



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Telidji- Laghouat

FACULTE: SCIENCES

DEPARTEMENT: SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par: Elbidi Nour Elhouda

DOMAINE: SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE: SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION: PROTECTION DES VEGETAUX ET ENVIRONNEMENT

Thème

Caractérisation de l'agent causal de la tuberculose d'olivier
(*Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*)
De la région de Ain Elbel –Djelfa)

Jury de soutenance:

Nom et Prénom	Qualité
Kaddouri Mohamed El Amine	Président
Moukhtar Rahmani Zaza	Examineur
Masouda	Rapporteur

Promotion: Juin 2016



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



جامعة عمار ثلجي - الأغواط

كلية/معهد: العلوم
قسم: العلوم الفلاحية

مذكرة ماستر

تقديم الطالب (ة): اللبيدي نورالهدى

ميدان: العلوم الطبيعية والحياة

شعبة: علوم فلاحية

تخصص: حماية النبات والبيئة

موضوع البحث

دراسة خصائص العامل المسبب لمرض سل الزيتون بمنطقة عين الإبل- الجلفة

اع لجنة المناقشة:

الاسم واللقب	الدرجة العلمية	الصفة
السيد: قدوري محمد الامين	ا.م.ا	رئيسا
السيد : رحمانى مختار	ا.م.ا	ممتحن أول
الانسة : زازا مسعودة	ا.م.ب	مقررا

الدفعة سبتمبر 2016

Résumé

Pseudomonas savastanoi .pv *savastanoi*, bactérie appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*, cette bactérie est considérée comme le seul pathogène responsable de la formation de galles ou tumeurs sur les jeunes rameaux d'olivier.

Dans notre étude, la méthode utilisée consiste à isoler la bactérie à partir des 3 tumeurs d'olivier sur les deux milieux de culture King B et LPGA.

Les résultats obtenus après le dénombrement bactérien montrent que les « *Pseudomonas like bacteria* » représentent 55.56 % dans le premier échantillon et 84.33 % dans le deuxième échantillon et 19.61 % dans le troisième échantillon par rapport la flore totale. Les colonies suspectes sont identifiées au moyen de différents tests biochimiques, cette identification est confirmée par test pathogénicité sur des jeunes plantules d'olivier. Parmi 29 isolats testés donnent 25 isolats sont bacilles à gram négatif, aérobies strictes et produisent de pigment fluorescence, «le test LOPAT montre que les 24 isolats testés sont des levanes négatifs, arginine négatifs et ne dégradent pas la pectine et oxydases négatifs (Les 8 isolats testés), Le test de pathogénicité confirme que les *Pseudomonas savastanoi*.pv *savastanoi* sont pathogènes.

Mots clés : *Pseudomonas savastanoi* .pv *savastanoi*, phytopathogène , tumeur, tuberculose, isolement, olivier.

Abstract

Pseudomonas savastanoi .pv *savastanoi*, bacterium belonging to the family of the Pseudomonadaceae, this bacterium is considered to be the only pathogen responsible of the formation of galls or tumors on the young olive branches.

In our study the method used is to isolate the bacteria of the 3 tumors of olive on the two culture media King B and LPGA.

Results after the bacterial count show that "bacteria like *Pseudomonas*" represent 55.56% in the first sample and 84.33% in the second sample and 19.61% in the third sample compared to the total flora. The suspect colonies are identified through various biochemical tests, this identification is confirmed by test pathogenicity on young seedlings of olive. 29 tested isolates give 25 isolates rod gram negative, strict aerobic and fluorescent, "test LOPAT shows that the tested isolates are negative oxidases (8 isolates) and levane negative (24 isolates) and don't degrade the pectin and are arginine negative, The pathogenicity test confirms that the bacteria are pathogenic.

Keywords: *Pseudomonas savastanoi* .pv *savastanoi*, phytopathogenic, tumor, tuberculosis, isolation, olive.

ملخص:

Pseudomonas savastanoi.pv savastanoi هي بكتيريا تنتمي الى عائلة *Pseudomonadaceae* تعتبر السبب الرئيسي والمسؤول عن تشكيل اورام في اغصان الزيتون. في دراستنا قمنا بعزل هذه البكتيريا في وسطين زراعيين والنتائج التي حصلنا عليها بعد العد البكتيري كانت كالتالي. 55.56% في العينة الاولى و 84.33% في العينة الثانية 19،61 في العينة الثالثة في الوسط بالنسبة للمجموع الكلي ،يتم تحديد خصائص البكتيريا من خلال العديد من الاختبارات الكيميائية الحيوية . و ا اختبار يؤكد على ان هذه البكتيريا ممرضة بالنسبة لأشجار الزيتون . 29 بكتيريا معزولة 25 بكتيريا معزولة منها تحمل الخصائص التالية:

levane negatif ,pectinase معزولة بكتيريا 24 , aerobie stricet . bacille gram negatifs . negatifs

سالب لكل البكتيريا المعزولة oxydase negatifs بكتيريا 8 والاختبار يؤكد على أن هذه البكتيريا ممرضة الارجينين

كلمات مفتاحية: *Pseudomonas savastanoi .pv savastanoi* ,عامل ممرض , ورم, الزيتون,السل

DEDICACE

Rien n'est aussi beau à offrir que le fruit d'un labeur qu'on dédie du fond du cœur à ceux qu'on aime et qu'on remercie en exprimant la gratitude et la reconnaissance durant tout notre existence.

Je dédie ce modeste travail :

A l'âme de ma grand-mère que j'espère qu'elle est en paradis

A mon très cher père " Bouzid " qui a veillé sur moi pendant toute ma vie et pour ces encouragements et son soutien.

A ma très chère mère " Fatima " qui je ne serai jamais remercier assez pour le sacrifice qu'elle a consentie pour moi, ainsi que chaque instant de bonheur qu'elle m'a procuré.

A mon cher frère Mokhtar et sa femme Ibtisam que dieu me les garde et mon cher neveu anes sirage eddine que j'aime.

A mes beaux frères : Houssam, Imad Edin.

A mes très chères sœurs : Asma et Kfiaoula.

A mon mari "Salah" que dieu me le garde.

A mes tantes pour leurs encouragements à aller de l'avant surtout " Fatoum " que mon dieu me le garde.

A mon cher oncle "Belgacem " et sa femme "Asma" pour leurs soutiens et ces encouragements.

A mes oncles : Mohamed, Lakhdar, Ahmed, Belgacem et leurs épouses.

A ma chère voisine "Rachida" et sa petite famille que je les aime.

A mes copines

A ma promotion 2016 sans exception.

REMERCIEMENT

Ce travail de master académique a été réalisé au sein de laboratoire de biologie à l'université de Laghouat.

Après les louanges à Dieu l'unique, l'éternel je tiens à exprimé et mes sincères remerciements aux personnes qui m'ont apporté leur aides et qui ont contribuées à l'élaboration de ce mémoire.

Je remercie le tout puissant de m'avoir donné le courage et la force de réaliser mon rêve et celui de mes chers parents.

Mes remerciements s'adressent à M^{er} Kaddouri Mohamed Lamine , d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.

J'exprime ma gratitude à M^{er} Rahmani Mokhtar , d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je tiens tous particulièrement à exprimé ma gratitude envers mon encadreur Madame Zaza Mesouda, enseignante à l'université de Laghouat au département d'agronomie ; pour sa disponibilité, pour le temps et la patience qu'il m'a accordé tout au long de ce travail et pour son appui qui m'a permis de réaliser cette étude.

Enfin je remercie tous qui m'avez aidé

A tous les chers je vous dis merci pour tous.

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Les principales variétés d'olivère cultive en Algérie	12
Tableau 02	les principales maladies de l'olivier	15
Tableau 03	les résultats des tests KOH , coloration de Gram ,le florescence, hugh et leifson	37
Tableau 04	les résultats du test LOPAT	42

Listes des Figures

Figure	Titre	Page
01	l'arbre d'olivier	05
02	la réparation de l'olivier dans le monde	07
03	Coupe schématique du fruit (drupe)	09
04	Développement du système racinaire de l'olivier	10
05	Le cycle de vie de l'olivier	11
06	le tumeur d'olivier	17
07	Répartition de la tuberculose de l'olivier dans le monde	18
08	Symptômes typiques de la tuberculose d'olivier causés par <i>Pseudomonas savastanoi</i> , sur les rameaux (en haut à gauche), la feuille (en haut à droite), les branches (en bas à gauche) et les fruits (en bas à droite)	19
09	Taux de <i>pseudomonas savastanoi</i> par rapport à la flore totale dans des tumeurs végétatives	33
10	résultats de coloration	34
11	résultat de test KOH	35
12	résultat de test Hugh et Leifson	36
13	résultat de test Arginine déshydrolase	39
14	résultats de test pectinase	40
15	résultat de test d'oxydase	40
16	l'aspect d'une crème bactérienne de <i>Pseudomonas savastanoi</i> sur milieu levane	41
17	le résultat de test pathogénicité	43

Liste des abréviations

ADH : Arginine déshydrolase

B.C: before christ

C⁰ : degré Celsius

FAO : Food and Agriculture Organisation

h : heure

ha : hectare

KB : milieu de culture King.B

KOH : d'hydroxyde de potassium

LOPAT : levan, oxydase, activité pectinolytique, présence de l'arginine déshydrolase et hypersensibilité sur feuilles de tabac

mn : minute

ml : millilitre

N : la moyenne entre le nombre de colonies dans les boites de la même dilution.

n : Facteur de dilution.

pH : potentiel d'hydrogène

PNDA : plan national de développement agricole

pv : pathovars

UFC : unité formant colonie

V : volume

% : pourcentage

SOMMAIRE

Résumé	
Remerciements	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Sommaire	
Introduction.....	01
Chapitre I:L'olivier	04
Historique.....	05
2. Origine géographique	06
3. Répartition géographique	06
3.1. Situation générale de l'olivier dans le monde	07
3.2.Répartition d'olivier en Algérie	08
4. Caractéristique botanique	08
4.1. L'espèce	08
4.2. Systématique et classification botanique de l'Olivier	08
5. Caractéristique morphologique	08
5.1. Caractéristiques généraux	08
5.2. Fruit	09
5.3. Système racinaire	10
6. Caractéristique physiologique	10
6.1. Cycle de développement	10
6.1.1. Période juvénile	10
6.1.2. Période d'entrée en production	10
6.1.3. Période d'adulte	10
6.2. Cycle végétatif d'olivier.....	10
7. Les principales variétés d'olivier cultivées en Algérie.....	12
8. Environnement et Ecologie	14
9. Les maladies de l'olivier	15
Chapitre II : La tuberculose d'olivier	14
1. La tuberculose d'olivier.....	17
1.1. Description de la maladie	17

1.2. Répartition géographique des d'olive pathogènes.....	18
1.3. Les Symptômes.....	18
1.4. Les pertes de maladie.....	19
1.5. La gamme d'hôte	20
1.6. L'agent causal de la maladie.....	20
2. Historique de <i>savastanoi</i>	20
3 . Classification de <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv <i>savastanoi</i> :	21
4. Épidémiologies de maladie	21
5. Caractéristique général de la bactérie	22
6. Mode d'action	22
7. Survie et transmission	24
8. L'Influence de climat	24
9. Méthodes de lutte.....	24
9.1 Lutte biologique	24
9.2Lutte chimique	25
Chapitre III : Matériel et méthodes	
1. Origine des souches bactériennes.....	27
2. Méthodes d'isolement.....	27
3 - Dénombrement des bactéries.....	27
4. Sélection et purification des isolats	28
5- Conservation des isolats bactériennes.....	28
6- Identifications des isolats.....	28
6.1 Test de Gram.....	28
6.1.1 coloration de Gram	28
6.1.2 Test KOH	29
6. 2Test Hugh et Leifson.....	29
6. 3 Test LOPAT.....	29
6.3.1 Test levane.....	29
6.3 .2 Arginine des hydrolase.....	30
6.3. 3 Test de pectinase.....	30
6.3.4 Test oxydase.....	30
7. Test de pouvoir pathogène.....	31

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Dénombrement des bactéries	33
2 Coloration de Gram.....	34
3. . Test de KOH	35
4. Test hugh et leifson.....	36
5. Test LOPAT.....	39
5.1 Test d'Arginine déshydolase.....	39
5.2 Test pectinase.....	39
5.3 Test d'oxydase.....	40
5.4 Test levane.....	40
6. Test de pouvoir pathogène.....	43
8. Discussion.....	44
Conclusion.....	49
Références bibliographiques	52
Annexe	

INTRODUCTION

Introduction

Introduction :

L'olivier (*Olea europaea*) est un arbre fruitier qui produit les olives, un fruit consommé sous diverses formes et dont on extrait une des principales huiles alimentaires, l'huile d'olive. C'est la variété, domestiquée depuis plusieurs millénaires et cultivée dans les régions de climat méditerranéen, de l'une des sous-espèces de *olea europaea*, une espèce d'arbres et d'arbustes de la famille des oléacées. Il marque beaucoup les économies agraires traditionnelles et reste de 1ère importance : 96% des oliviers mondiaux se concentrent sur 3 millions d'exploitations dans les pays méditerranéens (FAO, 2005).

Parmi toutes les matières grasses alimentaires, l'huile d'olive occupe une place de choix dans les traditions culinaires méditerranéennes dont elle a toujours fait partie. Par ailleurs, ses propriétés avérées et potentielles, lui ont valu d'occuper, ces dernières années, une place essentielle dans la recherche nutritionnelle moderne (Benrachou *et al.*,2010).

