

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

والبحث العلمي وزارة التعليم العالي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar TELIDJI - Laghouat -

جامعة عمار ثليجي - الاغواط -

Faculté des Sciences

كلية العلوم

Département des Sciences Agronomiques

قسم العلوم الفلاحية



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences agronomiques

Spécialité : Amélioration des plantes

Caractérisation biochimique de quelques isolats bactériens issus
d'excroissances chez l'olivier

Présenté par : HADJ AMAR Rym

Devant le jury :

Président.	AMARA Y.	Grade (MAA-LAGHOUAT).
Encadrant.	Melle ZAZA M.	Grade (MAA-LAGHOUAT).
Examinatrice.	Mme TOUATI S.	Grade (M C B -LAGHOUAT).

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

En premier lieu je remercie ALLAH le toute puissant de m'avoir donné la volante, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Je remercie chaleureusement mon encadreur Melle M. ZAZA pour son aide précieuse et ses conseils éclairés dans la direction de mon travail dans sa meilleure forme, ainsi que pour sa grande disponibilité et son immense gentillesse. Je lui dois une immense reconnaissance et un très grand respect.

Mes remerciements vont particulièrement aux membres du jury Monsieur AMARA Y. et Madame TOUATI S. qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir examiner de l'enrichir par leurs propositions.

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

Finalement, je remercie toutes les personnes ayant participés de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

HADJ AMAR RYM



Dédicaces

On dédie ce travail :

A mon très cher père Mebarek les mots me manquent pour exprimer toute ma fierté qui n'égale que l'accomplissement total de ton devoir de père. La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le Bonheur de mon existence qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, Je souhaite que Dieu me le garde. Je t'aime Papa.

A ma très chère mère Djamaa la personne la plus chère à mon cœur qui m'a supportée vaillamment pas à pas tout au long de ma vie, Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ; je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale je t'aime Mama.

Mes très chers frères Rachid et Toufik, Je ne peux exprimer à tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous

A mes très chères sœurs Fatiha, Radia, Nadjet, En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mes adorables petits anges nièces et neveux: Ayham, Miral, Raef, Que Dieu fasse que vous suiviez mes traces et que vous fassiez plus que moi. Je vous aime.

A mon très cher Tante Messaouda merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Mes chères copines Feryel, nacira, Souad Marwa, Hind, Hasna, Halima Merci pour les bons moments qu'on a passés ensemble.

Toutes les personnes qui j'aime et toute A tous mes camarades de promotion de master 2 à tous ce qui m'ont apporté d'aide de près ou de loin.

HADJ AMAR Rym

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Généralités sur l'arbre de l'olivier

1. Historique de l'olivier.....	4
2. Morphologie d'olivier.....	4
2.1. Description botanique et caractéristiques morphologiques.....	5
3. Les formes de l'olivier.....	7
3.1. L'olivier sauvage.....	7
3.2. L'olivier domestique.....	7
4. Cycle de développement de l'olivier	8
5. Systématique de l'olivier.....	9
6. Les exigences écologiques de la culture d'olivier.....	10
7. L'olivier dans le monde	11
8. La production d'olivier en Algérie.....	13
9. Maladies et ravageurs de l'olivier.....	15
a. Crown gall.....	18
b. <i>Xylella fastidiosa</i>	19
c. La tuberculose d'olivier.....	19

Chapitre II : La tuberculose de l'olivier

II.1. Généralités.....	20
II.2. Les symptômes	20
II.3. Classification de <i>Pseudomonas savastanoi</i>	21
II.4. Cycle biologique.....	22
a. Phase épiphyte.....	22

b. Phase endophyte.....	23
II.5. Processus d'infection	24
II.6. L'importance économique de l'olivier	24
II.7. Impact de la maladie.....	25
II.8. Gestion de la maladie	25
II.8.1. Lutte prophylaxie.....	26
II.8.2. Lutte chimique.....	26
II.8.3. Lutte biologique.....	27

Chapitre III: Matériel et méthodes

1. prospections sur le terrain.....	29
2. Prélèvement des échantillons.....	29
3. Technique d'isolement	29
4. Dénombrement des colonies	30
5. Technique de sélection.....	31
6. Purification des isolats bactériens	31
7. Identification de l'agent pathogène.....	31
8. Test de Gram.....	32
8.1. Coloration de Gram.....	32
8.2. Test KOH.....	33
9. Test de Fluorescence.....	33
10. Test Hugh et Leifson.....	33
11. Tests biochimiques	34
11.2. Test Production de Levane sucrase.....	34
11.3. Test oxydase.....	34
11.4 .Test pectinase.....	34
11.4 Test Arginine di hydrolase.....	35
11.5. Test d'hypersensibilité sur tabac.....	35

12. Test pathogénicité	35
------------------------------	----

Chapitre IV:Résultats et discussion

I. Résultats	38
1. dénombrement bactérien.....	38
2. La description morphologique des isolats.....	38
3. Test de Gram.....	39
3.1. Coloration de Gram.....	39
3.2. Test KOH.....	39
4. Test de fluorescence.....	40
5. Test Hugh et Leifson.....	41
6. Les tests biochimiques	43
6.1. Test Production de Levane sucrase.....	43
6.2. Test oxydase.....	44
6.3. Test Pectinase.....	44
6.4. Test d'arginine di hydrolase.....	45
6.5. Test d'hypersensibilité sur tabac	45
7. Test pathogenicité.....	46
II. Discussion	48
Conclusion	54
Références	57
Annexes	67

Liste des abréviations

FAO: Food and Agriculture Organisation of the United Nations.

COI : Conseil Oléicole International.

DSA : Direction des Services Agricoles.

g : gramme.

ml : millilitre.

ha : hectare.

n° : numéro.

% : pourcentage.

µm: Micromètre.

q/ha : Quintaux par Hectare.

C° : degré Celsius.

mn : minute.

cm : centimètre.

t : tonne.

h : heure.

m : mètre.

UE : Union Européenne

Qtx : Quintaux.

ADH : Arginine di hydrolase

CTO : Centre Technique de l'Olivier

DSA : Direction de service Agricole

ONFA : Observatoire National des Filières Agricoles et Agroalimentaires

LOPAT : tests Levane-NAS, Oxydase, Pectinase, Agrinine dihydrolase, Hypersensibilité du Tabac.

UV : Ultra Violet.

Liste des figures

Figure 01 : Schéma morphologique d'un arbre d'olivier	5
Figure 2 : Développement du système racinaire de l'olivier.....	5
Figure 03 : Feuilles d'olivier.....	6
Figure 04 : fleurs d'olivier.....	6
Figure 05 : fruit d'olivier.....	7
Figure 06 : Cycle de développement de l'olivier.....	9
Figure 07 : Carte du verger oléicole mondial.....	13
Figure 08 : Les variétés d'olivier dans le monde.....	13
Figure 09 : Psylle adulte (<i>Euphylluraolivina</i>).....	16
Figure 10 : Cochenille noire <i>Saissetia</i>	16
Figure 11 : Chenille mineuse de Teigne de l'olivier.....	17
Figure 12 : <i>Dacus oleae</i> adulte sur un olivier.....	17
Figure 13 : Des tumeurs de tuberculose d'olivier sur fruit et feuille.....	20
Figure 14 : Tuberculose de l'olivier.....	21
Figure 15 : <i>Pseudomonas savastanoi</i> vue en microscopie électronique à balayage.....	22
Figure 16 : Cycle de la maladie tuberculose d'olivier causée par <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	23
Figure 17 : Schéma représentatif du Protocole expérimentale d'isolement à partir des tumeurs d'olivier.....	30
Figure 18 : Schéma de détermination des différents genres bactériens.....	32
Figure 19 : Taux des <i>Pseudomonas savastanoi</i> like bacteria dans des tumeurs d'oliviercomptifier sur le milieu king B.....	38
Figure 20 : Morphologie de colonie de <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	39
Figure 21 : Observation microscopique d'un frottis d'un isolat coloré par la technique de Gram.....	39
Figure 22 : Résultat de test KOH.....	40

