2016 qui a travaillé sur la tuberculose de l'olivier, en isolant des souches identifiées comme *Enterobactercloacae*qui sont sensibles aux amoxicilav, Vancomycine, et Gentamycin résistantes au chloramphénicol. En effet, les souches d' *Enterobactercloacae* sont sensible aux 12 antibiotiques testés. Alors que notre souche *Pseudomonas savastanoi*est sensible aux Tétracycline, Gentamycine, Amoxiclav, Nalidixicacid ,Vancomycin et résistante au Cefotaxime et Clindamycine et intermédiaire au Chloramphenicol.

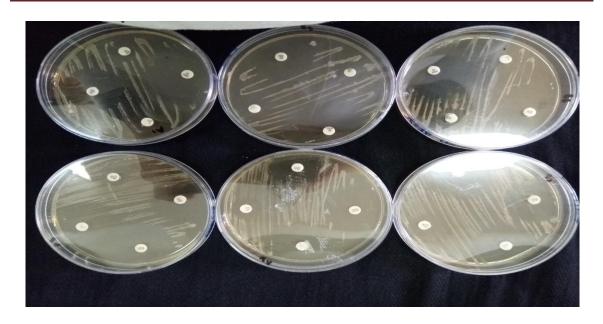


Figure 38 : Résultat d'antibiogramme

Conclusion

L'olivier est attaqué par différents agents phytopathogènes qui causent des dégâts importants impliquant des chutes de rendements significatives, en provoquant des diminutions de surface foliaire (indispensable à la photosynthèse) et des problèmes de croissance des arbres.

Cette recherche est basée sur l'isolement et l'identification présomptive de quelques isolats bactériens et fongiques à partir des tumeurs et des rameaux qui présentent des symptômes caractéristiques de chaque maladie dans la région d'El hachimia et d'Ait laaziz wilaya de Bouira.

Les tests réalisés ont permis d'isoler un isolat bactérien *Pseudomonas savastanoi et* deux isolats fongiques *Verticilluim dalhiae et Alernaria sp* possédant des caractéristiques macroscopiques, microscopiques, biochimiques typiques et d'étudier leur sensibilité aux antibiotiques et l'effet antagonisme des souches bactériennes vis-à-vis les agents phytopathogènes isolées.

Dans un essai de lutte biologique, la confrontation directe sur milieu de culture entre *Verticilluim dalhiae* et *Streptococcus aureus* ont révélé que la souche bactérienne a pu inhiber la croissance mycélienne de *Verticilluim dalhiae* avec un pourcentage d'inhibition de 27% les résultats obtenus avec *Alternaria sp* et *Streptococcus aureus* est de l'ordre de 19,92 %, donc la sensibilité de *Verticilluim dalhiae* à l'effet inhibiteur du *Streptococcus aureus* et plus importante que la sensibilité d'*Alternaria sp*.

La sensibilité aux antibiotiques a été démontrée par l'application d'un antibiogramme qui permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance de *Pseudomonas savastanoi*. Il permet donc de juger l'efficacité d'un antibiotique et selon lequel les bactéries ont été divisées en trois catégories différents: résistantes, intermédiaires ou sensibles.

Les résultats d'antibiogramme ont révélé que la souche bactérienne *Pseudomonas* savastanoi est résistante au Cefotaxime et Clindamycine, intermédiaire au Chloramphénicol, et sensible à l'ensemble des autres antibiotiques utilisés (Amoxiclav, Vancomycin, Tétracycline, Nalidixicacid).

En perspectives, il serait intéressant :

Conclusion

- ✓ D'élargir les prospections dans d'autres oliveraies de la même région afin d'évaluer leur état phytosanitaires et estimer leur incidence économique.
- ✓ De réaliser des essais sur terrain par pulvérisation afin d'assurer les résultats obtenus au laboratoire, pour garantir l'utilisation de *staphylococcus* aureus en lutte biologique.
- ✓ D'effectuer des analyses enzymatiques et autres méthodes génomique qui sont basées principalement sur la PCR et des études sérologiques qui sont basées sur les tests d'immunofluorescence permettant une identification rapide et précise des microorganismes jusqu'au niveau de l'espèce.