En terme de production, l'Algérie, pays du bassin méditerranéen, malgré un climat très favorable à la culture de l'olivier, se positionne largement après l'Espagne, l'Italie et la Tunisie qui sont de gros producteurs d'huile d'olive dans le monde. Elle possède, cependant, d'importantes ressources oléicoles dont les superficies actuelles sont de l'ordre de 180000 ha. Selon les projections du PNDA (plan national de développement agricole), ces superficies atteindront dans quelques années 583000 ha (Benrachou *et al.*,2010).

Cependant, l'intensification de l'oléiculture pose un certain nombre de problèmes comme exemple l'infection des arbres par des bactéries phytopathogènes entre autre le genre *Pseudomonas* qui forment un large groupe de bactéries colonisant le sol, les plantes et l'eau. Certaines peuvent causer des infections mortelles chez l'humain (Vauterin *et al.*,1995).

La tuberculose d'olivier est l'exemple typique des maladies bactériennes causées par *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* touchant l'olivier est ayant une grande importance économique, elle avait été décrite pour la première fois par les Grecs au 4ème siècle B.C. (Iacobellis, 2001).

Cette maladie est réponde actuellement dans tous les pays où l'on cultive l'olivier. En Algérie la maladie est traditionnellement connue (Benjema, 1998).

Introduction

Pseudomonas savastanoi pv.savastanoi, organisme de quarantaine et considérée comme le seul pathogène responsable de la formation des tumeurs bactérienne .cette maladie est considérée comme un problème majeur par son effet néfaste sur la croissance, le rendement et surtout la qualité de l'huile d'olive. Des symptômes semblables à la celles de la maladie de la tuberculose d'olivier ont été observées dans la région de Ain El bel dans la wilaya de Djelfa. Dans l'objectif d'étudier les causes de ces tumeurs, nous nous proposons à travers la présente étude de faire des isolements et des test biochimiques pour l'identification de l'agent causale.

Notre plan de travail est divisé sur deux parties, la première c'est la bibliographique sur l'olivier et les maladies d'olivier précisément la tuberculose d'olivier et l'agent causal de cette maladie, la deuxième partie c'est la partie pratique au laboratoire sur des souches isolé à partir des tumeurs fraîche ont et fait les tests biochimiques permettent l'identification de des caractères morphologiques et métaboliques.

Chapitre 1

1. Historique

L'olivier est attachée une image forte, celle de paysages méditerranéens, cet arbre accompagne les mythes fondateurs des cultures méditerranéennes, bible, coran , grands textes classiques grecs, arbres des dieux symbole de force, de longévité de paix (Breton *et al* .,2006).

Pendant de nombreux siècles, depuis que les Phéniciens d'abord, les Grecs ou les Romains ensuite, introduisirent et propagèrent sur les rivages de la Méditerranée cette essence originaire d'Asie Mineure, l'Olivier fut par excellence l'arbre nourricier de multiples générations. Il ne demeure plus aujourd'hui dans diverses régions qu'un élément accessoire de l'alimentation des générations présentes ; encore cet élément est-il souvent négligé, parfois même délaissé. A une époque où les échanges commerciaux n'avaient pas atteint sur le plan national et international leur amplitude et leur facilité actuelles, Olivier fournissait la matière oléagineuse essentielle à la vie de populations qui l'utilisaient pour leur consommation ou pour leur éclairage. (Dugelay A, 1953).

De très ancienne date, celles-ci s'étaient donc attachées à la produire sur place. Lorsque le volume de la production le permettait, et lorsque s'offraient des possibilités d'écoulement sur des marchés accessibles, l'huile d'olive leur procurait en outre une monnaie d'échange rémunératrice. Le commerce des huiles d'olive fut très actif pendant longtemps sur les rivages et dans les ports méditerranéens, tant en France que dans les pays étrangers. Dans les montagnes, les populations n'hésitaient pas, au prix d'un rude labeur, à rechercher cette production dans la mise en culture de terrains escarpés, dès que la qualité du sol et une exposition ensoleillée se montraient propices à l'oléiculture. Il suffit de considérer les innombrables terrasses superposées au flanc des montagnes méditerranéennes, et qui portent encore des olivaies, pour juger de l'acharnement qu'elles apportaient à cette culture (Dugelay A, 1953).



Fig 01. l'arbre d'olivier (levin,2003)

2. Origine géographique

L'origine géographique de l'olivier semble être le croissant fertile (Rugini *et al.*, 1998 ; Loumon et Giourage, 2003).

Le genre *Olea* L., renfermant tous les vrais Oliviers, comprend environ 60 espèces localisées dans l'Ancien Monde (Océanie comprise) dans la région tropicale et subtropicale, principalement sur les montagnes. Il manque en Amérique. Par contre, il existe des espèces d'*Olea* en Afrique, en Asie, aux Îles Mascareignes, en Océanie et jusqu'à la Nouvelle-Zélande et la Nouvelle-Calédonie. L., est cultivée sur une très grande échelle dans toute la région méditerranéenne depuis la plus haute antiquité pour l'huile fournie par ses fruits. Depuis un siècle sa culture a été introduite aussi en Amérique, en Afrique du Sud et en Australie. ou plus à l'intérieur de l'Asie. La culture s'étend en effet au S du Caucase, à l'Iran, à l'Anatolie, la Syrie, à la Mésopotamie, à l'Arabie, au Punjab. La plupart des noms que porte l'Olivier en Asie sont d'origine sémitique; les Anciens Egyptiens l'ont peu cultivé, mais du temps d'Homère sa culture était déjà très répandue en Grèce; elle s'est développée en Italie au vie siècle avant J.-C. ; de là elle a gagné le N de l'Afrique, le S de la Gaule et la péninsule ibérique. Il existe actuellement des milliers de variétés cultivés; chaque région a les siennes mais on ignore si ces variétés ont pris naissance en des régions particulières d'où elles se seraient ensuite disséminées, ou s'il a existé plusieurs foyers de domestication (Chevalier Auguste, 1948).

3. Répartition géographique

La répartition géographique de l'Olivier est traitée dans le monde puis en Algérie.

3.1 Situation générale de l'olivier dans le monde

L'olivier connaît une extension progressive à travers le monde. Durant les dernières années, plusieurs pays non méditerranéens ont tendance à développer cette culture dans certaines régions spécifiques de leur territoire. Les pays méditerranéens, restent prédominants avec plus de 95% de la production d'huile d'olive et avec environ 90% de sa consommation. Des variétés et des pratiques adaptées à une culture intensive à productivité élevée, commencent à prendre place, notamment au niveau des nouvelles plantations. La production mondiale des huiles d'olives connaît de grandes variations et se situe en moyenne aux environs de deux millions de tonnes¹. Le niveau de la production a évolué en moyenne de 2,2% par année pendant les deux dernières décennies, alors que la consommation connaît un taux d'évolution légèrement moins important (1,7% par année). Cette tendance si elle se confirme, risque de poser un déséquilibre entre l'offre et la demande. Toutefois, il est à signaler que la demande et les prix à la consommation sont affectés par les considérations spécifiques au marché (publicité, emballage, le label....) mais aussi par les effets positifs de l'huile d'olive sur la santé et par son goût et ses arômes. Les dernières études menées ont montré que le niveau de la demande en huile d'olive dans beaucoup de cas reste peu influencé par les variations des prix et se confirme de plus en plus pour des raisons de santé et de diététique (FAO, 2003).

L'olivier cultivé est toujours un arbre méditerranéen, bien sur, il a essaimé sur d'autres continents. À la suite des conquérants portugais et espagnols, il est implanté en Amérique du sud. On le trouve aussi en Syrie, au Liban, aux états Unies, en Afrique du Sud, en Australie et jusqu'au Japon et en Chine.

L'oléiculture occupe toutefois une part très importante dans l'économie agricole de certains pays méditerranéens les quatre premiers pays producteurs (Espagne, Italie, Grèce, et Turquie) représentant 80% de la production mondiale et les dix (le Maroc et la Tunisie sont les plus grands producteurs après l'Espagne, l'Italie la Grèce et la Turquie premiers tous situés dans la zone méditerranée 95% (FAO).

Les plantations d'olivier occupent dans le monde environ 8.6 million d'hectare en 2005 la production pendant cette année 1.3 million de tonnes (source, FAO).

Les pays riverains de la méditerranée et leur régions côtières



Fig 02. la répartition de l'olivier dans le monde (Mendil et sebai, 2006)

3.2 Répartition de l'olivier en Algérie

L'Algérie compte parmi les pays du bassin méditerranéen où l'olivier trouve son aire d'extension. Depuis 2002, elle a bénéficié d'une opération d'implantation de 1.000.000 d'hectares de nouvelles oliveraies, dans le cadre de plusieurs programmes étalés jusqu'en 2014. Ainsi donc, dans la région de Batna, des superficies importantes ont été réservées à la culture (NaamaFrah, HadjerBaala et Aziza Loucif , 2015).

En terme de production, l'Algérie, pays du bassin méditerranéen, malgré un climat très favorable à la culture de l'olivier, se positionne largement après l'Espagne, l'Italie et la Tunisie qui sont de gros producteurs d'huile d'olive dans le monde. Elle possède, cependant, d'importantes ressources oléicoles dont les superficies actuelles sont de l'ordre de 180000 ha. Selon les projections du PNDA (plan national de développement agricole), ces superficies atteindront dans quelques années 583000 ha. (Benrachou *et al.*, 2010).

En 2000 ,la superficie de culture d'olivier en Algérie représente d'environ 168 080ha ,soit 33% des 500.000 ha de superficie arboricole nationale ,et 2% des terres agricoles cultivables . dans le monde les produits oléicoles algériens sont caractérisés par une large gamme de variétés dans le center et dans l'est les variétés; Hamma (pour le confiserie) chemlal, azeradj, bouchouk , rougette, blanquette (pour l'extraction d'huile). Dans la région nord-ouest les variétés les plus propagées sont : sigoise, verdial ,cornicabra et Gordal (Matallah *et al* 1996 ; matallah –boutiba, 1998).

4. Caractéristique botanique

Ce sont des arbres ou des arbustes à feuilles persistantes donnant des bois denses à grain fin. Une seule espèce *Olea europaea*

4.1 L'espèce

Olivier est un arbre vivace aux feuilles persistantes, dur, gris-vert et ayant une forme allongée, elles sont utilisées pour l'alimentation de bétail (Metzidatis, 1997). Les fleurs sont déposées en grappes sur une longue tige, l'olivier produit deux sortes de fleurs, une parfaite qui contient les deux sexes mâle et femelle et une staminée (Bernie *et al.*, 2006).

Le tronc est gris-vert et lisse jusqu'à sa dixième année, il devient noueux et prend un teint gris foncé (Rugini *et al.*, 1998). Pour le système racinaire, il s'adapte à la structure des sols, le système racinaire reste à une profondeur de 500 à 700 cm et se localise principalement sous le tronc, mais ces racines forment une souche ligneuse très importante, dans laquelle s'accumulent des réserves, dans les mêmes conditions d'alimentation (Maillard, 1975 ; Loussert et Brousse, 1978).

4.2. Systématique et classification botanique de l'Olivier

Selon Maillard (1975) l'olivier est classé comme suit :

Embranchement : phanérogame
Sous embranchement :
angiospermes

Classe : dicotylédone

Famille : oléacées

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea* L.

5. Caractéristique morphologique

5.1 Caractéristiques générales

L'olivier est un arbre persistant coriace et vert foncé, peu exigeant quant à la nature de sol, il supporte la sécheresse car il peut profiter de la moindre pluie grâce à ces racines qui explorent (6 m en profondeur sur 20 m) (Retournard et Yves, 2003).

5.2 Fruit

Le fruit, l'olive est une drupe à mésocarpe, charnu, riche en lipide. Sa forme est ovoïde ou ellipsoïde. Ses dimensions sont très variables suivant les variétés. L'épicarpe reste très attaché au mésocarpe (ou pulpe). L'endocarpe est constitué en un

noyau fusiforme, très dur, protège un seul grain à albumen cellulaire.(Loussert et Brousse, 1978).

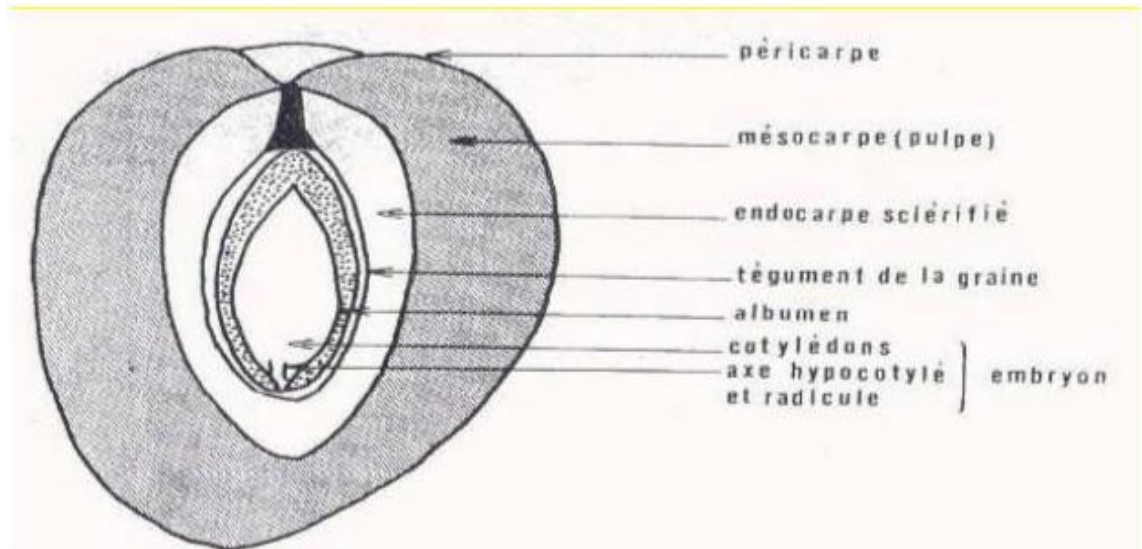


Fig 03 . Coupe schématique du fruit (drupe) (LOUSSERT et BROUSSE ,1978)

5.3 Système racinaire

Lors de la germination du noyau, le jeune plant développe une racine pivotante .puis en croissant, l'olivier développe un système racinaire essentiellement peu profond 60 à 100 cm.