Figure 23 : Résultat de test de fluorescence sur King.....	40
Figure 24 : Résultat test de Hugh et Leifson	41
Figure 25 : Résultat de Test Levane	43
Figure 26 : Résultat de test oxydase.....	44
Figure 27 : Résultat test de pectinase	44
Figure 28 : Les résultats du test Arginine di hydrolase.....	45
Figure 29 : Résultat de Test de pathogénicité.....	47

Liste des tableaux

Tableau 01 : les principales variétés d'olivier cultivées dans les pays méditerranéens.....	13
Tableau 02 : les principales variétés cultivées en Algérie.....	14
Tableau 03 : réduction du rendement suite au nombre de tumeurs par branche d'olivier.....	25
Tableau 04 : Les Résultats des tests KOH, coloration de Gram, Hugh et Leifson et la fluorescence sur king B. d'identifications des isolats	42
Tableaux 05 : Résultat des tests biochimique LOPA.....	46
Tableau 06 : Résultat de test pathogenicité.....	47

Résumé :

La tuberculose d'olivier est une maladie bactérienne affectant l'olivier (*Olea europea* L), causée par la bactérie *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. C'est l'une des maladies les plus redoutables chez l'olivier. L'objectif de ce travail est l'isolement et l'identification d'isolats bactériens issus de tumeurs d'olivier provenant des deux wilayas Djelfa et Msila. L'isolement a été effectué sur le milieu king B et pour l'identification des isolats, une série de tests phénotypiques et biochimiques a été menée. Le dénombrement des bactéries montre que le taux des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria était plus élevé dans l'échantillon E1 et E2 par rapport au troisième échantillon E1. Après l'isolement et purification des isolats, nous avons sélectionné 46 isolats selon ses caractères phénotypiques, nous avons fait la détermination du genre bactérien par la coloration de Gram, le test KOH, la fluorescence sur king B et le test Hugh et Leifson. Pour la détermination de l'espèce, nous avons effectué le test LOPAT. Ce test montre que 14 isolats testés sont des levures négatives, oxydase négative, ne dégradent pas la pectine et ne possèdent pas l'enzyme arginine dihydrolase. Le test de pathogénicité confirme le pouvoir pathogène de quatre isolats testés.

Les mots clés : La tuberculose de l'olivier, Test, tumeurs, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, *Olea europea* L.

الملخص

سل الزيتون هو مرض بكتيري يصيب أشجار الزيتون (*Olea europea* L) تسببه بكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. بحيث يعتبر احد اهم الامراض الاكثر خطورة لدى شجرة الزيتون . الهدف من هذا العمل هو عزل وتحديد هوية العزلات البكتيرية المستخرجة من اورام الزيتون، التي جلبت من ولايتي الجلفة و مسيلة عزل البكتيريا المسببة للمرض تم باستعمال الوسط الغذائي King B و من اجل تحديد هوية هذه العزلات البكتيرية مجموعة من الاختبارات المبنية على الخصائص المظهرية و البيوكيميائية استعملت .

احصاء البكتيريا في الوسط الغذائي B King يشير الى ان نسبة *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* like bacterie كانت اكبر في العينة E1 و E2 مقارنة بالعينة E1.

بعد عزل وتنقية العزلات ، اخترنا ستة واربعين عزلة وفقاً لخصائصها المظهرية وحددنا الجنس البكتيري عن طريق تلوين الجرام واختبار KOH واختبار البيوضوني في الوسط الحيوي King B واختبار Hugh و Leifson. من اجل تحديد سلالة البكتيريا ، استعملنا اختبار LOPAT. اختبار LOPAT يشير الى ان ستة واربعين عزلة : levane negative ، oxydase négative ، وليس لها القدرة على تحطيم البكتين و لا تمتلك انزيم arginine dehydrolase . يؤكد اختبار القدرة الامراضية قدرة اربع عزلات بكتيرية على احداث المرض.

الكلمات المفتاحية: سل الزيتون ، الأورام ، *Olea europea* L., *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

Abstract

Olive knot is a bacterial disease affecting the olive (*Olea europea* L) caused by the bacteria *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. It is one of the most dreadful diseases in the olive tree. The objective of this work is the isolation and identification of bacterial isolates from olive tree tumors preventing from the two wilayas Djelfa and Msila. Isolation was carried out on king B medium and for the identification of isolats, a series of phenotypic and biochemical testes were carried out . The count of the bacteria shows that the level of *Pseudomonas savastanoi* like bacteria was higher in the sample E1 and E2 compared to the third sample E1. After isolation and purification of the isolates, we selected 46 isolates according to their phenotypic characteristics, we determined the bacterial genus by Gram staining, KOH test, fluorescence on king B and Hugh and Leifson test. For the determination of the species, we performed the LOPAT test. This test shows that 30 isolates tested are levane negative, oxidase negative, do not degrade pectin and do not have arginine dihydrolase enzyme, The pathogenicity test confirms the pathogenicity of four isolates tested.

Keywords: Olive knot, Tumors, Test, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *Olea europea* L.

Introduction

Introduction

L'olivier (*Olea europea*. L) est l'une des espèces cultivées les plus anciennes, elle occupe une place importante dans l'arboriculture fruitière méditerranéenne. Elle compte de nombreuses variétés ayant une diversité phénotypique et génétique importante sous-estimée jusqu'à présent, ils occupent toute fois une part très importante dans l'économie agricole de certains pays méditerranéens. L'oléiculture est l'un des principaux secteurs stratégiques de l'économie en général et de l'agriculture en particulier. Parmi les objectifs que vise l'oléiculture ; l'autonomie alimentaire, l'équilibre de la balance de paiement et la réduction du chômage (Pluinage, 2013).

L'olivier connaît une extension progressive à travers le monde avec une superficie de 13 millions d'hectares qui contiennent environ de 930 millions de pieds d'arbres, dont 840 sont localisés en méditerranée, ce qui représente plus de 90% de l'ensemble du verger oléicole mondial. Des variétés et des pratiques adaptées à une culture intensive à productivité élevée, commencent à prendre place. La production mondiale des huiles d'olives connaît des grandes variations et se situe en moyenne aux environs de deux millions de tonnes (Stéphane, 2016).

En Algérie, l'olivier est l'espèce fruitière la plus dominante du verger arboricole algérien. Il occupe une superficie de 226 337 ha (33 % de la surface arboricole). C'est l'un des pays du bassin méditerranéen avec des conditions climatiques idéales pour la culture de l'olivier. Il est à préciser aussi que même pendant la période coloniale l'oléiculture était une filière totalement algérienne (MADR, 2011).

L'olivier peut être attaqué par de nombreux ravageurs, essentiellement des insectes, parmi les plus redoutés dans les oliviers, nous avons la mouche de l'olive *Bactrocera oleae*, qui menace essentiellement les récoltes, mais ne met pas en danger la santé de l'arbre (Athar, 2005), d'autres insectes telles que le thrips de l'olivier dont l'adulte et la larve piquent les feuilles, parfois aussi les olives, afin de se nourrir de sève. Les feuilles piquées sont déformées, et les olives atteintes se nécrosent (Gregorio *et al.*, 2020).

L'olivier est un arbre également sujet à plusieurs maladies fongiques et bactériennes et même virales, parmi les maladies d'origine fongique qui peuvent toucher l'olivier, nous avons surtout, la verticilliose (Benchaabane, 1990; Ben Zina, 2017) et la tavelure (Paul *et al.*, 2007; Lopez *et al.*, 2003), d'autres maladies bactériennes peuvent également avoir un impact économique telles que le Crown gall (Bouzar, 1991; Benjamaa, 1991) et la tuberculose d'olivier (Antonio, 2010; Jose *et al.*, 2006 et Merlo, 2021).

La tuberculose d'olivier est une maladie bactérienne causée par *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi*, elle induit la formation des tumeurs typiques très caractéristiques sur les organes végétatifs de l'arbre d'olivier comme les rameaux et les branches (Ramos *et al.*, 2012). En générale, les arbres touchés montrent une vigueur et une croissance réduite (Alba *et al.*, 2021).