Abnoun,Kh, H., Daami;Remadi, M., Hibar, K., Ayed, F., & El Mahjoub, M. (2006). Pathogenicity of Tunisian isolates of three Verticillium species on tomato and eggplant. Plant Pathology Journal, 5(2), 199-207.

Aygalliers, P. (1900). P. d'Aygalliers,... L'Olivier et l'huile d'olive: J.-B. Baillière et fils.

Alford, D. V. (2013). Ravageurs des végétaux d'ornement: arbres, arbustes, fleurs: Editions Quae.

Amouritti, M. et Comet, G. (2000). La livre de l'olivier. Ed. Edi sud.

Amouritti M et Comet G. (1985). La livre de l'olivier. Ed. Edi sud, 161 p.

Anonnyme.(2005). Produire des fruits en agriculture biologique. Institut Technique de l'Agriculture Biologique (ITAB), 329 p.

Anonyme. (2004).la culture mondiale de l'olivier au Maroc, bulletion mensuel d'information et de la liaison du PNTTA .Maroc.

AOP, (2016). Appellation d'origine Protégée, huile d'olive et olive. (Ph. D.). Universidad Politécnica de Valencia, Spain.

Argenson, C., Regis., Jourdain, J., Vaysse, MP. (1999). L'olivier .1er édition. paris: DS. Centre technique intreproffessionnel des fruit et légume (ctifl), 146p.

Baldoni, L. and A. Belaj .(2009). Olive. Oil crops, Springer: 397-421.

Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi. Illustrated genera of imperfect fungi. 3rd edition.

Bartolini, G., Petruccelli, R. (2002). Classification, origin, diffusion and history of the olive: Food & Agriculture Org.

Beck ,J.S., Danks ,F.(1983).Determinacióndelumbral de tratamientos para la moscadelolivo (BactroceraoleaeGmel, Diptera, Tephritidae) en olivardestinadoa la producción de aceite. Bol.Sanid. Vegetal Plagas Vol. 21 n° 4, 1995.P. 577 Ŕ 588.

Begey's Manuel of systématique Bacteriology.(1986). Vol. 1 (Ed) Noel, R., Krieg.Paris ,122p.Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. **(2003)**

Belhoucine, **S.** (2003). Etude de l'éventualité d'un contrôle biologique contre la mouche de l'olive Bactroceraoleae (Diptera-Tephritidae) dans cinq stations de la wilaya de Tlemcen.

Benizri, E., Baudoin, E., Di Battista-Leboeuf, C., &Guckert, A. (2001). Des bactéries pour la santé des plantes. Biofutur(210), 52-55.

Benjama, A. (2003). Méthode d'évaluation rapide du degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose causée par Pseudomonas savastanoipv. savastanoi, en verger au Maroc. Fruits, 58(4), 213-219.

Benouzza, S. (2012). Inventaire de la mycoflore de la rhizosphère de l'olivier et étude de ses potentialités antagonistes vis-à-vis de VerticilliumdahliaeKleb: agent de la verticilliose de l'olivier. Mémoire du magister .université d'oran : 31-34.

Benyoub, kh. (2011). Isolement de souches de Pseudomonas à partir des sols et des nécroses d'oliviers de l'Ouest Algérien: Identification et caractérisation biochimique, sérotypique et phytopathologique. Recherche de l'antibiorésistance, d'antagonisme (bactériocine) et d'ADNplasmidique. Mémoire du magister université des sciences et de la technologie d'oran « mohamedboudiaf ,33p.

Bhat R,G., Subbarao,K,V.(1999). Guide to plant pathogénique bacteria.CAB International Mycological Institue, Kew, UK, 332p.

Blancard, D. (2012). Tomato diseases: identification, biology and control: A Colour Handbook: CRC Press.

Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Guy, P., Larpent, J., & Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle.

Boulssen,B., Bouraoui,N.H.(2016) .Etude sur la tuberculose de l'olivier ; isolement et identification présomptifs de quelques isolats bactériens à partir des tumeurs.Diplome de Master :Microbiologie generale et biologie moleculaire des microorganismes. Constantine :Université des frères mentouriconstantine.