Développement latéral ,dont les racines principales débordent peu l'aplomb du feuillage ,alors que les racines secondaires et les radicelle peuvent explorer une surface de sol considérable .le chevelu racinaire se limite en général au premier mètre de sol et partiellement développé dans les zones plus humide .Au-delà du premier mètre poussant des racines permettent l'alimentation de l'arbre en cas de sécheresse .seules les radicelles émises au cours de l'année permettent l'absorption de l'eau .les racines de l'olivier sont capables d'extraire de l'eau en exercent une importante force de succion de l'ordre de 25bars sur sol ,contre -15 bars en général pour les autres espèces fruitières ,lui permettant de prospérer là ou d'autres se flétriraient (Argenson *et al.*,1999).

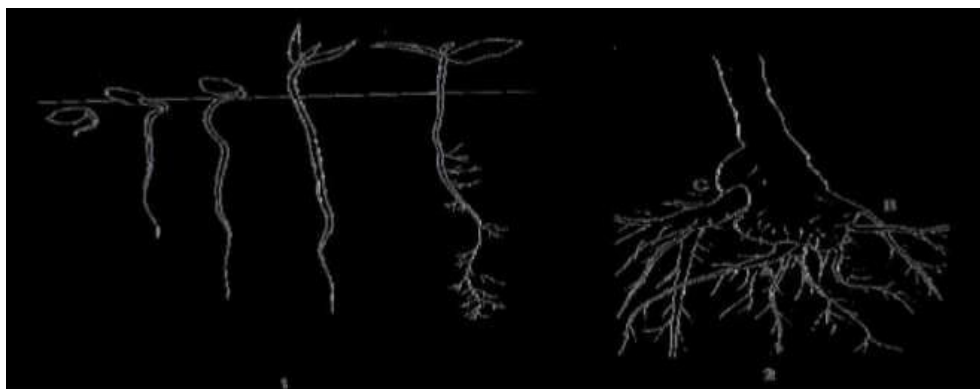


Fig 04 . Développement du système racinaire de l'olivier (Loussert et Brousse, 1978).

6. Caractéristique physiologique

6.1 Cycle de développement

Selon loussert et bousset (1978), le cycle de développement de l'olivier comprend a quatre période essentielle :

6.1.1 Période juvénile

C'est la période d'élevage et de croissance du jeune plant, elle commence en pépinière et se termine au verger. C'est durant cette de jeune arbre que s'installe son système racinaire, tout en développant sa frondaison.

Lorsque l'équilibre feuillage –racine est atteint, il a apparition des premières fleurs.

6.1.2 Période d'entrée en production

C'est une phase intermédiaire chevauchant entre les phases de jeunesse et d'adulte, elle s'étale du moment où l'arbre est apte a produire, jusqu'à a ce que ses production soient importantes et régulières.

6.1.3 Période d'adulte

C'est la phase plus intéressante pour l'oléiculture, sa durée est de 30 a 40 ans en culture intensive. L'olivier fournit l'optimum de sa production de sa production car il atteint car il a atteint sa taille normale de développement et termine son accroissement souterraine et aérien.

6.2 Cycle végétatif d'olivier

Après le repos hivernale de novembre à février ,la végétation démarre a partir de mars-avril ,les pousses terminale s allègent ,les bourgeons axillaires se développent après différenciées en boutons floraux ou en a 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 scerifie 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 (Himour,2008) .

L'olivier ne produit naturellement qu' une année sur deux en l'absence de taille ,et la production s'installe lentement ,progressivement ,mais durablement :entre 1 et 7 ans la période d'installation improductive ,dont la durée peut doubler en cas de sécheresse ; jusqu'à 35 ans , l'arbre se développe et connaît une augmentation progressive de la production ;entre 35 ans et 150 ans ,l'olivier atteint sa pleine maturité et sa production optimale au –delà de 150 ans , il vieillit et ses rendement deviennent aléatoires (Himour, 2008).

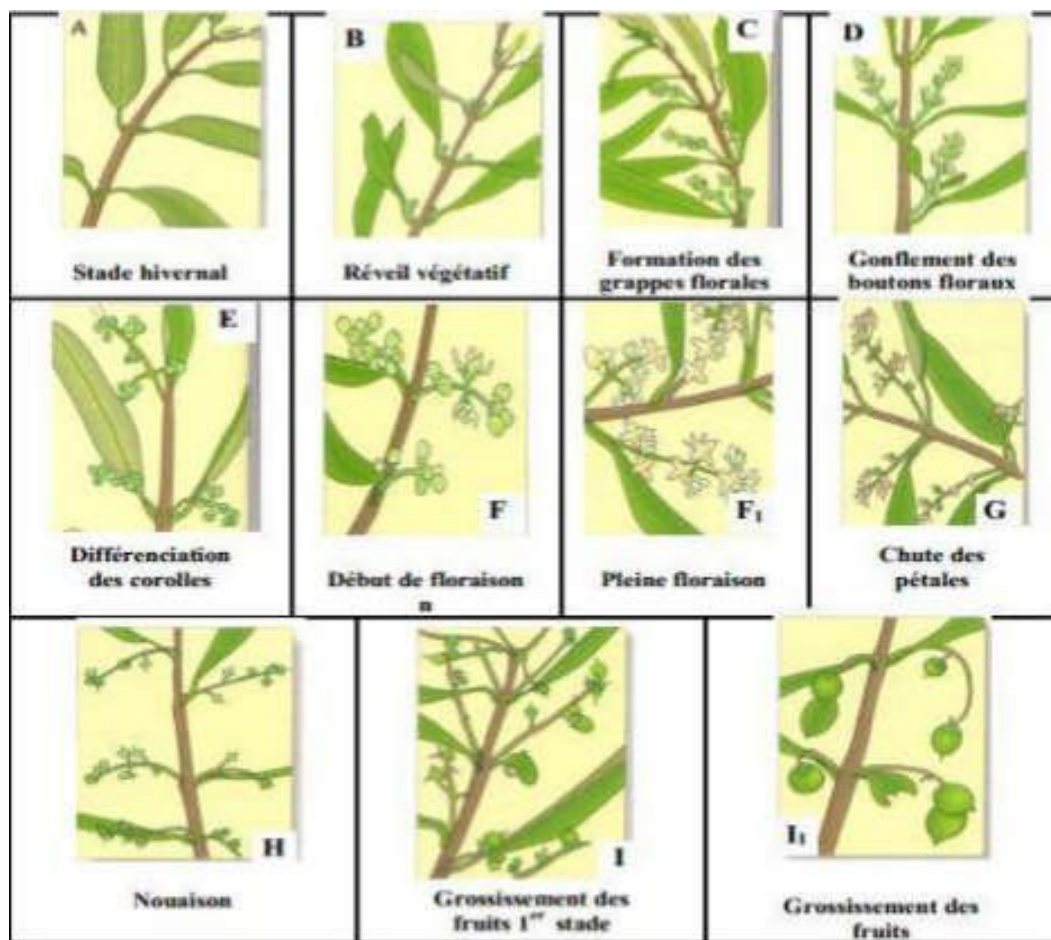


Fig 05 . Le cycle de vie de l'olivier (Argenson et al ; 1999)

7. Les principales variétés d'olivier cultivées en Algérie

Les principales variétés d'olivier cultivées en Algérie sont présentées sur le tableau suivant (Mendil et Sebai, 2006) :

Variétés et synonymes	Origines et diffusion	Caractéristiques
Var. Azeradj	Petite Kabylie (oued Soummam), occupe 10% de la surface oléicole nationale	Arbuste rustique et résistant à la sécheresse ; fruit de poids élevé et de forme allongée ; utilisé pour la production d'huile et olive de table, rendement en huile de 24 à 28%
Blanquette de Guelma	Originale de Guelma ; assez répandue dans le Nord-est constantinois, Skikda et Guelma	Sa vigueur est moyenne, résistant au froid et moyennement à la sécheresse ; le fruit de poids moyen et de forme ovoïde, destiné à la production d'huile, le rendement de 18 à 22% ; la multiplication par bouturage herbacé donne un bon résultat 43,4%
Bouricha, olive d'El-Arrouch	El-Harrouch, Skikda	Arbre rustique, résistant au froid et à la sécheresse ; poids faible du fruit et de forme allongée, production d'huile, rendement de 18 à 22%.
Chemlal Syn. Achemlal	Occupe 40% du verger oléicole national, présente surtout en Kabylie, s'étend du mont Zekkar à l'Ouest aux Bibans à l'Est.	Variété rustique et tardive, le fruit est de poids faible et de forme allongée, destiné à la production d'huile, le rendement en huile de 18 à 22%
Ferkani, ferkane	Ferkane (Tebessa), diffusée dans la région des Aurès	Variété de vigueur moyenne, résistante au froid et à la sécheresse, le poids de fruit est moyen et de forme allongée, production d'huile et rendement très élevés 28 à 32%, le taux d'enracinement

		des boutures herbacées de 52.30% ; variétés en extension en régions steppiques et présahariennes
Grosse de Hamma, Syn. QueldEthour	Hamma (Constantine)	Variété précoce, résistante au froid et à la sécheresse; fruit de poids très élevé et de forme allongé, double aptitude : hile et olive de table, le rendement de 16 à 22%
Hamra, Syn. Rougette ou roussette	Originnaire de Jijel, diffusée au nord constantinois	Variété précoce, résistante au froid et à la sécheresse, le fruit est de poids faible et ovoïde, utilisée pour la production d'huile, rendement de 18 à 22%.
limli	Originnaire de Sidi-Aïch (Bejaïa), occupe 8% du verger oléicole national, localisée sur les versants montagneux de la base vallée de la Soummam jusqu'au littoral	Variété précoce, peu tolérante au froid, résistante à la sécheresse; le fruit est de poids faible de forme allongée, utilisée dans la production d'huile, le rendement de 20 à 24%.
Longue de Maliana	Originnaire de maliana, localisée actuellement dans la région d'ElKhemis, Cherchell et le littoral de Ténès	Variété tardive, sensible au froid et à la sécheresse; le fruit est de poids moyen et de forme sphérique, utilisé pour la production d'huile et olives de table, rendement de 16 à 20%
Rougette de Mitidja	Plaine de Mitidja	Variété rustique; le fruit est moyen et allongé, utilisé pour la production d'huile, rendement de 18 à 20%; le taux d'enracinement des boutures herbacées donne un résultat moyen de 48.30%

Souidi	Vallée d'Oued ArabChercharKhenchela	Variété tardive, résistante au froid et à la sécheresse; fruit moyen et allongé, utilisé dans la production d'huile, le rendement de 16 à 20%; le taux d'enracinement très faible
Sigoise ou olive de Tlemcen ou olive de Tell	Elle est dominante depuis Oued Rhiau jusqu'à Tlemcen	Variétés rustique, le fruit est de poids moyen et de forme ovoïde, produit une olive à deux fins est très recherchée pour la conserverie et donne un bon rendement en huile de 18 à 22%, le taux d'enracinement moyen est de 51.6%, elle est sensible audacusetaucoclonium.

8. Environnement et Ecologie

La culture de l'olivier peut avoir des impacts positifs et/ou négatifs sur l'environnement (air, eau, sol et animaux). Les effets positifs de l'olivier sont principalement : Oxygénation de l'air, Augmentation des infiltrations de l'eau et Conservation de la fertilité du sol et lutte contre l'érosion. Les effets néfastes de l'olivier peuvent être nombreux en cas d'utilisation non appropriée des produits chimiques, il s'agit principalement de Pollution de l'air, de l'eau et du sol (résidus des engrais et des pesticides), Nocivité des margines et des résidus de l'extraction . Dans ce sens, des recherches sont nécessaires pour déterminer les méthodes et les techniques adéquates, permettant d'augmenter l'infiltration des eaux, de favoriser le contrôle de l'érosion des sols, d'améliorer la productivité et d'instaurer des règles de qualité et des normes.

D'un autre côté, les champs d'oliviers à caractère intensif, doivent utiliser des méthodes, des approches et des technologies qui respectent les aspects environnementaux, des travaux de recherches doivent se développer à ce niveau (FAO, 2003).

9. Les maladies de l'olivier

Tableau 02 .les principales maladies de l'olivier (Argenson et al .,1999).

Les maladies Noire et évitable	La cause	Les symptômes et dégâts
Noire et évitable fumagine <i>Capnodiumoleaginum</i>	La fumagine (complexe des champignons)	-L'ensemble de végétales recouvert d'une sorte de poussières noire -La fonction de chlorophyllienne des feuilles peut être stoppée.
Œil de paon. (<i>Cycloconiumoleaginum</i>)	Entraînées par le vent et la pluie, les conidies (organes microscopiques qui permettent la diffusion de la maladie) émettent des zoospores qui provoquent la maladie	-La défoliation peut compromettre non seulement la récolte de l'année mais également la vie de l'arbre. -Provoque la chute des feuilles. -Provoque la chute des fruits.
Cochenille noire <i>SaissetiaoleaeBern</i>	Forte population de Cochenilles	Affaiblit l'arbre
La Teigne de l'olivier <i>PraysoleaeBern</i>	La teigne	-La consommation des organes floraux rend toute la fécondation impossible Pour les fruits les dégâts se manifestent par deux chutes successives. Alors la teigne provoque 30-40% des pertes d'olive
La mouche de l'olivier <i>BactroceraoleaeGmel</i>	La mouche de l'olivier	-Perte de récolte par la chute des fruits - Diminution du rendement en huile et détérioration de la qualité de l'huile par augmentation de son acidité.