Pseudomonas savastanoi est une bactérie endophyte, phytopathogène causant des excroissances, dénommées galles ou des tumeurs, principalement sur les parties aériennes des plantes, leur incidence sur les feuilles et les fruits étant rare (Benjama, 2003; Young, 2004). Résidente commune dans la phyllosphère d'olive (Ercolani, 1971), elle a la capacité de passer d'un mode de vie épiphytique à un mode de vie parasite à chaque fois que des blessures de nature diverse lui permettent d'envahir les tissus de l'hôte (Ciccarone, 1950).

La tuberculose de l'olivier est une maladie bactérienne qui prend de plus en plus d'ampleur ainsi la lutte contre cette dernière devient une priorité. Sachant que les traitements chimiques deviennent pénibles à compte tenu des résultats incohérents sur le terrain, ces traitements peuvent également avoir une faible efficacité et même voir la phytotoxicité pour certains tissus, ces éléments ne favorisent pas le développement de la lutte chimique ce qui a orienté les recherches vers une lutte alternative par l'utilisation de molécules naturelles extraites de plantes qui révèlent une grande efficacité contre certains microorganismes phytopathogènes (Kumari *et al.*, 2014).

En Algérie, la maladie a été détectée depuis la période coloniale. En effet, chaque année des foyers de tuberculose sont signalés dans des exploitations agricoles implantées dans plusieurs wilayas. En 2012, plus de 5.000 oliverais ont été touchés par la tuberculose à Tébessa, et en (2013) environ 16% des oliveries à Oran et 45% à Ain-Temouchent ont été infectées. Jusqu'à présent, et en absence de statistique officielle, les régions atteintes par l'infection pourraient être beaucoup plus vaste. En 2016, la maladie a été signalée dans des exploitations agricoles d'oléiculture implantées dans plusieurs communes de la wilaya de Bordj Bou-Arréridj (Bouarissa, 2016).

Dans la présente étude, des symptômes semblables à celles de la tuberculose le l'olivier ont été observées dans deux oliveries une dans la wilaya de Djelfa et l'autre à Msila et ce, dans le cadre de prospections effectuée dans la région. Dans l'objectif de savoir les causalités de ces

Introductio

tumeurs, nous nous sommes proposées de faire un échantillonnage à partir des oliveries infectés et l'identification présomptive de l'éventuel agent causal de ces tumeurs et ce, par la réalisation de tests phénotypiques, des tests biochimiques et de pathogénicité nos isolats.

Le plan de notre travail est divisé en deux parties: Une première partie bibliographique qui porte sur des généralités de l'olivier et la maladie de tuberculose de l'olivier et une deuxième partie pratique qui porte sur trois volets:

- Isolement de l'agent causal de la maladie à partir de tumeurs prélevées des arbres infectés puis,
- Identification des isolats obtenus en se basant sur des caractères morphologiques et des tests biochimiques ensuite,
- La capacité de ces isolats à provoquer des tumeurs a été vérifiée par un test de pathogénicité.

Chapitre I : Généralités sur l'arbre de l'olivier

1. Historique de l'olivier

Il existe deux théories se rapportant aux premiers cultivateurs de l'olivier: certains mentionnent la Phénicie, d'autres la Crète où des amphores datant de 3500 avant J.-C. ont été découvertes. L'huile d'olive y faisait l'objet d'un commerce important. Dans la Grèce antique, les oliviers étaient quasi vénérés, et des lois les protégeaient; aucun bois d'olivier ne pouvait être vendu. Ce commerce était très contrôlé, car l'huile était fortement liée au pouvoir économique et religieux (Polese, 2007).

L'extension de la culture des oliviers à l'âge de bronze améliora l'équilibre diététique des Grecs et facilita leurs éclairages. L'olivier était devenu un élément fondamental de la civilisation grecque. Au VII^{ème} et VIII^{ème} siècle avant J.C. Les grecs fondent des vergers d'olivier sur tout le bassin méditerranéen: en Egypte, en Italie, en Espagne, en Tunisie, en Algérie, et au Maroc (Liphshitz *et al*, 1991; Terral, 2000). A l'arrivée des Romains, la culture d'olivier existait déjà. Cependant ces derniers ont permis l'extension de cette culture c'est le cas de la foule mosaïque trouvée en Tunisie et en Algérie (Saad, 2009).

En Algérie, les paysans s'y consacraient avec art durant plusieurs siècles (Alloum, 1974). Au sein du Tassili les hommes du néolithique ont archivé l'histoire de l'olivier sous forme de rupestres sur les roches qui remonte de 5000 à 2500 ans avant J.C, illustrant des hommes, portant des rameaux d'olives comme sorte de couronnes (Perret et Robert, 1935).

L'oléiculture constitue l'une des activités économiques essentielles de notre population étant donné que le commerce d'huile d'olive entre l'Algérie et Rome était intense durant l'époque romaine, dès lors l'histoire de l'olivier se confond avec l'histoire de l'Algérie et les différentes invasions ont eu un impact certain sur la répartition géographique de l'olivier dont nous avons hérité à l'indépendance du pays (Mendil et Sebai, 2006).

2. Morphologie d'olivier

L'olivier est un arbre de 3 à 10 mètres de haut à des branches tortueuses au nombreux rameaux arrondis enchevêtrés les uns dans les autres, les tiges portent des feuilles opposées, entières, ovales allongées, portées par un court pétiole, persistantes, enroulées sur les bords, fleurit entre Mai et Juillet. Donnant des fruits drupes ovoïdes à noyau dur dont le mésocarpe peut renfermer plus de 30 % de lipides. Ils sont utilisés par l'industrie agroalimentaire (Pangol, 1975).

L'olivier est cultivé essentiellement pour son fruit, consommé ou confit ou sous forme d'huile, mais cet arbre est aussi médicinal par ses feuilles. S'adapte bien à des conditions d'environnement extrêmes telles que la sécheresse et la chaleur. Bien qu'il exige un sol léger et aéré pour un bon développement, l'olivier tolère un large éventail de types de sols différents et résiste à des faibles températures (Kasraoui, 2016).

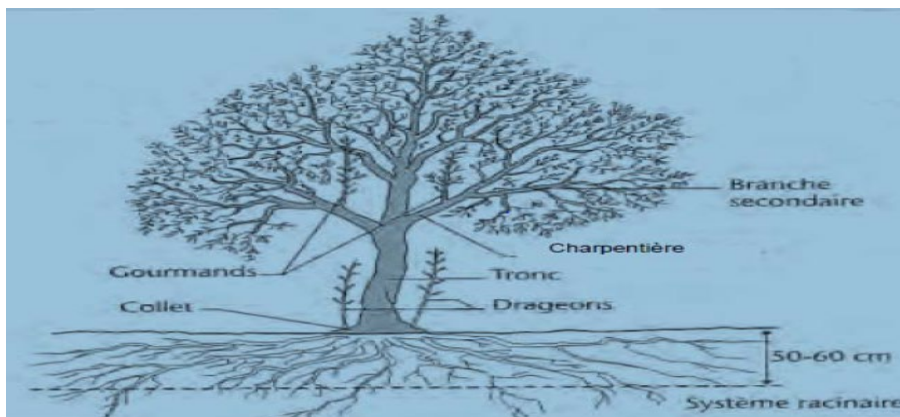


Figure 01 : Schéma morphologique d'un arbre d'olivier (Argenson, 1999).

2.1. Description botanique et caractéristiques morphologiques

2.1.1. Racines

Le système racinaire de l'olivier est à développement latéral, permet à l'arbre de résister en sols pauvres et secs grâce à sa régulation métabolique, peu profond d'environ 1,25 à 1,80m, cependant les racines qui dépassent les premiers mètres sont celles qui alimentent l'arbre en eau en cas de forte sécheresse. Il faut noter que l'olivier peut s'adapter à tous types de sols sauf lourds (argileux), compacts ou humides (Afidalò, 2019). Pendant son développement latéral, le système racinaire est pivotant s'il est issu de plants de semis et fasciculé s'il est obtenu par bouturage.