Bradbury, **J.** (1986). "Guide to Plant Pathogenic Bacteria; CAB International Mycological Institute." J. Bradbury.—1986.—34 p.

Bruno ,Didier., Hervé, Guyot.(2012). Des plantes et leurs insectes. 1^{er} édition. Quea, 124p. **Bélanger, M., Benoît, D.(2003)**. Inventaire 2003 des mauvaises herbes en sol organique. Cahier de conférences, Journées horticoles régionales « Terre noire », Saint-Rémi (Québec), décembre 2003.

Carrion, Y., Ntinou, M.et Badal, E. (2010). Oleaeuropaea L. in the North Mediterranean

Basin during the Pleniglacialand the Early–Middle Holocene. Quaternary Science Reviews, 29: 952–968.

Chadwick. (1938). fiche technique Détection et dénombrement des levures et moisissures.

Cherrab, M., Zaoui, D., Bennani, A., Serrhini, M. N. (2011). Étude du pouvoir pathogène des isolats de VerticilliumdahliaeKleb. Issus de l'olivier (picholine marocaine) au Maroc. Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires, 22(1), 31-37.

Clémentine, Desfemmes. (2016) .Maladies de l'olivier.2p

COI. (2009). Production mondial d'huile d'olive.

Delarras, C. (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire: recherche de bactéries et de levures-moisissures: Lavoisier-Tec & Doc.

Douzane, M., Nouani, A., Brahimi, A., &Bellal Mohand, M. (2010). Influence de la variété, de la campagne oléicole et de la région sur la composition en acide gras de quelques huiles d'olives vierges Algérienne.

DSA. (2010).

Ennajeh, M., Tounekti, T., Vadel, A. M., Khemira, H., & Cochard, H. (2008). Water relations and drought-induced embolism in olive (Oleaeuropaea) varieties 'Meski' and 'Chemlali' during severe drought. Tree physiology, 28(6), 971-976.

Ercolani, G. (1978). Pseudomonas savastanoi and other bacteria colonizing the surface of olive leaves in the field. Microbiology, 109(2), 245-257.

FAO (2009).

Fernandes, B. (2005). Lutte biologique.PHM% Revue horticole,465-31.

Fradin, E. F., &Thomma, B. P. (2006). Physiology and molecular aspects of Verticillium wilt diseases caused by V. dahliae and V. albo-atrum. Molecular plant pathology, 7(2), 71-86.

François, jehl. (2015) .Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (CA-SFM) .117.46P.

Fraser,J,T.(2002). Two species of Alternaria cause early blight of potato(Solanumtuberosum) and tomato(Lycopersiconesculentum).thesis.Master of Science.Cornell University.72p.

Gaussorgues, R. (2009). L'olivier et son pollen dans le bassin méditerranéen. Un risque allergique ? Revue française d'allergologie, 49 : 2–6.

Gardan, L., C. Bollet, et *al.* (1992). "DNA relatedness among the pathovar strains of Pseudomonas syringae subsp. savastanoiJanse (1982) and proposal of Pseudomonas savastanoi sp. nov." International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 42(4): 606-612.

Ghedira, K. l'olivier. (2008). Pharmacognosie. vol 89. N° 10,84p.

Ghezlaoui, M. C. (2012). Influence de la variété, Nature du sol et les conditions climatiques sur la qualité des huiles d'olives des variétés Chemlal, Sigoise et d'Oléastre dans la Wilaya de Tlemcen.

Gratraud et Pinatel. (2011). Le nouvel olivier : 18-20

Guiraud, J., Galzy, P. (1998). Analyse microbiologique dans les industries alimentaires: l'Usine Nouvelle.

Guzlane., Tebibel, N., kahlouche, B., Athmani., Guemouri. (2008). Traveaux pratique . Microbiologie . 8 éme édition.

Hall, B., E. Cother, et *al.*(**2004**). "First report of olive knot caused by Pseudomonas savastanoipv. savastanoi on olives (Oleaeuropaea) in Australia." Australasian Plant Pathology 33(3): 433-436.