Chapitre 2

1. La tuberculose d'olivier

1.1. Description de la maladie

La tuberculose d'olivier est connue en Afrique du Nord depuis le début du siècle cette maladie bactérienne de l'olivier qui est très fréquente Dans le bas méditerranéen (senhajia,1999).le principale maladie bactérienne de l'olivier. Causée par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* ; elle y est maintenant répandue dans toutes les aires de culture de l'olivier. La maladie agit sur la croissance des repousses et elle affecte les organes reproducteurs. L'intensité des dégâts provoqués est fortement liée au nombre de tumeurs par arbre. Or, le comptage systématique des tumeurs sur tous les arbres, qui permet de décider du traitement d'un verger, est très difficilement réalisable (Benjama, 2003).

Cette maladie bactérienne omniprésent dans le bassin méditerranéen. (Zohary et Spiegel-Roy, 1975)..In Italie, elle est appelé (rogne) d'olivier ,en Espagne (verrue),ou tuberculose de l'olivier, en France et en Afrique du nord on lui donne le nom de (tuberculose) ou chancre bactérien de l'olivier.

.l'agent pathogène causal est le *Pseudomonas syringae savastanoi*. La bactéries' installe sur les blessures et provoque des tumeurs aériennes sur différentes parties du végétal C'est un parasite épiphyllé qui vit à la surface et à l'intérieur des tumeurs (Benjama,2003).

dans une autre étude, l'incidence des maladies d'olive noeud n'a pas modifié ni les caractéristiques chimiques et organoleptiques de l'huile d'olive, extraits de fruits jeunes oliviers dans un bosquet de haute densité (Quesada *et al.*, données inédites).



Fig 06 .le tumeur d'olivier (original Ain elbel _Djelfa)

1.2 Répartition géographique de tuberculose d'olivier

L'enregistrement ci-dessous repose en grande partie sur l'observation de tuberculose d'olivier (Bradbury, 1986 ; CMI cartes de répartition des phytopathologies, 1987). Toutefois, une proportion inconnue de dossiers sont appliqués à l'agent pathogène sur laurier-rose parce qu'on a supposé que les agents pathogènes d'oliviers et de lauriers roses étaient les mêmes.

Europe: Austria, Cyprus, France, Germany, Greece, Italy, Netherlands, Norway, Portugal, Spain, Sweden, Switzerland, United Kingdom, Former Yugoslavia.

Asia: Georgia, Iran, Iraq, Israel, Lebanon, Turkey. Africa: Algeria, Libya, Morocco,

South Africa, Tanzania, Tunisia. North America: Mexico, USA (Arizona, Arkansas, California, Texas). South America: Argentina, Brazil, Colombia, Peru, Uruguay.

Australasia: Australia (New South Wales, South Australia, Tasmania, Victoria New Zealand.



Fig 07. Répartition de la tuberculose de l'olivier dans le monde (Source : FAO)

1.3 Les symptômes

L'attaque commence timidement sur brindille des rameaux et n'épargne pas les charpentes elle se manifeste par des tumeurs parenchymateuse a forme irrégulier, de couleur verte au début et a surface lisse ,le diamètre de ces tumeurs augmente au fur et à mesure de l'évolution de l'attaque et les fissures deviennent irrégulières . Ensuite on assiste au brunissement de la surface de ces tumeurs cette prolifération cellulaire

anarchique traduit la synthétisation par les bactéries de l'IAI (acide indol acétique).(senhajia, 1999)

selon Nielsen 1990, l'impact de la maladie se traduit sous divers aspect:

- perte de feuilles de fait de l'étranglement mettant hors circuit l'alimentation des feuilles aval
- dessèchement du bois par suite photosynthèse défaillante
- réduction de production
- dans une phase ultérieure, réduction même de la taille des arbres par suite d'une végétation désordonnée.



Fig 08 . Symptômes typiques de la tuberculose d'olivier causés par *Pseudomonas savastanoi*, sur les rameaux (en haut à gauche), la feuille (en haut à droite), les branches (en bas à gauche) et les fruits (en bas à droite) (Pérez-Martínez et al., 2008).

1.4 Les pertes de maladie

Bien que la maladie est répandue dans les zones de culture plus, il n'y a aucune estimation précise des pertes qu'elle provoque. C'est très difficile à mesurer car plusieurs facteurs peuvent influencer la sévérité des symptômes. Infections graves peuvent causer la mort des rameaux et un progressif affaiblissement, résultant en une perte de vigueur de l'arbre (Tjamos *et al.*, 1993) et donc de la récolte. Andrés (1991) a estimé que les pertes liées à Psv étaient d'environ 1,3% de la production nationale d'olive en Espagne. Parfois, cette maladie a causé la perte de près de la récolte locale d'olive en raison de la combinaison de conditions climatiques optimales pour l'entrée et la multiplication bactérienne, comme observé dans deux localités espagnoles en 1987 et 2001.

La maladie elle représente par estime que les pertes liées au Psv de feuille des brindille de fait de l'étranglement mettant hors circuit l'alimentation des feuilles en aval

et le Dessèchement de bois par suite d'une photosynthèse défaillant étaient autour 1,3 % de la production oléicole nationale cette maladie a causé la perte de presque la récolte des olives. Devant cette maladie, il n'existe pas de moyen curatif cependant les traitements contre *cycloconium* contribuent à une stabilisation de développement de la maladie, due à une action partielle de la bouillie bordelaise (senhajia, 1999).

1.5 La gamme d'hôte

La bactérie *Pseudomonas* - Gram négatif phytopathogène économiquement importante et un modèle pertinent pour l'étude des interactions microbiennes pour plantes. Une caractéristique importante de cet agent pathogène est qu'elle infecte une large gamme de plantes herbacées et plantes ligneuses causant divers symptômes (Agrios, 2005). Basé sur pathogénicité et la gamme d'hôtes, l'espèce est divisée en au moins 50 pathovars (pvs.), dont les *pvs. glycinea*, et *phaseolicolasavastanoi* ont été transférés aux espèces nouvellement créées *Pseudomonas savastanoi* (Gardanet *al.*, 1992). *P.savastanoi* sont pathogènes pour certains olives cultivées (*Olea europaea subsp. europaea*) et les olives sauvages (*Olea europaea subsp. oleaster*, *Olea europaea subsp. sativa*). Souches Oleander sont pathogènes pour oleander (*Nerium oleander*) et peut-être à certains cultivars d'olivier cultivées et sauvages (Bradbury, 1986).

1.6. L'agent causal de la maladie

la tuberculose (ou oleander) est une maladie végétale incitée par *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi*, observé pour la première fois par savastano en 1870 puis au début de vingtième siècle par Smith et Rorer 1904 (Guido M, 2005).

2. Historique de savastanoi

Le premier enregistrement survivant de la maladie de la tuberculose d'olivier était au 4ème siècle avant JC par les Grecs, Théophraste (Iacobellis., 2001). L'agent pathogène semble avoir été disséminé avec olivier (*Olea europaea subsp. europaea*) plantes comme ils ont été répartis à, et propagée dans de nombreuses régions du monde (Bradbury, 1986).

Pour plus d'un siècle, les oliviers ont été cultivés en Nouvelle-Zélande, presque entièrement sous forme de spécimens de plantes ornementales, avec seulement la production amateur marinés / conserves de fruits. oliveraies commerciales pour le pétrole et les fruits ont été une initiative récente. Il y a quelques années, le nœud pathogène oleander, (souche oleander) de *P.* qui peuvent aussi attaquer olive, a été

enregistrée en Nouvelle-Zélande (Dye 1956). L'agent pathogène de noeud d'olive, *P. savastanoi* (souche d'olive), a récemment été détectée.

Dans les plantes introduites par la quarantaine en 1997 (Braithwaite *et al.*, 1999). Bien que cette source de l'agent pathogène peut avoir été éradiquée par l'enlèvement et la destruction de tous les arbres infectés, noeud d'olive a été rapporté dans les régions productrices Île du Nord et peut-être des preuves pour les introductions antérieures de la souche d'olive.

3. Classification de *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*:

En 1908, Smith nommé "Bactérie *savastanoi*," la bactérie qui provoque des nœuds sur plusieurs plantes appartenant à la famille des Oléacées. Cette espèce a ensuite été transféré au genre *Pseudomonas* comme "*Pseudomonas savastanoi*" par Stevens en (1913).

En 1978, Young *et al.* a proposé une nouvelle nomenclature et classification des bactéries pathogènes des plantes et a introduit le concept de pathovar. Règne : Bacteria

Division : Proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : Pseudomonadaceae

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* (Gardan *et al.*, 1992).

4.Épidémiologies de maladie

La tuberculose d'olivier. est considéré comme une des maladies plus graves qui touchent les oliviers (*Olea europaea* L.) dans la plupart d'olive régions en croissance dans le monde entier et principalement dans les pays méditerranéens, où cette culture a connu une croissance pendant des siècles. La maladie peut entraîner de graves dommages dans les oliveraies, causant de graves pertes en conditions de production. C'est probablement la première maladie clairement décrite dans l'antiquité par Théophraste (370-286 BC) (Iacobellis, 2001) et de son étiologie bactérienne était connu à travers le travail de Savastano depuis 1887 (Smith Rorer, 1904). Cependant, il y a actuellement beaucoup de faits inconnus sur l'épidémiologie de cette maladie ou de sa lutte chimique. Nous décrivons ici les études plus pertinentes réalisées sur l'épidémiologie et de la lutte chimique contre le tuberculose d'oliviers.

5. Caractéristique général de la bactérie

P. savastanoi est une bactérie à Gram négatif en forme de tige avec une ou plusieurs flagelle polaires. La majorité des souches appartiennent au groupe Ib du système d'identification Lopat Lelliott et Stead (1987). L'aspect des colonies sont blanches plates avec couleur blanche gris ou crème leur métabolisme est aérobique stricte. Multiplication et la dispersion des *P. savastanoi* dans les oliveraies.

6. Mode d'action

PSV entraîne la formation de croissance hyperplastique dans les oliviers, produisant des tumeurs sphériques sur le tronc et les branches et moins fréquemment sur les feuilles et les fruits (Sisto *et al.*, 1920). PSV infections chez les blessures fraîches d'oliviers commencent par une petite cavité causée par l'effondrement des voisines des cellules végétales et sont plus fréquents sur les troncs et les branches et rare sur les feuilles et les fruits. Par la suite, il y a une prolifération de tissu fait suite à la périphérie de la cavité débouchant sur une élaboration de noeud (Smith, 1920 ; Surico, 1977). Développement de la tumeur dépend de la production bactérienne de l'acide indole-acétique phytohormones et cytokinines (Comai-Kosuge, 1980; Iacobellis *et al.*, 1994). Par ailleurs, des résultats récents ont révélé que les souches de PSV contiennent deux copies de tous les gènes impliqués dans la synthèse de l'acide indole-acétique (Matas *et al.*, 2009). Il a été signalé que les noeuds d'olive dépendent aussi des gènes *hrp/hrc* (Sisto *et al.*, 2004), qui encode la biosynthèse d'un système de sécrétion III Type fonctionnel (TTSS). Récemment, les remarquables progrès ont été réalisés dans la recherche dans plusieurs aspects de l'interaction hôte-pathogène de l'agent causal du noeud d'oliviers. Infection par PSV et la formation subséquente de noeud dans les jeunes rameaux de laurier-rose (*Nerium oleander*) requièrent l'activité cambium vasculaire (Wilson, 1965). L'invasion de l'hôte par la bactérie commence avec la colonisation du site d'infection, suivie de la désintégration et la ventilation des cellules végétales adjacentes qui conduit à la formation d'une grande cavité autour de la région colonisée par les bactéries. Curieusement, cette bactérie produit *in vitro* comme cellulase, cellobiase, xylanase et pectinase (Magie, 1963) enzymes dégradant la paroi cellulaire. Dans une deuxième phase, les cellules intactes qui entourent le pathogène souffrent de l'effet des hormones qui produit du PSV et augmentation de la taille (hypertrophie) suivie d'une division anormale des cellules (hyperplasie). Enfin, il y a une différenciation de certaines cellules de la zone hyperplasique, des éléments de xylème et de phloème. Au cours de

l'infection des jeunes tiges d'Olivier après l'inoculation, les bactéries se multiplient par une succession de phases qui incluent une augmentation de la population, une phase stationnaire et un déclin de la population. Il y a une tendance claire parabolique dont la valeur maximale dépend de la sensibilité de cultivar (Varvaro, Surico., 1978) Multiplication du pathogène à l'intérieur des tissus des oliviers micropropagés peut atteindre des densités de 107 à 108 UFC / noeud (Rodríguez-Moreno et coll., 2008), valeurs très semblables à ceux décrits précédemment avec 1-2 ans vieux plants par Penyalver *et al* (2006).