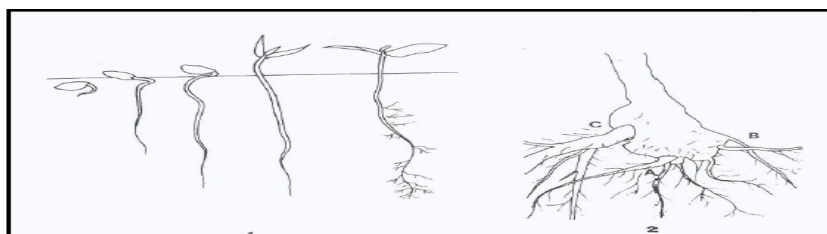


Figure 2 : Développement du système racinaire de l'olivier (Loussert et Brousse, 1978).

1 : germination du noyau d'olivier

2 : évolution du système racinaire d'un olivier de semis

A : système racinaire à la plantation

B : système racinaire secondaire

C : nouvelle racine émise à partir des excroissances du collet (Loussert et Brousse, 1978).

2.1.2. Feuilles

Persistantes, opposées, coriaces, ovales oblongues, à entières et un peu enroulés, portées par un court pétiole ; elles sont vert grisâtres, à vert sombre dessous blanchâtres et à une seule nervure dessous. Très souvent, elles contiennent des matières grasses, des cires, des chlorophylles, des acides (gallique et malique), des gommés et des fibres végétales (Amouretti, 1985).



Figure 03: Feuilles d'olivier (Anne, 2013).

2.1.3. Les fleurs

Les fleurs sont petites, ovales, blanches et odorantes, ce sont des fleurs tétramères disposées en grappes (en moyenne de 10 à 40) dressées à l'aisselle des feuilles (Figure 04) (Fabbri et Benelli, 2000). L'olivier n'est pas mellifère, la fécondation ne dépend pas des insectes mais des vents et des courants d'air qui permette au pollen d'être échangé entre les fleurs. Seulement 5% des fleurs donneront des fruits (Diaz *et al.*, 2006).



Figure 04 : Fleurs d'olivier (Chanchan, 2010).

2.1.4. Fruit

Le fruit est une drupe à mésocarpe charnu, riche en lipide, de diamètre compris entre 1 et 3cm (Argenson *et al.*, 1999). L'endocarpe ou noyau est dur, généralement fusiforme portant une série sillons longitudinaux. Il renferme une graine à albumen : l'amandon (Loussert et Brousse,

1978). La couleur de l'épiderme et les formes du mésocarpe et de l'endocarpe sont des caractères variétaux. A maturation, l'épicarpe passe de la couleur vert tendre (olive verte), à la couleur violette ou rouge (olive tournante) et enfin à la couleur noirâtre (olive noire) (Loussert et Brousse, 1978).



Figure 05 : fruit d'olivier (Breton et Bervillé, 2012).

3. Les formes de l'olivier

3.1. L'olivier sauvage

L'olivier sauvage ou oléastre, est un arbre d'une incroyable longévité qui peut dépasser les 1000 ans grâce à sa forte résistance aux conditions indésirables de sécheresse, froid, stress hydrique, sol pauvre ou autres (Chiappetta et Muzzalupo, 2012).

Connu sous deux formes différentes "l'oléastre vrai" qui est purement naturel et "l'oléastre féral" qui est une forme cultivée mais retournée à l'état sauvage (Besnard *et al.*, 2000). Il se caractérise par ses nombreux rameaux épineux à branches quadrangulaires et à feuilles plutôt petites. L'oléastre produit des olives de petite taille et par conséquent un faible rendement d'huile d'olive (Pagnol, 1996). Son importance réside dans son bois, réputé pour être immortel, résistant et antibactérien, utilisé dans toutes sortes de fabrications (Maillard, 1995).

3.2. L'olivier domestique

Il est constitué par un grand nombre de variétés améliorées, ayant une diversité phénotypique importante et qui donnent une teneur en huile assez variable selon la variété considérée. Estimé actuellement à plus de 2000 variétés d'oliviers recensées dans le monde. Selon la destination des fruits de cet arbre, elles ont été classées en variétés à olive de table ou variétés à olive à huile ou variétés dites à deux fins (Loussert *et al.*, 1978).

4. Cycle de développement de l'olivier

Au cours de son cycle annuel de développement, l'olivier passe par les phases suivantes (Walidet *al*, 2003) :

- Induction, initiation et différenciation florale : durant Janvier et Février ;
- Croissance et développement des inflorescences à l'aisselle des feuilles : mois de Mars ;
- Floraison durant le mois d'Avril ;
- Fécondation et nouaison des fruits : fin Avril début Mai ;
- Grossissement des fruits : durant Juin-Juillet et Aout ;
- Véraison : au cours du mois de Septembre ;
- Maturation : le fruit atteint son calibre final en Octobre et s'enrichisse en huile ;
- Récolte des fruits : mi-Novembre à Janvier.

La période la plus intense du cycle annuel de l'olivier se déroule de Mars à Juin. Au cours de cette phase, les oliviers ont besoin d'une quantité importante de l'eau et de nutriments (Erraki *et al.*, 2005).

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, c'est 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 rendements deviennent aléatoires (Loumou et Giourga, 2003).

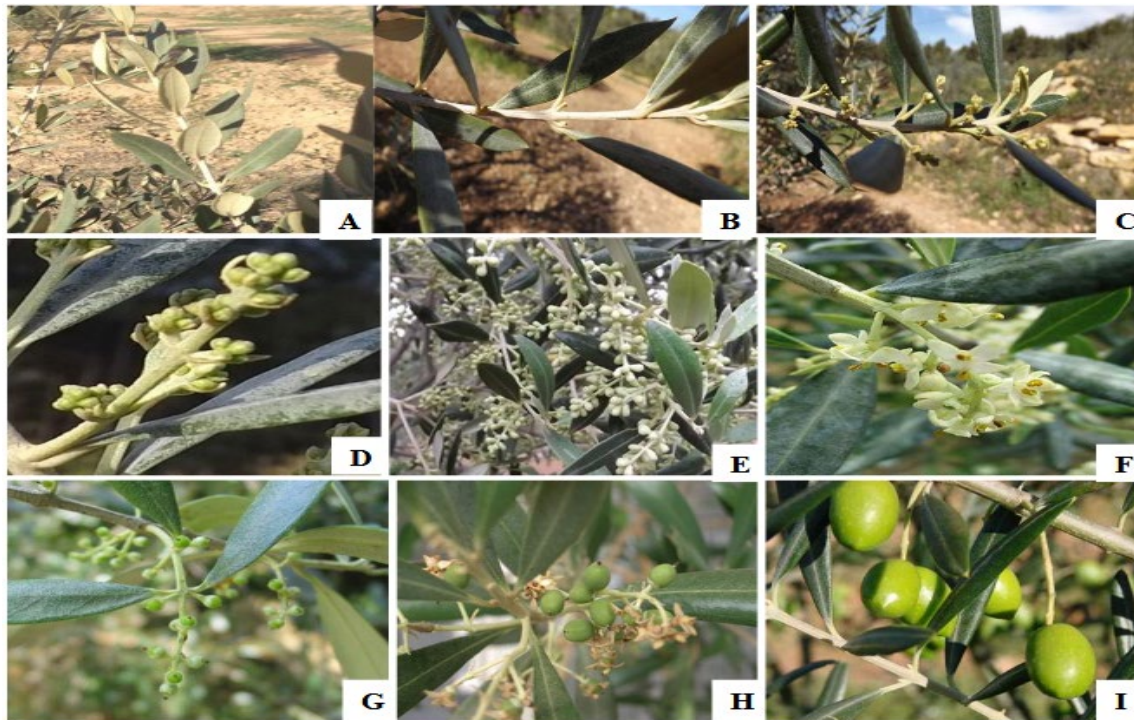


Figure 06 : Cycle de développement de l'olivier (Colbrant et Fabre, 2011).

A: Stade hivernal; **B:** Réveil végétatif; **C:** Formation des grappes florales; **D:** Gonflement des boutons floraux; **E:** Différenciation des corolles; **F:** Floraison; **G:** Chute des pétales et nouaison; **H:** Grossissement du fruit; **I:** Maturation du fruit (Olive verte).