Harir,M. (2010). Effet antagonistes entre les souches d'Actinomycètes et le VerticilliumdahlaeKleb., agent de la verticilliose de l'olivier. Mém. Magis. Univ. Oran (Algérie). 77p.

Heinz, R., S. Lee, et *al.* **(1998).** "Cyclical systemic colonization in Verticillium-infected tomato." Physiological and Molecular Plant Pathology 52(6): 385-396.

Hiemstra, J. (1998). A compendium of Verticillium wilts in tree species: CPRO.

Himour. (2012). Etude comparée de régénération de plants par voie végétative en culture in vitro. Mémoire magister, université mentouri-constantine., 11-13p.

Horne, W. T., W. B. Parker, et *al.* **(1912).** "The method of spreading of the olive knot disease." Phytopathology 2: 101-105.

I.N. P. V. (2009). Fiche technique sur Bactoceraoleae.

Koenig, H. (1995). Guide de mycologie médicale: Ellipses.

Krid, S., Rhouma, A., Quesada, J., Penyalver, R., & Gargouri, A. (2009). Delineation of Pseudomonas savastanoipv. savastanoi strains isolated in Tunisia by random-amplified polymorphic DNA analysis. Journal of applied microbiology, 106(3), 886-894.

Levin, A., S. Lavee, et *al.* **(2003).**"Epidemiology and effects of Verticillium wilt on yield of olive trees (cvs. Barnea and Souri) irrigated with saline water in Israel." Phytoparasitica 31(4): 333-343.

Liphschitz, N., R. Gophna, et *al.* **(1991).** "The beginning of olive (Oleaeuropaea) cultivation in the Old World: a reassessment." Journal of Archaeological Science 18(4): 441-453.

Loumou, A. and C. Giourga .(2003). "Olive groves: `The life and identity of the Mediterranean"." Agriculture and Human Values 20(1): 87-95.

Loussert et Brousse . (1978). L'olivier et expansion de la culture d'olivier. Paris, 324p

López-Escudero, F. J., Mercado-Blanco, J., Roca, J. M., Valverde-Corredor, A., & Blanco-López, M. Á. (2010). Verticillium wilt of olive in the Guadalquivir Valley (southern Spain): relations with some agronomical factors and spread of Verticilliumdahliae. PhytopathologiaMediterranea, 49(3), 370.

Luis Gómez-Alpízar. (2001). Verticillium dahliae. NC state university. 01p

Maillard,P.(1975). L'olivier. Comité technique de l'olivier section spécialise de l'INVFLEC. Paris, 137 p.

Malik,M,S. (2010). Contribution à l'étude du pouvoir pathogènes de VerticilliumdahlaeKleb., agent de la verticilliose de l'olivier. Mém. Magis. Centr. Univ. Mascara (Algérie) 85p.

Marchi, G., C. Viti, et *al.* **(2005).** "Spread of levan-positive populations of Pseudomonas savastanoipy. savastanoi, the causal agent of olive knot, in central Italy." European journal of plant pathology 112(2): 101-112.

Mataix, J. and F. J. Barbancho .(2006)."Olive oil in Mediterranean food." Olive oil and health: 1-44.

Montiel, A., Madueño, C. (1995).Determinación del umbral de tratamientopara la mosca del olivo (BactroceraoleaeGmel.,Diptera: Tephritidae) en olivardestinado a la producción de aceite. Bol. San. Veg. Plagas, 21(4), 577-588

Mourida, **A.** (2014). Contribution a l'étude des maladies cryptogamiques d'olivier dans la region hennaya – tlemcen. Mém. Magi. Univ. Tlemcen (Algerie)

Navas-Cortés, J., B. Landa, et *al.* **(2008).** "Spatiotemporal analysis of spread of infections by Verticilliumdahliaepathotypes within a high tree density olive orchard in southern Spain." Phytopathology 98(2): 167-180.

Saad,D. (2009). Etude des endomycorhizes de la variété Sigoise d'olivier (Oleaeuropea L.) et essai de leur application à des boutures semi-ligneuses, Université Ahmed Ben Bella d'Oran1 Es Senia.