La première réaction du tissu de la fente ensemencée d'une jeune tige est de renouveler ou d'augmenter rapidement l'activité du cambium, bien que cela dépend de si le l'inoculation a lieu en hiver, l'été ou au printemps (Surico, 1977). L'augmentation de l'activité du cambium favorise la formation de deux masses de tissu nouveau sur les deux côtés de la plaie, qui croissent jusqu'à leur jonction et forment un noeud. Différenciation des éléments du phloème et xylème, qui sont organisés ou non dans les faisceaux vasculaires, se trouve dans le nouveau tissu de parenchyme. Microscopie photonique montre la présence de faisceaux vasculaires de nouveau formation en noeuds olive, connecté avec le cylindre vasculaire de tige (Rodríguez-Moreno *et al.*, 2009). PSV a été localisé dans les cavités formées après l'effondrement des cellules végétales intercellulaires, ainsi que dans des zones périphériques à proximité de l'épiderme ou envahir les faisceaux de xylème nouvellement formé (Rodríguez-Moreno *et al.*, 2009). Cela pourrait être lié à la propagation de l'agent pathogène et sa sortie externe par le biais des exsudats végétaux. Formation d'agrégats bactériens, microcolonies et biofilms multicouches a été observée dans les sections de noeud par microscopie électronique à balayage. Par ailleurs, l'analyse TEM de sections de noeud montre la libération des vésicules de la membrane externe de la surface de l'agent pathogène (Rodríguez-Moreno *et al.*, 2009).

Par la suite, en vieux noeuds, usine cellules effondrement et forme des cavités contenant un grand nombre de bactéries. Fissures atteignant la surface de noeud développent à l'intérieur de ces cavités, permettant aux bactéries d'échapper à la surface externe des noeuds intacts (Surico, 1977). . noeuds peut représenter un environnement favorable pour les bactéries de se multiplier et aussi les protéger contre des conditions environnementales extrêmes, tels que es étés généralement chaudes et secs des régions oléicoles (Comai, Kosuge., 1980) L'agent causal de la maladie d'olive noeud n'est pas le seul organisme vivant en noeuds, parce qu'il y a aussi blanche ou jaunes bactéries

saprophytes qui sont caractérisés comme Pantoea agglomerans, autres espèces d'entérobactéries et bactéries pathogènes humains même putatifs .

7. Survie et transmission

Le transport de la bactérie fait par l'homme, la pluie, le vent .sa gravité provient du fait que peut être également transmis par les techniques de multiplication en pépinière à partir d'organes provenant d'arbres contaminés apparemment indemnes (greffon-bouture). (senhaja.1999).

La souche d'olive de la vie de *P.* en association avec des plants d'olivier Ercolani (1978). Les populations de la bactérie ne survivent pas à l'écart de plantes infectées et diminuent rapidement dans le sol. est le plus prolifique lorsque les plantes sont en pleine croissance au printemps (Surico .,1977), quand ils réagissent aux blessures induites infectées par le pathogène. la bactérie se trouve sur la surface des feuilles, avec des populations plus élevées au printemps et en automne (Ercolani.,1978). La bactérie peut survivre dans les ouvertures naturelles de la plante ou dans des infections subcliniques. Pluie, suivie d'une humidité élevée favorise l'infection (Teviotdale, 1994).

P. savastanoi est présent dans le matériel végétal infecté et est généralement introduit dans de nouvelles régions en pépinière. L'agent pathogène peut être transporté dans les aérosols et, par conséquent, peut être transportée sous la pluie poussée par le vent. Comme un pathogène infectant plaie, *P. savastanoi* peut également être transmis sur le matériel du verger comme outils d'élague. Si le nœud d'oliviers est observée dans un verger d'arbres, on peut supposer que le bloc entier est en danger et que la transmission de l'agent pathogène à des oliviers dans un rayon de 500 m ~ finira par se produire dans les aérosols générés lors des tempêtes. Enlèvement des arbres visiblement malades ne sera pas une incidence importante sur ce processus. Le contrôle effectif dépendra d'une approche éclairée à la gestion de la maladie basée sur une compréhension de la biologie de l'agent pathogène. populations de bas niveau de l'agent pathogène peut résider sur les feuilles et en nature planter des ouvertures Ercolani (1978) sans induire immédiatement les symptômes de la maladie, mais l'observation des symptômes de nœud dans un verger est une indication de la présence de grandes quantités de inoculum bactérien. Une fois que les symptômes de nœud sont apparus dans un bloc, on peut supposer que ces arbres continueront d'être touchés par des flambées sporadiques ou prolongées de la maladie, et les arbres malades fourniront une source d'inoculum qui peut se propager

l'infection à d'autres blocs. Il n'y a pas de méthode fiable de l'éradication de l'agent pathogène dans des vergers une fois qu'il est présent.

P. savastanoi (comme la plupart des agents pathogènes bactériens) devrait s'attendre ne pas à exprimer des symptômes chaque année et ne devrait pas s'attendre inévitablement à causer de sérieux dégâts ; noeud d'oliviers est susceptible de se produire avec divers degrés d'intensité dans différentes localités et à varier d'une année à l'autre. Une maladie grave dans un an peut être suivie de plusieurs saisons sans dommage important. Flambées irrégulières de gravité variable sont caractéristiques des maladies bactériennes.

8. L'Influence de climat

Des températures élevées et de fortes précipitations augmenter l'effet des bactéries pathogènes en général. Noeud d'olive semble être plus sévère au printemps et en automne (Krueger *et al.*, 1999). Cela peut être dû à l'influence climatique, mais il peut également être connecté avec l'état physiologique des arbres dans ces moments.

9.méthodes de lutte

9.1. Lutte biologique

Il n'existe aucune preuve documentée pour la lutte biologique contre toute bactérie pathogène, comme le *P. savastanoi*, qui affecte principalement la structure de sol ci-dessus des plantes.(Kridet *et al.*, 2010).

9.2 Lutte chimique

Impliquant l'application régulière de composés de cuivre a été traditionnellement utilisé pour gérer le maladie (Teviotdale et Krueger *et al.*, 2010.), ce qui pose des risques environnementaux et l'amélioration de la probabilité de la résistance aux pathogènes. En ce qui concerne la lutte biologique de la maladie de noeud d'olive, les bactéries antagonistes contre Psv ont été isolés, comprenant *un pv . syringae* produisant des bactériocines. souche *ciccaronei* (Lavermicocca *et al.*, 2002), une collection de fluorescence les souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère des plantes différentes, y compris une *Pseudomonas putida* isolat produisant un antibiotique de la salicylatecontaining (RokniZadehet *et al.*, 2008) ,et plusieurs *P. fluorescens* et *Bacillus subtilis* souches isolées à partir de noeuds d'oliviers et de feuilles d'arbres Psv infected (Krid *et al.*, 2010).

Chapitre 3

Matériel et méthodes

L'objectif de notre étude a été basé sur l'observation des symptômes de l'apparition de galles ou tumeurs sur les jeunes rameaux d'oliviers. Et la caractérisation et l'identification de l'agent causal de la maladie, par des différents tests biochimiques (KOH, test de gram et Hugh et Leifson, le test LOPAT et le test de pathogénicité).

Ces tests ont permis d'ajuster les caractéristiques des bactéries testées et assuré la conformité à leur pathogénicité.

1. Origine des souches bactériennes

Des jeunes tumeurs fraîches ont été prélevées à partir d'une parcelle d'olivier située dans la région d'Ain EL Ibel à Djelfa variété chemlel. Le prélèvement des échantillons a été effectué d'une manière subjective. Ils ont été ensuite placés dans des sacs en plastiques stériles et transportés directement au laboratoire et conservés à 4⁰ C.

2. Méthodes d'isolement

Premièrement nous avons désinfecté superficiellement les tumeurs pesant 1g dans de l'hypochlorite de sodium (1%) pendant 5 minutes puis nous les avons rincés 3 fois par l'eau distillée stérile. Ensuite nous avons broyé chaque tumeur dans un 9 ml d'eau distillée stérile. La suspension obtenue est agitée et laissée pendant 20 mn pour une bonne diffusion bactérienne. Après l'agitation nous avons réalisé des dilutions décimales de (10^{-1} à 10^{-5}).

Un volume 0,1 ml de chaque dilution est étalé sur une boîte pétri contenant le milieu semi sélectif KB (King *et al.*, 1954) et une autre boîte contenant le milieu LPGA en réalisant 3 répétition pour chaque dilution. L'ensemble des boîtes ont été incubé à l'étuve à 27⁰ C pendant 5 jours.

3. Dénombrement des bactéries

Après trois jours d'incubation nous avons calculé le nombre des bactéries viables sur les deux milieux utilisés milieux King.B et LPGA à l'aide de l'appareil compteur de colonies. Et pour déduire le taux des *Pseudomonas like bacteria* nous avons utilisé la formule suivante (Kelment *et al.*, 1990).

$$UFC = N \times 10^n \times 10(\text{cellule.ml}^{-1})$$

N = la moyenne entre le nombre de colonies dans les boîtes de la même dilution.

n = Facteur de dilution.

UFC = Unité formant colonies

4 -Sélection et purification des isolats

Après 3 jours d'incubation une sélection colonies a été fait sur les caractéristiques morphologique des *Pseudomonas* sur les deux milieux gélosé .Les colonies recherchées ont été prélevé et repiqué sur les boites pétri contenant le milieu king.B par épuisement en trois secteurs pour permette le développement des colonies individualisé.

5- Conservation des isolats bactériennes

La conservation des isolats bactériens purs a été effectuée en tube à essai contenant le milieu King.B incliné, à 4°C pour les utiliser ultérieurement.

6-Identifications des isolats

Ces tests permettent l'identification de caractères morphologiques et métaboliques, parmi lesquels : la forme, la structure des parois, la présence de flagelles, les voies d'utilisation du glucose (fermentative ou oxydative), le type respiratoire (aérobie stricte, anaérobie facultative...),selon le schéma de Shaad (2001)les test d'identification de genre est KOH ,test de gram et test hugh et leifson .

selon Elliot et al en 1966 Le test LOPAT selon Elliot et al en 1966 pour identifier l'espèce (levane,oxydas,pectinase ,arginie et lypersensibilité de tabac).

6-1 Test de Gram

6.1.1 Coloration de Gram

La coloration à été effectuée selon la méthode classique. c'est une technique de base en bactériologie, elle permet la classification des bactéries selon leur structure, elle est l'un des critères essentiels de la classification des bactéries (Schaadet *al.*,2001).plusieurs facteurs vont intervenir dans cette coloration: les différence de composition chimique de bactéries el la différence de perméabilité de la paroi bactérienne l'alcool.

Sur une lame portant le code de chaque isolat testé, avec une ans de platine nous avons prélevé et étalé une couche mince de la colonie bactérienne pure sur une goutte d'eau distillée stérile et sécher la lame a l'aire.

Nous avons ajouté le violet de gentiane et laisser agir une minute. Puis rincé par l'eau déminéralisée.

Nous avons Couvrit la lame avec lugol et laissé en contact pendant 30 secondes. et rincé soigneusement avec l'eau du robinet, puis nous avons incliné la lame et laissé tomber goutte à goutte l'éthanol pure jusqu'a ce qu'il s'écoule incolore à l'extrémité

inferieur de la lame .Nous avons arrêté la différenciation par un lavage abondant à l'eau du robinet ,en suite recoloré par la fuchsine et laissé agir pendant 30 secondes puis nous avons rincé à l'eau du robinet ,et séché la lame .En fin nous avons observé sous microscope optique.

6.1.2 Test KOH

Le test KOH est un essai secondaire rapide a été réalisé pour déterminé le type de Gram , Pour effectuer ce test en met deux goutte d'hydroxyde de potassium (KOH) a 3 % ont a été mis en contact la crème bactérienne de chaque isolat sur une lame en effectuant un mouvement circulaire par un anse de platine.

Après 30 secondes la solution de KOH devient visqueuse c'est la réaction positive, et la bactérie est un Gram négatif si la solution de KOH ne devient pas la visqueuse c'est une réaction négatif (schaad *et al.*, 2001).

6.2 Test Hugh et Leifson

Le test d'oxydation-fermentation est utilisé pour déterminer si les bactéries Gram-négatives métaboliser les hydrates de carbone par oxydation, par la fermentation, ou sont non sacchrolytic et donc aucune possibilité d'utiliser les hydrates de carbone dans les milieux. (Baron E *et al.*, 1990).

Dans deux tubes de milieu Hugh-leifson sont inoculés par piquûre centrale. L'un des deux tubes est recouvert d'une couche - de vaseline stérile de 2 cm d'épaisseur, l'autre par contre ne l'est pas. Les deux tubes sont mis à l'inoculation pendant 48h à 27C^O deux lectures sont effectuées pour ce test une à 24h et l'autre à 48h.

6.3.Test LOPAT

Les tests biochimiques appelés LOPAT ont été réalisés pour l'identification des bactéries : levan, oxydase, activité pectinolytique, présence de l'arginine déshydrolase et hypersensibilité sur feuilles de tabac.à été proposé par Elliot et al. En 1966 . Le test du pouvoir pathogène a été effectué sur des oliviers âgés d'une année .

6.3.1 Test levane

La production de levane est déterminée sur gélose nutritive riche en sucrose. elle Permet de vérifier la polymérisation de fructose en poly- fructose par la bactérie (schaad *et al.* ,2001).

Avec d'une anse de platine nous avons prélevé une colonie jeune (âgé de 24h) et nous l'avons ensemencé sur une chaque boite de pétri contenant le milieu levane par

épuisement en trois secteur pour donne des colonies isolée nous laissons les boites ensemencées sont mises en incubation à 27⁰ C pour 5 jours.

6.3.2 Arginine deshydrolase

Le test arginine deshydrolase nous permet de déterminer si la bactérie est capable de transformer l'arginine à l'aide de l'enzyme arginine deshydrolase ou non. Le complexe enzymatique capable de dégrader l'arginine en anaérobiose, agissant selon deux types de réaction envisageables. La première réaction est une transformation de l'arginine en citrulline et ammoniacque par son activité dihydrolase. La seconde est une décarboxylation de la citrulline en ornithine et ammoniacque (Hildebrand, 1988).