5. Systématique de l'olivier

L'olivier (*Olea europaea*) est un arbre fruitier qui produit des fruits délicieux, caractéristiques du paysage méditerranéen appartient à la famille des Oléacées, caractérisée par des fleurs hermaphrodites régulières, à pétales soudées, à deux étamines, à deux ovules par loge. Ce sont des plantes ligneuses à feuilles opposées et à fruits charnus (Flahault, 1986; Breton et Bervillé, 2012). La classification botanique de l'olivier, selon Ghedira (2008) est la suivante:

Règne: *Plantae*

Sous-règne: *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe: *Asteridae*

Ordre : *Scrophulariales*

Famille : *Oléacées*

Genre : *Olea*

Espèce: *Olea europaea*

L'espèce *Oléa europaea* a longtemps été subdivisée en deux sous-espèces, *Oléa europaea* var. *europaea* pour l'olivier domestique, et *Oléa europaea* var. *sylvestris* pour l'oléastre, ou olivier sauvage. La famille des oléacées comporte environ 30 genres et 600 espèces. Les variétés cultivées se composent souvent de spécimens se ressemblant d'un point de vue morphologiques, mais aux caractères génétiques différents (Guido *et al.*, 2005).

6. Les exigences écologiques de la culture d'olivier

6.1. Le Climat

En Algérie, il se développe convenablement partout, à l'exception de la zone côtière. Les conditions climatiques exercent une grande influence sur le développement et sur son mode d'expression (Hackett et Hartmann, 1967). L'olivier est cultivé en Afrique du nord jusqu'à 750m d'altitude, au delà de cette altitude, les rendements diminuent et les arbres souffrent de la neige et du froid en hiver. Cependant, il convient de signaler que la sous espèce *O. europea* Laperrini, peut se cultiver jusqu'à 900m dans l'Atlas saharien (Loussert et Brousse, 1978).

6.2. La pluviométrie

L'olivier évolue sous des précipitations supérieures à 400 mm par an. Cet arbre peut se contenter d'une pluviométrie très basse jusqu'à 200 mm par an. Pour une bonne rentabilité, l'olivier exige une pluviométrie bien supérieure (350-450 mm) (Loussert et Brousse, 1978). L'olivier peut souffrir sensiblement de la sécheresse entre le 15 juillet et le 30 septembre. Cela peut conduire à des chutes de fruits importantes que seule l'irrigation peut éviter. Avant cette période, l'olivier est capable d'utiliser avec profit la moindre humidité, celle de l'hiver est suffisante pour assurer sa fécondation et une végétation normale au moins jusqu'au 15 juillet. Une seule pluie courant le mois de septembre, fait repartir très rapidement la végétation et favorise le grossissement et la maturation des fruits (Laumonier, 1960).

6.3. L'hygrométrie

L'olivier redoute des taux d'humidité atmosphérique élevés, ce qui empêche sa culture dans les zones du littoral. Certaines variétés comme la Hammra cultivée dans le golfe de Jijel serait assez tolérante à l'excès d'humidité dans la mesure où elle n'est pas excessive (> de 60%) ni constante (Loussert et Brousse, 1978).

6.4. La température

L'olivier est un arbre des pays à climat méditerranéen où les températures varient entre 16 et 22°C (moyenne annuelle des températures). Il aime la lumière et la chaleur, supporte très bien les fortes températures, même en atmosphère sèche. De même, il craint le froid, les températures basses peuvent être dangereuses particulièrement au moment de la floraison (Hannachi *et al.*,

2007). Il est aussi apte à bien supporter les températures élevées de l'été si son alimentation hydrique est satisfaisante.

6.5. L'insolation

L'olivier exige une lumière abondante pour pousser et fructifier normalement, ce qui explique que seuls les rameaux externes de la frondaison fleurissent et fructifient (Loussert et Brousse, 1978).

6.6. Le sol

L'olivier ne présente pas d'exigences particulières concernant la qualité physico-chimique des sols. Or, le seul facteur qui peut influencer son développement est la profondeur (Loussert et Brousse, 1978). Il se développe dans les sols marginaux, ingrats, argileux ou légers. Les sols légers permettent à l'olivier de se défendre plus facilement contre la sécheresse que les sols comportant une teneur élevée en argile.

Il peut également supporter des terrains calcaires allant jusqu'à pH 8 (Gargouri *et al.*, 2006). En revanche, il redoute les terrains humides. Enfin, l'olivier est considéré comme une espèce modérément tolérante au sel (Maas et Hoffman, 1977; Civantos, 1994).

7. L'olivier dans le monde

7.1. La production mondiale d'oliviers

L'olivier est présent sur six continents : Europe, Amérique du nord, Amérique du sud, Afrique, Asie, Océanie. Toutefois, c'est dans le pourtour méditerranéen que l'on retrouve plus de 90 % des oliviers. Le verger oléicole mondial croît de 1 à 2 % par an depuis 10 ans. Il est aujourd'hui estimé à 11 380 081 hectares. Les plus belles progressions en 15 ans : Maroc 590 000 à 998 000 ha, Algérie 210 000 à 432 000 ha, Amériques 85 000 à 170 000 ha, Chine 25 000 à 86 000 ha, Tunisie 1 620 000 à 1 855 000 ha, Australie 21 000 à 35 000 ha (Afidol, 2018).

Le principal producteur d'huile d'olive est l'Union Européenne qui représente plus de 70 % de la production mondiale d'huile d'olive. Dans l'Union Européenne, seuls 7 pays produisent de l'huile d'olive : l'Espagne, l'Italie, la Grèce, le Portugal, la France, Chypre et la Slovénie. Parmi les pays producteurs importants (produisant plus de 20 000 tonnes d'huile d'olive par an), on peut citer la Tunisie, la Turquie, la Syrie, le Maroc, l'Algérie, l'Argentine, la Jordanie (Afidol, 2018).



Figure 07 : Carte du verger oléicole mondial (Afidol, 2018).

7.2. Les variétés d'olivier dans le monde

Il y a actuellement plus de 2000 variétés d'olivier recensées dans le monde et chaque pays privilégie certains cultivars (Breton, 2006). Les principales variétés cultivées dans le monde figurent dans le tableau suivant:

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

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

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

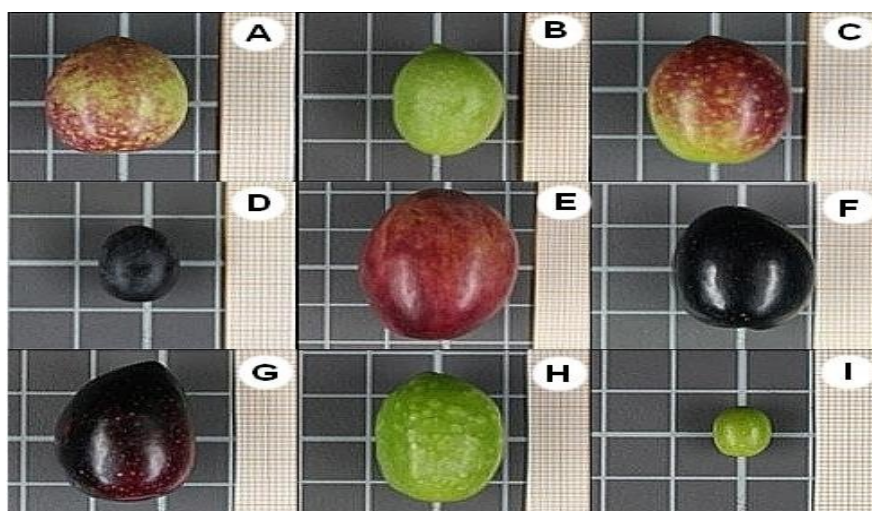


Figure 08 : Les variétés d'olivier dans le monde (Jean, 2020).

Olives des variétés échantillonnées : Hamrani (A), Bouchouk (B), Zeitoun (C), Assemblal (D), Meslal (E), Menara (F), Haouzia (G), Kortbi (H), Oléastre .