Palleroni, N. J., & Bradbury, J. F. (1993). Stenotrophomonas, a new bacterial genus for Xanthomonasmaltophilia (Hugh 1980) Swings et al. 1983. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 43(3), 606-609.

Pangol, J. (1975). Précis de botanique pharmaceutique TOME 2, éditionlibrairie Maloine, Paris.

Patrick .(2008). L'olivier. 1 erédition. France : Edisud.

Pegg,G,F., Brady,B,L. (2002). Verticillium wilts. Wallingford: CAB Internationnal, CABI Publishing, , UK.

Philippe, L. (2007). Les procaryotes phythopathogénes. 2 éme Eds. New York: Freeman.

Plantes,D.(1994).Guideline for the efficacy evaluation of growth regulators.bulletinoepp/eppo bulletin, 24, 279-288.

Prescott ,L,M., Harley,J,P., Klein,D,A. (2003). Microbiologie. 2emeédition: Edition De Boeck.

Prieto, P., C. Navarro-Raya, et *al.* **(2009).** "Colonization process of olive tissues by Verticilliumdahliae and its in planta interaction with the biocontrol root endophyte Pseudomonas fluorescens PICF7." Microbialbiotechnology 2(4): 499-511.

Rappily, F. (1968). Les techniques de mycologie en pathologie végétales. INRA, Paris.

Resende, M., Flood, J., Ramsden, J., Rowan, M. G., Beale, M., & Cooper, R. M. (1996). Novel phytoalexins including elemental sulphur in the resistance of cocoa (TheobromacocoaL.) to Verticillium wilt (VerticilliumdahliaeKleb.). Physiological and Molecular Plant Pathology, 48(5), 347-359.

Rol ,R.etJacamon;M.(1988). Flore des arbres, arbustes et arbrisseaux.Ed. La Maison rustique, Paris, 51p.

Roque, S. (1959). Entomologie oléicole. Ed. COI. 360 p

Rotem, J. (2004). The genus Alternaria: biology, epidemiology, and pathogenicity: American Phytopathological Society.

RsNeun, P. (1968). ecologie de la maladie de l'ceil de paoni et resistancevarietale dans leurs incidences sur la culture de l'olivier dans le pays. alawamia, 26, 55-74.

Serdoun, b. (2013). Détection de Pseudomonas savastanoi, agent causal de la tuberculose de l'olivier Evaluation et comparaison d'une technique d'isolement sur milieux de cultures et d'une technique sérologique (immunofluorescence). Mémoire de magister. Université d'oran ,21p

Simmons, E. G. (2000). Alternariathemes and variations (244-286) species on Solanaceae. Mycotaxon, 75, 1-115.

Surico, G et Lavermicocca, P. (1989) . Un milieu semi sélective pour l'isolement de Pseudomonas syringaepv. Savastanoi.Phytopathology.79 : 185-190.

Surico, G. (1986). Indoleacetic acid and cytokinins in the olive knot disease. An overview of their role and their genetic determinants. Biology and Molecular Biology of Plant-Pathogen Interactions, Springer: 315-329.

Therios I. (2009). Olives. Crop production science horticulture, 18.Edition CABI. ISBN 978-1-84593-458-3: 27-278.

Toueni, M. (2014). Étude de l'interaction entre Verticilliumalfalfae et Medicagotruncatula.

Wang S.L., Hsaiao W.J., Chang W.T. (2009). Purification and characterization of an antimicrobial chitinase extracelllarly produces by Monoscus purpureus CCR31499 in a shirmp and shell powder medium. J. Aric. Food. Chem., 50: 2249-2255

Wilson, E. E. (1935). "The Olive knot disease: its inception, development, and control." Hilgardia 9(4).

Young, J, M., Triggs, C, M. (1994).L'évaluation des testes déterminant pour pathovars de Pseudomonas syingae van Hall .(1902). J. Appl. Bacterial. 77:195-207.

Introduction

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralité sur l'olivier

Chapitre II : Les maladies de l'olivier

Partie II : Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthode

Chapitre II : Résultats et discutions