Dans un tube contient le milieu Arginine et à l'aide d'un anse de platine nous avons ensemencé chaque isolat à tester par piqure centrale et nous avons recouvertes milieu d'une couche de vaseline stérile .Les tubes sont ensuite incubés à 27°C pendant 24h à 48h .

Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration jaune indique c'est une réaction positive, si le milieu reste rose c'est une réaction négative.

6.3.3 Test de pectinase

Le test permet de mettre en évidence l'activité pectinolytique d'une bactérie c'est-à-dire sa capacité à dégrader la pectine présent dans le milieu de culture (Cooksey *et al.*, 1990).

Les tubercules de pomme de terre sont d'abord débarrassés de résidu de terre en les passant sous l'eau. puis en passant dans une solution éthanol à 70%, Ensuite, ils sont désinfectés avec hypochlorite de sodium. Après rinçage à l'eau distillée stérile, nous les avons tranchés les tubercules et déposés dans des boîtes de pétri contenant papier buvard stérile imbibé d'eau distillée stérile par la suite nous avons réalisé à l'aide d'un scalpel stérile un petit creux au centre des tranches. Nous avons déposé quelques gouttes de la suspension bactérienne ajustée à 10⁸ CFU dans le creux. Après 7 à 14 jours, la réaction est considérée positive par l'apparition de pourriture qui s'accompagne d'une forte odeur (Cooksey *et al.*, 1990). En l'absence de ces caractéristiques le test est considéré négatif.

6.3.4 Test oxydase

Le test oxydase basé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire en présence d'oxygène et de la phénylène-diamine-oxydase ou le cytochrome entrant dans divers couples d'oxydoréduction (Schaad *et al.*, 2001).

Sur une boîte de pétri stérile nous avons placé un disque d'oxydase et à l'aide d'une pipette plastique stérile effilée nous avons prélevé et étalée une colonie bactérienne jeune âgée de 24h sur le disque.

La réaction d'oxydase est obtenue après 3 secondes, une réaction positive s'exprime par une couleur en bleu violet ce qui indique qu'il y a eu oxydation du réactif phénylène-diamine, et l'absence de cette coloration indique une réaction négative (schaad *et al.*, 2001).

7. Test de pouvoir pathogène

Le test du pouvoir pathogène a été effectué sur des oliviers âgés d'une année. L'inoculation a été réalisée au niveau des tiges principales en introduisant d'une suspension bactérienne 10^8 CFU issue d'une culture âgée de *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* au niveau d'une 3 blessure pratiquée à l'aide d'un scalpel stérile.

L'incision par 3 répétitions pour chaque arbre est, ensuite, couverte par un papier aluminure. Les plants d'oliviers sont, ensuite, placés dans la salle à une température variant entre 25 et 30 °C.

Chapitre 4

Résultats et discussion

Le présent travail a été réalisé pour identifier l'agent causal de la tuberculose d'Olivier par les essais déterminants Lopat (production de lévane, oxydase, pectinolytique et arginine dihydrolase activité, hypersensibilité du tabac), dans le cas d'une demande de confirmation, un test du pouvoir pathogène sur jeune plante d'olivier. Nous avons réalisé dans une première étape des prospections sur terrain à la recherche d'une attaque possible par la tuberculose. Les prospections faites au niveau de cette région ont montré l'existence de symptômes typiques de cette maladie dans une oliveries parmi les oliveries qu'on a visité et le taux d'infection par la maladie était de 100%.

1. Dénombrement des bactéries

Le dénombrement se fait après 48 heures d'incubation des boîtes pétries, nous avons observé de tous les dilutions sur les deux milieux king,B et LPGA une formations des colonies bactériennes .

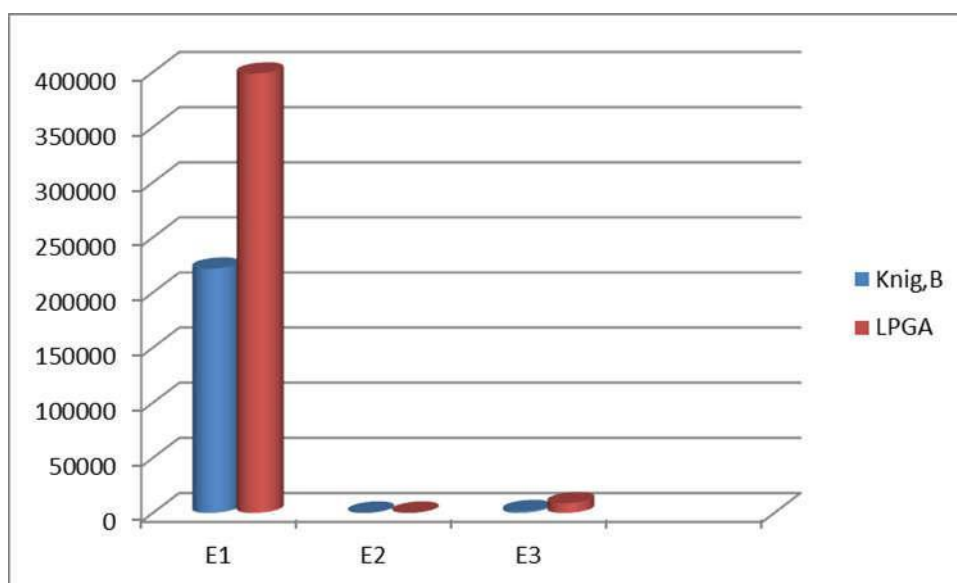


Fig 09 .Taux de *pseudomonas savastanoi* par rapport à la flore totale dans des tumeurs végétatives

Dans notre étude, nous sommes intéressées à le taux de *Pseudomonas* par rapport la flore bactérienne totale ,Dans le premier échantillon le taux de bactérie dans le milieu est KB (22.1660×10^4 cellule.ml⁻¹) soit 55.56 %. Par rapport à la flore bactérienne total.

Dans la deuxième échantillon le taux de bactérie dans le milieu est KB (25.33×10 cellule.ml⁻¹) 84.33 %.soit par rapport à la flore bactérienne total.

Dans le troisième échantillon le taux de bactérie dans le milieu est KB (17.33×10^2 cellule.mL⁻¹) 19.61 %. soit par rapport à la flore bactérienne total. la bactérie apparait une faible présence par rapport la flore total.

La technique d'isolement réalisée sur deux milieux king.B et LPGA .à partir des cultures nous avons gardé 29 isolats choisis, montrent les caractéristiques de *Pseudomonas savastanoi*.

Après la purification des isolats bactérienne sur le milieu de KB nous sommes basés sur les caractéristiques morphologiques de bactéries .les colonies de couleur crème forme circulaire, un diamètre de 1mm à 3mm, lisse, brillante nous avons réalisé les tests biochimiques et physiologiques voir le test de gram, test hugh et leifson , test LOPAT, et la galerie API 20 NE. Les résultats obtenus sont présentés comme suit :

2 . Coloration de Gram

coloration de Gram est une coloration différentielle : Elle permet de classer les bactéries en deux types, les bactéries à gram négatifs et les bactéries à gram positifs sur base de la perméabilité de leur paroi à l'Alcool Cette perméabilité dépend de la composition de la paroi bactérienne (épaisseur de la paroi liée à sa richesse en peptidoglycanes).

Après la coloration, on a passé à l'observation microscopique au (GX10) et (GX40) et (GX100), on a observé pour 25 isolats l'apparaissant sous forme des bacilles en couleur rose sauf 4 souches, qui montrent la bactérie à Gram négative.



Fig 10. résultats de coloration de gram



3. Test de KOH

le test de KOH est un caractère clé pour la différenciation entre les isolats de Gram - et de Gram+ la solution de KOH devient visqueuse en présence de bactéries à gram négatif la réaction est considérée positive si la viscosité est obtenue après 30s (schaad *et al.*, 2001), 26 isolats ont formé des fils visqueux, les bactéries sont à gram négatifs et n'ont pas formé pour 3 isolats et les bactéries sont à gram positifs .

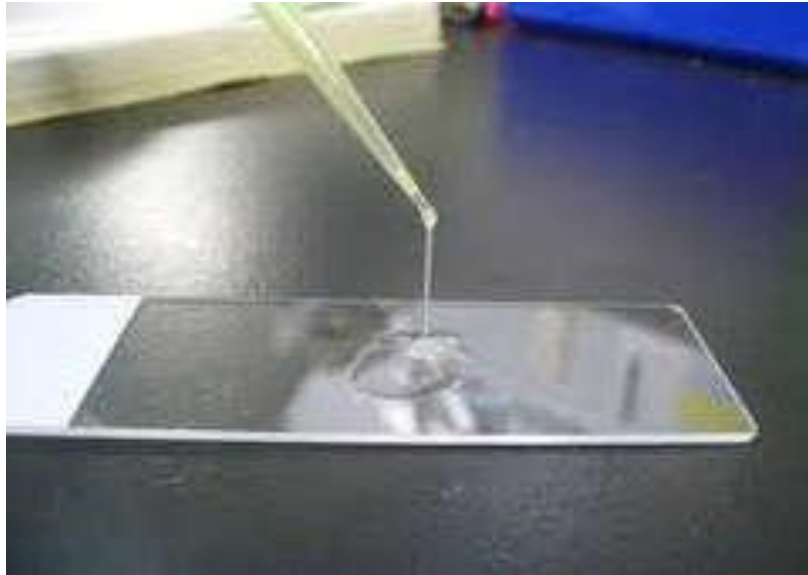


Fig 11 . résultat de test KOH

4. Test hugh et leifson

Le milieu de Hugh et Leifson contient un indicateur de pH, le bleu de bromothymol qui prend une couleur jaune en milieu acide.

Après 24h à 48 h d'incubation, nous avons remarqué un virage de couleur du vert au jaune pour 24 isolats pour les tubes qui ne contiennent pas de l'huile ceci dû à la dégradation de glucose par la bactéries ,par contre les 5 autres isolats nous avons observé le virage de couleur vert au jaune , dans les tubes qui contiennent l'huile.



Fig 12. résultats de test Hugh et Leifson

Tableau 03: Les résultats des tests KOH, coloration de Gram, la fluorescence, Hugh et Leifson

tests Isolets	Fluo. sur KB	Test KOH	Coloration de Gram	Test hugh et leifson			
				Après 24h		Après 48h	
				Sans l'huile	Avec l'huile	Sans l'huile	avec l'huile
Iso 1	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 2	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 3	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 4	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 5	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 6	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 7	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 8	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 9	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 10	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 11	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 12	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 13	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 1	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 14	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 15	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 21	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso21	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 23	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso24	B	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 25	B	-	G ⁻	+	+	+	+

Iso: isolat

Tableau03 (suite):Les résultats des tests KOH, coloration de Gram, la fluorescence, Hugh et Leifson

Les Tests Isolats	Fluorescence sur KB	Test KOH	Coloration de Gram	Test Hugh et Leifson			
				Après 24h		Après 48h	
				Sans l'huile	Avec l'huile	Sans l'huile	Avec l'huile
Iso 51	B	+	G ⁻	-	+	-	+
Iso52	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 53	B	-	G ⁺	+	+	+	+
Iso 54	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 55	F	+	G ⁻	+	-	+	-
Iso 56	B	+	G ⁺	-	+	-	+
Iso57	B	-	G ⁺	-	+	-	+
Iso58	F	+	G ⁻	+	-	+	-

5. Test LOPAT

5.1 Test d'Arginine déshydrolase

Après 48 h d'incubation, le milieu a demeuré rose pour tous l'isolat, ce résultat montre que le test Arginine est négatif.



Fig13. résultats de test Arginine déshydrolase

5.2 Test pectinase

Après 10 jours d'incubation nous n'avons pas observé de changement ou modification remarquable et aucun odeur renflé sur les tranches de la pomme de terre pour les 25 isolats, cela indique que les bactéries testé ne sont pas capable de dégradé la pectine (Guido M *et al.*, 2005) . Pour les 4 isolats la réaction est considérée positive par l'apparition de pourriture qui s'accompagne d'une forte odeur.



Fig14. résultat de test pectinase

5.3. Test d'oxydase

À cause de manque des disques nous avons testé uniquement 8 isolats et nous n'avons remarqué aucun changement ou modification de couleur sur le disque, dans ce cas le est négative.



Fig15. résultat de test oxydase

5.4 Test levane

Après 5 jours d'incubation des boîtes de pétrie nous avons lu les résultats obtenus, pour 24 isolats. Nous avons observé les colonies de la bactérie sur le milieu levane sont visqueuse entouré par une marge luisant dû à la dégradation du sucrose en levane par la bactérie (Guido *et al.*, 2005) (levane négative). mais pour les 5 isolats nous avons

observé l'apparition des colonies abondante bombée muqueuse brillante indique ce test positif.