8. La production de olivier en Algérie

L'oléiculture en Algérie connaît actuellement une grande expansion avec un accroissement important de la superficie qui est passée de 263 000 ha en 2007 à environ 471 000 ha en 2016, de ce fait, elle constitue la première richesse arboricole, avec 35 millions d'arbres, couvrant environ 38,7 % de la surface arboricole, et approximativement 4 % de la superficie agricole. La production oléicole en Algérie n'a pas suivi l'augmentation des surfaces cultivées puisqu'elle a même baissé entre 1996 (50000 tonnes) et 2006 (35000 tonnes), avant de se stabiliser autour de 471 00 tonnes en 2016 (ONFA, 2016).

8.1. Les variétés locales d'olivier les plus cultivées en Algérie

L'oléiculture algérienne est caractérisée par une large gamme de variétés, les variétés cultivées en Algérie sont représentés essentiellement par des variétés à huile, et un degré moindre, des variétés de table (Loussert *et al*, 1978; Mendil *et al*, 2007). Le tableau ci-dessous montre les principales variétés d'olivier cultivées sur le territoire national (Tableau 02).

Tableau 02 : les principales variétés cultivées en Algérie (Mendil et Sebai, 2006).

Variétés	Origine et diffusion	Caractéristiques
Azzeradj Syn. Aradj	Petit kabylie (oued soummam), occupe 10% de la surface oléicole nationale.	Arbre rustique et résistant à la sécheresse; fruit de poids élevé et de forme allongée utilisée pour la production d'huile et d'olive de table, rendement en huile de

		24% à 28%.
Blanquette de Guelma	Originaires de Guelma, assez répandue dans le Nord-est Constantinois, Skikda et Guelma.	Sa rigueur est moyenne, résistante 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 %.
Chemlal Syn. Achemlal	Occupe 40% des vergers oléicoles nationales, « présente surtout en Kabylie » et s'étend des monts Zekkar à l'ouest aux Bibans à l'est.	Variété rustique, et tardive, le fruit et de poids faible et de forme allongée, destiné à la production d'huile, le rendement d'huile de 18% à 22%.
Limli	Originaires de Sidi-Aïche (Bejaïa), occupe 8% du verger oléicole national, localisée sur les versants montagneux de la base vallée de Soummam jusqu'au littoral.	Variété précoce, peu tolérante au froid, résistante à la sécheresse, le fruit et de poids moyen et de forme sphérique, utilisée pour la production d'huile et olive de table, rendement de 16% à 20%.
Sigoise Syn. olive de Tlemcen ou olive de Tell	Elle est dominante depuis Oued Rhou jusqu'à Tlemcen	Variété rustique, le fruit et 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%.
Rougette de Mitidja Syn. Pas de synonymes connus	Plaine Mitidja	Variété rustique : le fruit est moyen et allongé, utilisé pour la production d'huile, rendement de 18 à 20%.
Grosse de Hamma, Oued Ethour	Hamma (Constantine)	Variété précoce, rustique, résistante au froid et à la sécheresse, fruit de poids très élevé et de forme allongée, double aptitude : huile et olive de table, le rendement de 16 à

		20 %.
Hamra, Rougette ou Rousette.	Origine 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 18 à 22 %.
Bouriche, olive d'El-Harrouch.	El-Harrouch, Skikda.	arbre rustique, résistante au froid et à la sécheresse, poids faible de fruits et de forme allongée, production d'huile est de 18 à 22 %.

Syn : synonyme

9. Maladies et ravageurs de l'olivier

L'olivier est menacé par l'attaque de plusieurs maladies et ravageurs dont les dégâts peuvent avoir des répercussions importantes sur le rendement de l'arbre d'olivier.

9.1. Les principaux ravageurs de l'olivier

L'olivier peut souffrir des déprédations d'un groupe d'insectes dont certains sont très nuisibles et fréquents, d'autres moins fréquents:

a. Le psylle de l'olivier (*Euphyllura olivina*)

Euphyllura olivina est un ravageur fréquent et spécifique de l'olivier dans tous les pays méditerranéens. Ses dégâts se manifestent essentiellement au printemps et sont causés par les larves les plus âgées qui entravent la fécondation des grappes florales en absorbant avidement la sève des organes attaqués. Des groupements massifs de larves se forment alors sur les inflorescences, autour des fleurs non encore épanouies. Ils implantent leur rostre dans les boutons floraux ou leur pédoncule et font avorter les fleurs (Hmimina, 2009).



Figure 09 : Psylle adulte (*Euphyllura olivina*) (Hodkinson, 1993).

b. Cochenille noire de l'olivier (*Saissetia oleae*)

C'est un insecte qui suce la sève du laurier-rose, de l'olivier et du lentisque. Elle fixées sur les feuilles et les tiges, les cochenilles noires, en suçant inlassablement la sève, épuisent rapidement les plants. Les dégâts ne s'en tiennent pas là : elles secrètent un liquide sucré nommé « miellat » qui favorise la formation ou le développement de petits champignons (*Fumago uagans*) dont l'invasion constitue la maladie connue sous le nom de Fumagine. Les arbres envahis par la cochenille noire se reconnaissent de loin, car ils sont couverts du champignon ; bois et feuillage sont noircis comme par la fumée ou la suie, et l'enduit qui le recouvre asphyxie en quelque sorte la plante qui périclité et devient stérile (Poutiers, 1925 ; Mechelany et Daccache, 1998).



Figure 10 : Cochenille noire *Saissetia oleae* (Alford, 2013).

c. La teigne de l'olivier

La Teigne de l'olivier, de la famille des *Yponomeutidés*, effectue trois générations annuelles, les trois générations occasionnent des dégâts sur feuilles et pousses, sur pièces florales et sur fruits. La consommation des organes floraux par les jeunes chenilles rend toute fécondation impossible. Dans des conditions particulièrement humides, la destruction de la floraison peut être quasi-totale. On n'estime que la teigne provoque 30 à 40% des pertes d'olive (Argenson et al., 1999).



Figure 11 : **A** :Chenille mineuse de Teigne de l'olivier. **B**: Adulte de teigne de l'olivier (Bruno et Hervé, 2012).

d. La Mouche de l'olive (*Dacus oleae*)

La mouche de l'olive est actuellement le ravageur le plus dommageable en oléiculture car ses attaques affectent très notablement la qualité des olives et de l'huile, Les dégâts engendrés par la mouche sont à la fois d'ordre quantitatif et qualitatif. En effet, le développement de la larve à l'intérieur de l'olive affecte directement l'alimentation du fruit, sa maturation et sa force d'attachement au pédoncule, provoquant ainsi une chute accélérée (Coutin ,2003).

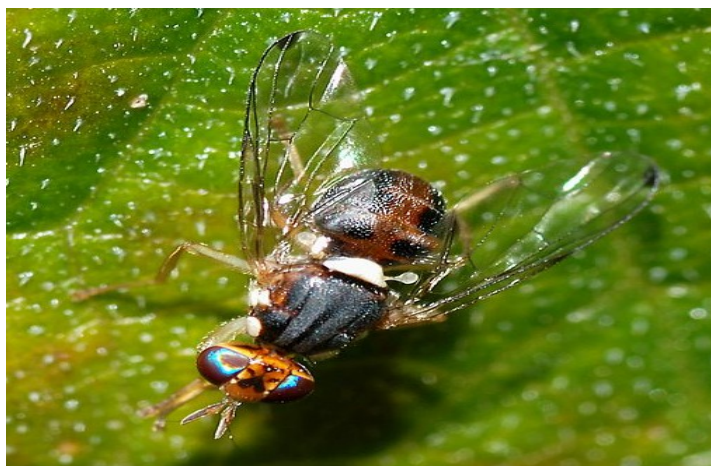


Figure 12 : *Dacus oleae* adulte sur un olivier (weekipidia).

9.2. Les maladies de l'olive

Il existe plusieurs maladies d'origine abiotique et biotiques chez l'olivier. Parmi les maladies biotiques qui peuvent touchés l'olivier, certaines d'origine virale et d'autres d'origine fongique ou bactérienne.

9.2.1. Les maladies virales

L'olivier est affecté par un certain nombre d'agents pathogènes constitués de champignon, bactéries et de virus. De nombreux virus peuvent être détectés chez l'olivier. Tels que le virus des taches annulaires latentes du fraisier; le virus de la mosaïque de l'arabette; le virus de l'enroulement foliaire du cerisier; le virus mosaïque du concombre; le virus associé à la jaunisse foliaire de l'olivier ainsi que huit autres virus qui ont été identifiés chez l'olivier mais rarement détectés. Il n'existe pas de moyens de lutte chimique contre les virus, La seule méthode utilisée est la sélection sanitaire qui consiste à repérer du matériel végétal sain (Poinso et Dosba, 2006).

9.2.2. Les maladies fongiques

L'olivier comme d'autres arbres fruitiers est souvent attaqué par une multitude de bioagresseurs (Bellahcene, 2004).

a. La verticilliose (*Verticillium dahliae* kleb.)

Verticilliose est la maladie la plus importante rapportée sur des plantes appartenant à 45 familles botaniques (Harrington et Dobinson, 2000). Elle provoque la nécrose et l'engorgement des vaisseaux libéro-ligneux de la plante. Des thylls ou gommages obturent les tissus conducteurs et provoquent un flétrissement souvent partiel de la plante. Dans certains cas, le flétrissement peut être brutal et généralisé à cause de la production de toxines diffusant à travers le cotonnier et provoquant un déséquilibre hydrique de l'hôte (Cauquil, 1973).

b. L'antracnose (*Gloeosporium olivarum* Alm.)

L'Antracnose ou *Vinolo* des oliviers est une maladie fongique causée par *Cyloronium oleaginum*, elle provoque sur les feuilles des taches circulaires, noirâtres, qui vont s'agrandissant et finissent par envahir toute la feuille qu'elles dessèchent en devenant confluentes (Viala et Ravaz, 1895). Elle attaque les fruites mûrs et les pédoncules et les pousses. Sur les fruits la maladie provoque des taches de pourriture circulaire molles, sur lesquelles des masses de spores gluantes sont produites sous une humidité élevée (Ritchie et Cannon, 2003). Le champignon affect également la qualité d'huile d'olive en augmentant l'acidité libre et l'indice de peroxyde (Martelli, 1960).

c. La cercosporiose (*Cercospora cladosporioides* Sacc.)

La Cercosporiose est une maladie causée par *Pseudocercospora cladosporioi* et appelée aussi Plomb de l'olivier, qui s'attaque principalement au feuillage et plus rarement les fruits (André *et al.*, 1955). Les conidies du champignon germent et pénètrent dans les feuilles par les stomates. Ils se développent dans les feuilles puis repassent par les stomates pour émettre leurs spores (qui donnent la couleur grise aux feuilles) après avoir détruit les cellules des feuilles (visibles par les nécroses de feuilles). Durant l'été et l'hiver le champignon assure sa survie dans les feuilles tombées au sol (Siciliano, 2007).

9.2.3. Les maladies bactériennes

Les oliviers comme toutes les plantes sont attaquées par de nombreuses maladies bactériennes, telles que : galle du collet, la maladie de «Pierce» causée par *Xylella fastidiosa* et la tuberculose d'olivier.

a. Crown gall

"Crown-gall" ou Galle du collet une maladie bactérienne causée par la bactérie *Agrobacterium tumefaciens*. Elle provoque des excroissances ; des tumeurs au niveau du collet

ou des racines des végétaux, elle se reconnaît par les excroissances tumorales apparaissant sur les racines. L'infection peut entraîner un mauvais développement notamment lorsque les plantes sont infectées dans leurs premières phases de croissance (Chilton *et al.*, 1977; Jochen et Rosalia, 2014).

b. *Xylella fastidiosa*

Xylella fastidiosa est une bactérie phytopathogène qui est propagée par les insectes appartenant au sous-ordre des *Auchenorrhyncha* qui se nourrissent de sève de xylème (FAO, 2020). Ce pathogène est originaire du continent américain où il s'attaque à de nombreuses plantes hôtes (Rossi, 2017). Les symptômes d'une infection liée à la bactérie *Xylella fastidiosa* sont des branches affaiblies, des feuilles séchées et des fruits durcis et racornis. Les arbres infectés subissent effectivement une sécheresse interne : les bactéries qui se multiplient s'accrochent au tissu xylémique qui transporte l'eau et les nutriments puis étouffent les extrémités de l'arbre (FAO, 2020).

c. La tuberculose d'olivier

La tuberculose d'olivier est une maladie causée par une bactérie pathogène *Pseudomonas savastanoi*. De nos jours, il est répandu dans presque toutes les zones de production d'olives et représente la principale maladie des oliveraies. La bactérie stimule la prolifération tissulaire et la division cellulaire anormale à partir de laquelle se forment des excroissances tumorales (Godena *et al.*, 2009). Les tumeurs induites par *Pseudomonas savastanoi* se forment sur le tronc et les branches, et moins fréquemment sur les feuilles et les fruits (Sisto et Lacobellis, 1999; Smith, 1920).

II.1. Généralités

La tuberculose de l'olivier est une maladie bactérienne causée par *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*, elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen ; 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).

La maladie de la tuberculose de l'olivier est considérée comme l'une des maladies les plus graves affectant les oliviers (*Olea europaea* L.) dans la plupart des régions oléicoles du monde, ce qui peut entraîner de graves dommages dans les oliveraies, causant de graves pertes en termes de production. Des études récentes ont montré que les tumeurs (nœuds) causées dans les Oliviers par cette bactérie contiennent une communauté bactérienne multispécifique (Reberto *et al.*, 2015).



Figure 13 : Des tumeurs de tuberculose d'olivier sur fruit et feuille (Quesada *et al.*, 2012).

II .2. Les symptômes

Pseudomonas savastanoi provoque la formation d'une croissance hyperplasique chez les Oliviers, produisant des excroissances sphériques sur le tronc et les branches, et moins fréquemment sur les feuilles et les fruits (SistoIacobellis, 1999; Smith, 1920). Les infections de cette bactérie dans les plaies fraîches des oliviers commencent par une petite cavité causée par l'effondrement des cellules végétales adjacentes et sont plus fréquentes sur les troncs et les branches, et rares sur les feuilles et les fruits. Par la suite, une prolifération de tissu suit la périphérie de la cavité entraînant le développement de tumeurs (Smith, 1920; Surico, 1977).

Avec le développement de la maladie, les tumeurs se développent et leur nombre augmente, ce qui peut entraîner un déclin des branches et des pousses et une baisse des

rendements et l'huile d'olives sur oliviers contaminés est de moins bonne qualité. La bactérie pénètre dans l'olive par les plaies ouvertes de la coupe ou de la récolte ainsi que par les plaies causées par la grêle et les vents violents (Godena *et al.*, 2009).



Figure 14 : Tuberculose de l'olivier (Hall et Cother, 2004).

II.3. Classification de *Pseudomonas savastanoi*

Pseudomonas savastanoi est une bactérie classée dans la famille des *Pseudomonadaceae*. Le nom de *pseudomonas savastanoi* a été mis la première fois par Stevens en 1913, mais la bactérie a été incluse dans la liste des pathovars des espèces de *Pseudomonas savastanoi*. (Young *et al.*, 1996).

Selon (Young, 1996); la classification de cette espèce est la suivante :

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

La bactérie *Pseudomonas savastanoi* est un pathogène qui induit les galles sur la tige, les rameaux et les feuilles de plusieurs plantes hôtes appartenant à la famille des *Oleaceae* et la famille apparentée *Apocynaceae* (Janse, 1982).



Figure 15: *Pseudomonas savastanoi* vue en microscopie électronique à balayage

(Ramos *et al.*, 2012).