Fig 16. aspect d'une crème bactérienne de *Pseudomonas savastanoi* sur milieu levane

Tableau 04 : les résultats du test LOPAT

Les tests Isolats	Test Levane	Test Oxydase	Test Pectinase	Test D'arginine deshydrolase	
	Après 5 jours			Après 24h	Après 48h
Iso 1	-	nd	-	-	-
Iso 2	-	nd	-	-	-
Iso 3	-	nd	-	-	-
Iso 4	-	-	-	-	-
Iso 5	-	Nd	-	-	-
Iso 6	-	-	-	-	-
Iso 7	-	nd	-	-	-
Iso 8	-	nd	-	-	-
Iso 9	-	-	-	-	-
Iso 10	-	-	-	-	-
Iso 11	-	nd	-	-	-
Iso 12	-	nd	-	-	-
Iso 13	-	-	-	-	-
Iso 1	-	Nd	-	-	-
Iso 14	-	-	-	-	-
Iso 15	-	-	-	-	-
Iso 21	-	Nd	-	-	-
Iso21	-	-	-	-	-
Iso 23	-	Nd	-	-	-
Iso24	+	nd	+	-	-
Iso 25	+	nd	+	-	-
Iso 51	-	nd	-	-	-
Iso52 .	-	nd	-	-	-
Iso 53	+	nd	+	-	-
Iso 54	-	nd	-	-	-
Iso 55	-	nd	-	-	-
Iso 56	+	nd	+	-	-
Iso57	+	nd	+	-	-
Iso58	-	nd	-	-	-

Iso: isolat, + : réaction positive, - : réaction négative, nd: non déterminé

6. Test de pouvoir pathogène

La confirmation de l'identification de *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* est obtenue par la vérification de pouvoir pathogène sur des jeunes plants d'olivier.

Après une semaine nous avons observé pour 16 isolats l'apparition de nécrose sur les jeunes plants qui montre le test est positif.

Lorsque le test de pouvoir pathogène est positif, l'identité des souches est confirmée étant *Pseudomonas savastanoi*.



Fig 17. le résultat de test pathogénicité

Discussion

Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi* (Psv) est l'agent causal de la tuberculose d'olivier, une des maladies les plus graves qui touchent les oliviers et un membre orthodoxe du complexe *Pseudomonas syringae*, qui englobe au moins 60 pathovars et plusieurs autres espèces de *Pseudomonas*. L'infection de l'olivier par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* aboutit à la formation d'excroissances (Tumeurs, galles ou noeuds) sur les tiges et les branches de la plante hôte et, parfois, sur les feuilles et les fruits. la tuberculose d'olivier est mondialement distribué et elle est considéré comme l'une des maladies les plus importantes de cette culture ligneuse (Gardan *et al.*, 1992; Sisto., 1999).

L'objectif de notre étude est l'isolement et l'identification de l'agent causal des tumeurs semblables à celle de la tuberculose d'olivier d'origine de la région de Ain EL bel de la wilaya de Djelfa. les isolats bactériens obtenus sont identifiés au moyen de différents tests et si nécessaire, cette identification est confirmée par vérification de leur pouvoir pathogène sur de jeunes plantules d'olivier.

La sélection a été basée sur l'observation à l'œil nu, nous avons choisi les isolats qui montrent les caractères morphologiques de *pseudomona ssavastanoi* sur les deux milieux King.B et LPGA, cette sélection nous a permis de retenir de 32 isolats bactériens. Après les purifications, nous avons réalisé les tests biochimiques et physiologiques permet d'identifier une bactérie en s'appuyant sur ces caractères biochimiques et connaître les principaux éléments de la physiologie bactérienne : croissance bactérienne, mode respiratoire, et application à l'identification bactérienne. Ainsi que la galerie API 20 NE.

Le milieu King.B est le milieu le plus utilisé pour la culture de *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*. le dénombrement des colonies fait après trois jours pour calculer le taux des bactéries qui se développent sur chacun des deux milieux LPGA et King.B montre que

Dans le premier échantillon le taux de bactérie dans le milieu est KB (22.1660×10^4 cellule.ml⁻¹) soit 55.56 %. Par rapport à la flore bactérienne total. Dans la deuxième échantillon le taux de bactérie dans le milieu est KB (25.33×10 cellule.ml⁻¹) 84.33 %.soit par rapport à la flore bactérienne total.

Dans le troisième échantillon le taux de bactérie dans le milieu est KB (17.33×10^2 cellule.ml⁻¹) 19.61 %. soit par rapport à la flore bactérienne total. la bactérie apparait une faible présence par rapport la flore total.

Le taux d'apparition dans le milieu King.B pour les'échantillons 1et 2 et 3 est faible par rapport à la flore bactériennes totale. D'après les résultats obtenus les tumeurs ne contiennent pas uniquement le *Pseudomonas savastanoi.pv savastanoi* c'est pour ça on a trouvé le taux des bactéries dans le milieu KB moins que dans le milieu LPGa. L'isolement du pathogène dépendra beaucoup plus de la sélectivité du milieu.

D'après la coloration de Gram 25 isolats sont bacille a gram négatif et les 4 bacilles isolats sont à gram positif .la coloration de gram est utilisé pour différencier les bactéries Gram positif et des bactéries Gram négatif, permet de classer les bactéries selon leur aptitude à fixer le cristal violet. Le colorant utilisé est le violet de gentiane qui colore l'intérieur des bactéries. Celles-ci sont ensuite décolorées à l'alcool. En raison de leur paroi de structure plus épaisse et de composition chimique particulière, les bactéries Gram+ gardent la coloration violette. Les bactéries Gram-, avec une paroi plus fine et plus perméable de réactif de décoloration, perdent la couleur violette. De manière à visualiser les bactéries Gram-, on recolore avec de la fuschine . Les bactéries Gram+ resteront violettes alors que les Gram- seront maintenant teintées en rose. Bien que le résultat de la coloration de Gram peut dépendre de l'état physiologique des bactéries (âge de la colonie, conditions de croissances...) la coloration de Gram reste cependant la technique de coloration de base la plus utilisé en bactériologie (schaad *et al.*, 2001).

la réaction de coloration de gram n'est pas toujours réellement représentatif de la structure réelle de la paroi cellulaire des organismes, certaines souches constamment coloration de gram négatif , même si elles ont une paroi cellulaire de type de gram positif, Le test KOH est confirmé le test de gram et permet la différenciation entre les isolats de Gram – et de Gram + , la solution de KOH devient visqueuse en présence des bactéries à gram négatifs la réaction est considérée positive si la viscosité est obtenue après 30s (schaad *et al.*, 2001). Dans notre travail, nous avons observé la formation d'un fil visqueux pour uniquement 25 isolats. Si le mélange devient visqueux dans les 30 secondes c'est la réaction positive, l'isolat bactérien est considéré comme Gram-négatif.

La réaction dépend de la lyse de la cellule gram-négative dans la solution alcaline diluée libérer l'ADN cellulaire pour transformer la suspension visqueuse. Cette

méthode a était efficace pour les micro-organismes alimentaires (Powers 1995), et pour *Bacillus spp* (Carlone *et al.*,1983 Gregersen, 1978).

Les résultats obtenus par le test Hugh et Leifson sont négatif pour 25 isolats ce sont des isolats aérobies strictes par contre les 4 isolats anaérobies strictes .Le but de ce test était de déterminer si l'isolats testé est un oxydant ou un fermenteur, sur la base de la production d'acide dans des conditions aérobie et anaérobie (Ahmed T, Kanwl R., 2004).

Le milieu de Hugh et Leifson contient le bleu de bromothymol qui prend une couleur jaunes lorsque le milieu est acide, ce milieu est précise le type de dégradation du glucide (glucose) qui libère des acides et éventuellement des gaz (schaad *et al.*, 2001).

La faible teneur en peptone et la forte concentration en glucose en présence et en absence d'oxygène, après utilisation de glucose il y'a la formation d'un acide, cette acidification du milieu fait virer l'indicateur coloré le bleu de bromothymol du quelle passe de vert au jaune a la partie supérieure de tube ouvert uniquement et aucun changement de couleur ou une réaction se produit dans le tube à huile couvert (schaad *et al.*, 2001).

après 24 heures, les isolats bactériennes pures ont été soumis à des tests de laboratoire comme des tests de caractérisation et d'identification , comme décrit par(Schaad1988). Les tests de laboratoire (Lopat) y compris: levan, oxydase, pectinase, arginine dihydrolase, réaction d'hypersensibilité sur des feuilles de tabac, et test pathogénicité à des plants d'oliviers ont été réalisées.

Les résultats obtenu pour le test levane sont négatifs pour 25 isolats et positif pour 4 isolats. Selon (Guido *et al.* ,2005) certaine souche de *Pseudomonas savastanoi* en formé des colonies visqueuse entouré par une marge luisante du à la dégradation du sucrose en levane par la bactérie sur levane cependant, la plupart des chercheurs rapportant qu'elle sont souvent des levane négatives ce qui concorde avec non résultats. Pour le test oxydase, 8 isolats uniquement ont été testé par manque des produits les résultats sont réaction négatifs.L'oxydase du cytochrome assure la fixation de l'oxygène moléculaire sur le cytochrome réduit. Cette enzyme oxydase catalyse l'oxydation du cytochrome c. Les organismes qui contiennent du cytochrome c dans le cadre de leur chaîne respiratoire sont oxydase-positif.

Les organismes dépourvus du cytochrome c dans le cadre de leur chaîne respiratoire n'oxydent pas le réactif, laissant incolore dans les limites du test, et sont oxydase négative (Monthly B., 2016).

les bactéries oxydase positive, possèdent le cytochrome d'oxydase ou indophénol oxydase . Ces deux derniers catalysent le transport d'électrons à partir des composés donneurs (NADH) en accepteurs d'électrons (généralement de l'oxygène). Le réactif *d'essai*, la N, N, N', N'-tétraméthyl-p-phénylènediamine agit comme un accepteur d'électrons artificiel pour l'oxydase d'enzyme. Le réactif oxydé formé la couleur bleu violacée composé indophénol (Schaad *et al.*, 2001).

Le système de cytochrome est généralement présent dans les organismes aérobies qui sont capables d'utiliser l'oxygène comme récepteur d'hydrogène final.

Concernant les résultats obtenu pour le test pectinase les 25 isolats sont négatives et 4 isolats est positives .ce test permet de déterminer la présence ou l'absence de l'enzyme pectinase .

pour notre test indiquent que la bactérie ne dégrade pas la pectine. la réaction positif détermine la présence de pectinase chez la bactérie, ce qui indique la dégradation des pectines (zone pourrie) et la sécrétion d'une odeur (cooksy *et al.*, 1990).

Tous les résultats de test arginine sont montré d'une réaction négative, le milieu reste en couleur rose ce qui indique qu'il n'y' aucun transformation de l'arginine par l'enzyme arginine déshydrolase . Cette enzyme libère l'ammoniaque à partir de l'arginine, la dégradation de l'arginine et la libération de l'ammoniac empêchent le virage au jaune (mundt., 1986; hadef, 2012).

La confirmation de l'identification de *Pseudomonas savastanoi* est obtenue par la vérification du pouvoir pathogène sur des jeunes plantules d'oliviers. D'après les résultats obtenus pour ce test 16 isolats ont donné des tumeurs après un mois donc le test est positif et confirme le postulat de koc et les bactéries sont pathogènes.

Conclusion

CONCLUSION

Conclusion

La tuberculose d'olivier dû à la bactérie phytopathogène *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* est une maladie très répandue dans les pays du bassin méditerranéen. La bactérie peut vivre de façon épiphytique sur les feuilles et se multiplier en attendant une opportunité (ouvertures naturelles ou blessure). L'invasion des tissus commence avec l'entrée dans les espaces intercellulaires du parenchyme cortical, conduisant à la dégradation des parois cellulaires et la formation de cavités dans lesquelles la bactérie se multiplie et s'étend ensuite aux cellules du parenchyme d'autres tissus en causant une hyperplasie au passage. Ce mode d'invasion bactérienne des tissus de l'hôte a également été signalé dans d'autres hôtes de *P. savastanoi* comme laurier (Temsah *et al.*, 2007).

La bactérie finit par sortir des tumeurs sous forme d'exsudat et se propage par différents vecteurs dont l'eau et la mouche de l'olivier. Des foyers de tuberculose de l'olivier ont été signalés dans des exploitations agricoles implantées dans la commune Ain Elbel de la wilaya, de Djelfa. Pour cela notre travail était basé sur les identifications de la bactérie causale de cette maladie selon des tumeurs prélevés et envoyés au laboratoire de microbiologie à l'université de Laghouat. Les résultats obtenus après les isolements à partir des échantillons des tumeurs sur les deux milieux de culture King.B et LAPGA montrent le taux des bactéries *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* dans King.B faibles par rapport à la flore totale.

Parmi les 29 isolats analysés par les tests biochimiques, test LOPAT et par le test de pathogénie, 25 isolats présentent les caractéristiques suivantes: bacilles gram négatif, aérobies strictes, fluorescentes sur king B, oxydase-négatif 8 isolats uniquement testés, levan-négatif, activité pectinolytique négative, Arginine déshydrolase- négatif. Ces isolats, inoculés sur les plants d'oliviers, développent des tumeurs identiques à celles observées pour la première fois.

La tuberculose des oliviers est causée par une bactérie que l'agriculteur ne peut déceler qu'après la plantation d'oliviers où des symptômes apparaissent sous formes des tumeurs aux troncs, aux branches et aux feuilles, cette maladie n'a pas de traitement pour l'éliminer, estimant que la seule solution dans le cas d'un arbre infecté est de le déraciner, le brûler afin d'éviter la propagation et de stériliser les outils de taille des oliviers en cas de doute. Pour la prévention de cette maladie, il faut une vaste campagne

CONCLUSION

de sensibilisation auprès des agriculteurs activant dans la filière oléicole en leur prodiguant des conseils et des orientations afin d'éviter la propagation de la maladie. Et également les agriculteurs à planter des arbres sains acquis auprès de pépinières dont les produits ont été soumis à un contrôle ou de présenter des échantillons aux services agricoles pour des tests gratuits, en cas de doute.

Les résultats obtenus dans ce travail sont des résultats préliminaires, nous avons jugé utile de fixer certains points comme objectifs à développer:

- Etudier les caractères génétiques et faire une caractérisation moléculaire complète d'ADNet ARN
- Etudier les interactions entre les *Pseudomonas savastanoi* et les *Pantoea agglomerans*.
- La détection de *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* de la tuberculose d'olivier et d'autres hôtes par Polymersae Chain Reaction (PCR)
- La sélection des souches et l'amélioration du transfert de gènes pour génétiques manipulation de *Pseudomonas savastanoi* isolé de la tuberculose d'olivier

Références bibliographiques

Référence bibliographique

Référence bibliographique :

Agrios G.N. (ed.). 2005. Plant Pathology, (5th edition), Elsevier AcademicPress, ISBN 0-12044565-4, San Diego, CA

Ahmed T , Kanwal R, 2004. Caractéristiques biochimiques de l' acide lactique la production de bactéries et de la préparation du fromage au lait de chameau en utilisant culture de départ, Pak. Vétérinaire. J. 24

Argenson.C.,Regis,S.,Jourdain,J.M.,Vaysse.1999.L'olivier .Edit.Centre technique interprofessionnel des fruits et légume(Ctifl).paris.204p.

Baron, E. et S. Finegold, 1990. Bailey et microbiologie diagnostique de Scott, 8e éd. La MosbyCompany, St. Louis, MO.

Benjama,A.2003.Méthode d'évaluation rapide de degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose causé par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, en verge au Maroc.Fruit.58:213-219 DOI:10.1051/fruit:20033009

Bouktir, O. 2003. Contribution à l'étude de l'entomofaune dans trois oliveraies à Tizi-Ouzou et étude de quelques aspects bioécologiques de la mouche de l'olive *Bactrocera oleae* Gmelin et Rossi, 1788 (Diptera – Tephritidae). Thèse magister, I.N.A. El- Harrach, 191p

Braithwaite M, Alexander BJR, Young JM, Ganey S. 1999 Olive knot disease in New Zealand. In 'Proceedings of the 12th Australasian Plant Pathology Society Conference'. Canberra, 1999. (Ed. L. Morin) p. 157. (Arawang Communication Group: Canberra)

Bradbury JF. 1986. Guide to plant pathogenic bacteria.' (Wallingford, UK: CAB International)

Breton C ,Medial F , Pinatel C , Berville A ., 2006 . De l'olivier à L'oleastre:Origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen .Cahiers agricultures vol.15,n°4, juillet Août 2006.

Carlone, GM et al. 1983. Méthodes de Distinguer Gram positif des bactéries Gram-négatives. J Clin Microbiol. 16 (6): 1157-1159.

C.O.I; 2003:Statistique pour les olives de table et l'huile d'olive

Comai, L., & Kosuge, T. 1980. Involvement of plasmid deoxyribonucleic acid in indoleacetic acid synthesis in *Pseudomonas savastanoi*. Journal of Bacteriology, Vol. 143, No. 2, (August 1980), pp. 950-957, ISSN 0021-9193

Référence bibliographique

- Cooksey, D.A. 1990. Genetics of bactericideresistance in plant pathogenicbacteria. AnnualReview of Phytopathology, Vol. 28, pp. 201-219, ISSN 0066-4286
- Chevalier Auguste. L'origine de l'Olivier cultivé et ses variations. In: Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 28 année, bulletin n°303-304, Janvier-février 1948. pp. 1-25
- Ercolani GL. 1978. Pseudomonas savastanoi and otherbacteriacolonizing the surface of olive leaves in the field. Journal of General Microbiology 109, 245–257.
- Filière de l'olivier au Liban. Analyse sectorielle préparé par Mlle. May Mezher et Paul Gasparini dans le cadre des activités de la FAO (Octobre 2002).
- Gardan L, Bollet C, Abu Ghorrah M, Grimont F, Grimont PAD. 1992 DNA relatednessamong the pathovarstrains of Pseudomonas syringaesubsp. savastanoiJanse (1982) and proposal of Pseudomonas savastanoisp. nov. International Journal of SystematicBacteriology 42, 606–612.
- Guido Marchi,carlo viti, Luciana Giovannetti and Guisepe Surico,spread of levan positive population of pesufomonassavastanoipv,savastanoi th causal agent of olive Knot ,in central Italy, European Journal of plant pathology (2005).112:101-112.
- Hadef S .,2012.Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales .Mémoire d'obtention du diplôme de magister .université KasdiMerbah-Ourgla.
- Hildebrand, DC, MN Schroth et DC Sands. 1988. Guide de laboratoire pour l'identification des plantes Bactérie pathogène. Pp. 60-81. Dans: Pseudomonas (NW Schaad, ed). le américain Phytopathologie Society, St. Paul, Minnesota
- Himour.2008.mémoirede magistaire en biologie et physiologie végétale .Etude compré de régénération de plante par voie véghtative.55p.
- Ingrid et Shofelder .P.1988 RNA and proteinmetabolismduringadventitiousroot formation in stem cutting of phaseolus aureus .physiol.plant, 64,53_59.
- ITAF, 2006. Les principales maladies de l'olivier et moyens de lutte. Institut Technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne, Algérie Aich, rapport de mission. I.T.A.F. 5p
- King E .1954.two simple media for the démonstration of pyocianin and .44^{eme} édition :J clin Med .p 301-307.
- Klement Z. 1990. Methods in phltobacteriology .Ed printed :Hungary.568p.
- Krid, S., Rhouma, A., Mogou, I., Quesada, J.M., Nesme, X., &Gargouri, A. 2010. Pseudomonas savastanoiendophyticbacteria in olive treeknots and antagonisticpotential

Référence bibliographique

of strains of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. Journal of Plant Pathology, Vol. 92, No. 2, (July 2010), pp. 335-341, ISSN: 1125-4653

Lacobellis ,N.S.2001.olivekont In Encyclopaedia of plant .vol.2.(Eds OC Malloy,TD Murray).p731-715.

Iacobellis, N.S, Sisto, A, Surico, G, Evidente, A, Di Maio, E. 1994. Pathogenicity of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* mutants defective in phytohormone production. Journal of Phytopathology, Vol. 140, No. 3, (March 1994), pp. 238-248, ISSN 1439-0434

Lavermicocca, P., Lonigro, S.L., Valerio, F., Evidente, A., & Visconti, A. 2002. Reduction of olive knotdisease by a bacteriocinfrom *Pseudomonas syringae*pv. *ciccaronei*. Applied and EnvironmentalMicrobiology, Vol. 68, No. 3, (March 2002), pp. 1403-1407, ISSN 0099-2240

LoussertR et Brousse G. 1978 .L'olivier .Ed . Maisoneuvre et Larose , Paris .447p .

Maillard R. 1975. L'olivier .Maison des agriculteurs .Ed .Invuflec . Paris, 147 P

Matallah boutiba, A .1998.La verticilliose de l'olivier :approchecyto-hisologique et ultractructurale des interactions olivier -verticilliumdahliaeKleb .Memoire de magister.université d'oran,105 p.

Mattallah-Boutiba ,Fortas,Z.,Henni,D.,Sedra,M.H.,Geiger,J.P.1996.La verticilliose de l'olivier dans l'ouest algerien:histopathologie des interactions hote - parasite.4^{eme} congrés de la société Francais de phytopathologie ,19-22 Nov,Nice ,france ,p E13.

Matas, I.M., Pérez-Martínez, I., Quesada, J.M., Rodríguez-Herva, J.J., Penyalver, R., Ramos, C. 2000.. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* contains two *iaaL* paralogs, one of which exhibits a variable number of a trinucleotide (TAC) tandem repeat. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 75, No. 4, (February 2009), pp. 10301035, ISSN 0099-2240

Magie, A.R. 1963. Physiological factors involved in tumor production by the oleander knot pathogen, *Pseudomonas savastanoi*. Thesis (Ph. D.). University of California, Davis, USA

Metzidatis I T, 1997. Proceedings of the third international symposium on Olive growing: Volume 1. Acta Horticulture no 474, Crete, Chania&Greece

Mundt j.o.,1986. Lacticacidstreptococci. In :Bergey'sManualofSystematicBateriology. vol 2.pp.1065-1066.

Référence bibliographique

- NaamaFrah, HadjerBaala et Aziza Loucif. 2015. Étude de l'arthropodofaune dans un verger d'olivier à Sefiane (w. Batna est – algérien). Lebanese Science Journal, vol16,n⁰ 2 : p37-45.
- Nilsen ,J.W.,Dickson,J.S.and Crousse,J.D.1990.Use of a bacteriocinproduced by *pediococcusacidilactici* to inhibit *Listeria monocytogenes*associatedxithfrechmeat App Environ Microbiol.56:2142-2145.
- Nora Benrachou, Cherifa Henchiri et Zeineddine Djeghaba.2010.Caractérisation de trois huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien .Centre universitaire, El Tarf , Algérie, N° 22.
- Powers, EM. 1995. L'efficacité de la technique de Ryu KOH pour la détermination de tache pas rapidement Réactions Gram de l'alimentation-Borne et les bactéries d'origine hydrique et Levures. ApplMicrobiol Environ. 61 (10): 3756-3758.
- Retounard J; Yves P.2003.Grffez tous les arbres et arbustes .EditRustica/FLER.paris.303p.
- Rodríguez-Moreno, L., Jiménez, A.J., & Ramos, C. 2009. Endopathogenic lifestyle of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive knots. Microbial Biotechnology, Vol. 2, No. 4, (July 2009), pp. 476-488, ISSN 1751-7907
- Rokni-Zadeh, H., Khavazi, K., Asgharzadeh, A., Hosseini-Mazinani, M., De Mot, R. 2008. Biocontrol of *Pseudomonas savastanoi*, causative agent of olive knotdisease: antagonisticpotential of non-pathogenicrhizosphereisolates of fluorescent *Pseudomonas*. Communications in Agricultural and AppliedBiological Sciences, Vol. 73, No. 1, pp. 199-203, ISSN 1379 1176
- Rugini E .,R. Biasi M. Rosario.1998. Olive (*Olea europaea* var *sativa*) transformation .In Proceedingseminar on Molecularbiology of woody plants .Editors jain ; S.M.,S.C . Minocha.,,245_279.
- Sanhaji,A.1999.problématique de latuberculose de l'olivier dans le plateau de saiss journée nationale sur la protection de l'olivier ,Marrakech le 27mai 1999
- Sisto A, Iacobellis NS .1999 Olive knotdisease: pathogenic and epidemiological aspects and defencestrategies. Olivo and Olio. 2, 32–38 [English abstract] Smith E, Rorer J.B. 1904. The olive tubercule. Science N.Y., 19, pp. 416-417
- Smith E.F. (1920). Pathogenicity of the olive knot organism on hosts related to the olive. Phytopathology, Vol. 12, pp. 271-278, ISSN 0031-949X
- Smith E.F. 1908. Recentstudies on the olive-tubercleorganism. U.S. Dept. Agr. Bur. Plant Indust. Bull. No. 131 Part, IV

Référence bibliographique

- Surico G .1977 Histological observations on tumours of olive knot. *PhytopathologiaMediterranea* 16, 109–125 [English abstract].
- Teviotdale BL .1994 Diseases of olive, In ‘Olive production manual’. (Eds L Ferguson, GS Sibbett, GC Martin) p. 107. University of California Publication No. 3353
- Teviotdale, B.L., &Krueger, W.H. 2004. Effects of timing of copper sprays, defoliation, rainfall, and inoculum concentration on incidence of olive knotdisease. *Plant Disease*, Vol. 88, No. 2, (February 2004), pp. 131-135, ISSN 0191-2917
- Tjamos E.C, Graniti, A., Smith I.M., Lamberti F. 1993. Conference on olive diseases. *Bulletin OEPP / EPPO Bulletin*, Vol. 23, No. 3, (September 1993), pp. 365-550, ISSN 1365-2338
- Varvaro, L., Surico, G. 1978. Comportamento di diverse cultivars di olivo *Olea europaea* L. alla inoculazione artificiale con *Pseudomonas savastanoi* E. F. Smith Stevens. *Phytopathologia Mediterranea*, Vol. 17, No. 3, (December 1978), pp. 174-178, ISSN 0031-9465
- Wilson, E.E. 1965. Pathological histogenesis in oleander tumors induced by *Pseudomonas savastanoi*. *Phytopathology*, Vol. 55, pp. 1244-1249, ISSN 0031-949X
- Zerkhefaoui, K. 1998. Étude de la dynamique de la population de la mouche d’olive *Bactroceraoleae* Gmelin (Diptera – Tephritidae) et estimation des dégâts dans la région de Beni doual. Tizi-Ouzou. Mem. mag.,ins. El- Harrach, Alger, 133p

Annexe

ANNEXE : Composition des milieux de culture**1. Milieu LPGA**

Extrait de levure	5g
Bacteropeptone	5g
Glucose	10g
Agar bacteriologique	18g
Eau distiller	1L

2. Milieu King B

Peptone	20g
Glycérol	15ml
K ₂ HPO ₄	1.5g
MgSO ₂	1.5g
Agar	20g
Eau distiller	1L

3. Milieu King A :

Peptone	20g
Glycérol	10ml
Chlorure de magnésium	1.4g
Sulfate de potassium	10g
Agar (gélose)	13.6g
Eau distiller	1L

4. Milieu Levane

Extrait de levure	20g
Bactopeptone	15 g
NaCl	1.5g
Saccharose	1.5g
Agar bactériologique	15g
Eau distiller	1L

5. Milieu Hugh et Leifson :

Bactopeptone	2g
NaCl	5g
K ₂ HPO ₄	3g
Bleu de bromothymol 1%	3ml
Glucose	10g
Agar	3g
Eau distiller	1L

6. Milieu Arginine :

Bactopeptone	1g
NaCL	5g
K ₂ HPO ₄	0.3g
Agar bactériologique	3g
Rouge de phénol 1%	10ml
Arginine	10g
Eau distiller	1L