II.4 Cycle biologique

La bactérie phytopathogène *Pseudomonas savastanoi* est un résident commun de la phyllosphère de l'olivier (Ercolani, 1971), A un cycle de type pathogène épiphyte. Les bactéries ont une phase épiphyte au cours de laquelle elles se multiplient à la surface des tiges et des feuilles des oliviers sans développer de symptômes (Ercolani, 1978, 1991; Varvaro et Ferrulli, 1983). Et un mode de vie parasitaire chaque fois que des blessures de nature diverse permettant à la bactérie d'envahir les tissus de l'hôte (Ciccarone, 1950). Le cycle biologique de *Pseudomonas savastanoi* comprend deux phases :

a. Phase épiphyte

Pseudomonas savastanoi pv. *Savastanoi* survit à la fois dans les tissus des tumeurs et comme un épiphyte sur les rameaux, les feuilles et les fruits. Les populations de pathogènes sont plus élevées sur les rameaux que sur les feuilles (Ercolani, 1993). L'intervalle de température dans lequel *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* peut déclencher l'infection se situe entre 5° et 37° et cet intervalle permettrait aux bactéries de causer des infections tout au long de l'année. Cependant, les conditions optimales pour le développement de la maladie sont d'environ 22°-25 °C et les périodes subséquentes subissent une forte probabilité d'infection en l'automne et au printemps (Protta, 1995). *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* peut infecter des oliviers à tout moment de l'année et la formation des tumeurs se déclenche seulement quand les conditions sont favorables (Luis *et al.*, 2009 ;Pérez, 2010).

b. Phase endophyte

Les bactéries endophytes sont définies comme des bactéries vivant dans les tissus végétaux sans faire un préjudice matériel (Kado, 1992). Certaines rares études ont décrit la phase endophyte de *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* dans les plantes d'oliviers (Wilson *et al.*, 1964). Selon d'autres auteurs, Psv pourrait également présenter une phase endophyte, se déplaçant à travers les espaces intercellulaires et même dans les vaisseaux du bois et infectant les zones proches de la première zone infectée. Les plaies de taille peuvent rester sensibles à l'infection pendant au moins 14 jours. Les cicatrices foliaires, cependant, sont les points les plus communs d'entrée des agents pathogènes et peuvent rester sensibles à l'infection jusqu'à 7 jours après la chute des feuilles (Schiff, 1906 ; Smith, 1920 ; Wilson *et al.*, 1964 ; Wilson *et al.*, 1979).

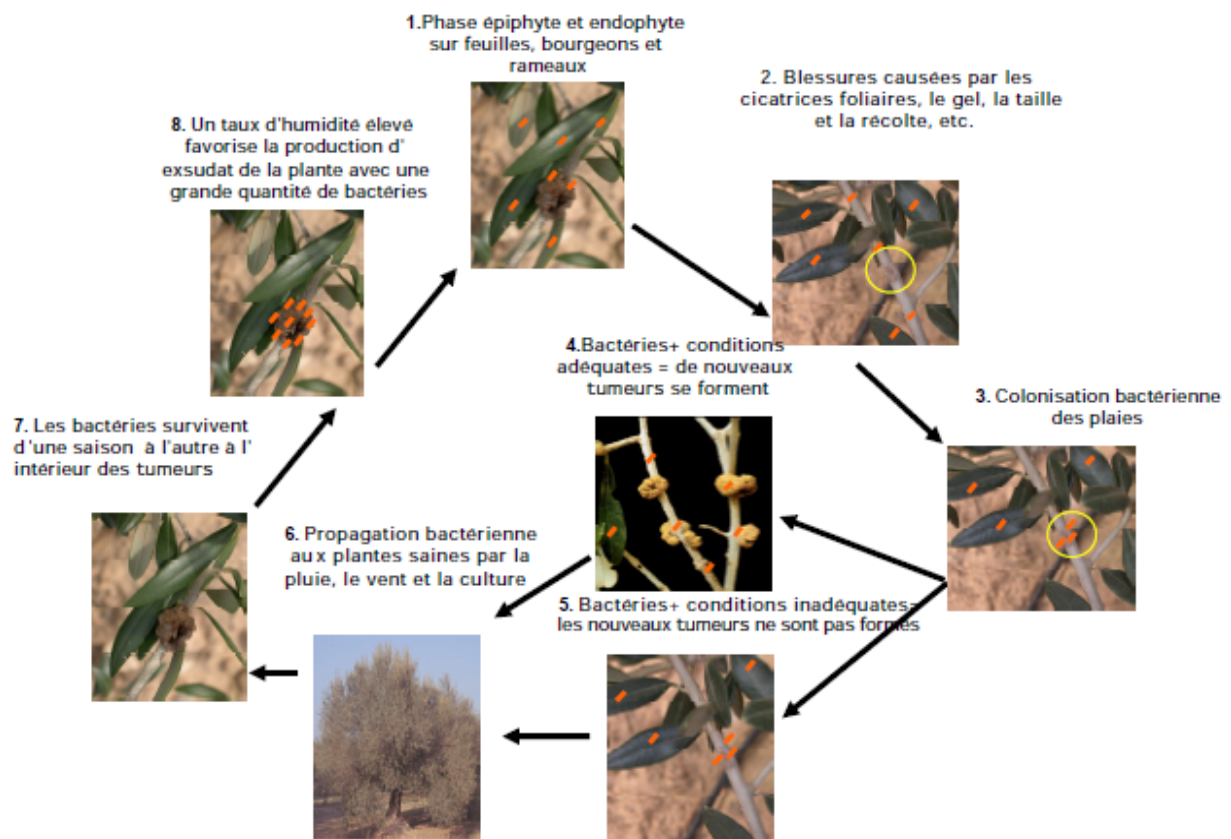


Figure 16: Cycle de la maladie tuberculose d'olivier causée par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (les baccilles rouges indiquent présence des bactéries) (Bertolini, 2003).

II.5. Processus d'infection :

Pseudomonas savastanoi provoque la formation d'une croissance hyperplasique chez les oliviers, produisant des tumeurs sphériques sur le tronc et les branches, et moins fréquemment sur les feuilles et les fruits (Sisto & Iacobellis, 1999; Smith, 1920).

Les infections à *Pseudomonas savastanoi* dans les plaies fraîches des oliviers commencent par une petite cavité causée par l'effondrement des cellules végétales adjacentes et sont plus fréquentes sur les troncs et les branches, et rares sur les feuilles et les fruits. Ensuite une prolifération de tissu suit la périphérie de la cavité entraînant le développement de tumeurs (Smith, 1920; Surico, 1977).

Le développement de la tumeur dépend de la production bactérienne de phytohormones acide indoleacétique et de cytokinines respectivement. Pendant de nombreuses années, les phytohormones produites par *Pseudomonas savastanoi* ont été considérées comme ses principaux facteurs de virulence (Comai et Kosuge, 1980; Surico et al., 1986; Surico et Iacobellis 1992).

Par ailleurs, des résultats récents ont révélé que les souches Psv contiennent deux copies de tous les gènes impliqués dans la synthèse de l'acide indoleacétique (Matas et al., 2009 ; Pérez Martínez et al., 2008). Il a été rapporté que les nodules d'olivier dépendent également des gènes hrp / hrc (Sisto et al., 2004), qui codent pour la biosynthèse d'un système fonctionnel de sécrétion de type III (TTSS). Récemment, des progrès remarquables ont été réalisés dans la recherche sur plusieurs aspects de l'interaction hôte-pathogène de l'agent causal de la nodule de l'olivier (Pérez Martínez et al., 2008; Matas, 2010 ; Pérez Martínez et al., 2010). Plusieurs facteurs de virulence putatifs dans le Psv ont été identifiés, y compris des effecteurs de protéines TTSS et une variété de gènes codant pour des déterminants connus de la virulence de *P. syringae* (Pérez Martínez et al., 2008). Des analyses des effecteurs de protéines TTSS du Psv ont récemment mis en lumière le rôle du TTSS dans la pathogénicité et la gamme d'hôtes (Matas, 2010; Pérez Martínez et al., 2010).

II.6. L'importance économique de l'olivier

L'effet des tumeurs du nœud d'olivier sur le rendement et la qualité de l'olivier n'est pas clair, sauf en cas de maladie grave et destruction ou dénudage du bois fruitiers. Etant donné que la maladie ne provoque généralement pas de dégâts inesthétiques, de nombreux producteurs la considèrent peu importante et déclarent qu'ils n'adopteraient pas de procédures de contrôle si elles étaient disponibles en raison des dépenses et du temps nécessaire. Un groupe de contrôle de goût ont constatés que les olives des membres atteints avaient un mauvais goût, cela a été répété

avec des résultats similaires à chaque fois. Après l'examen des olives sains et atteints, ils ont constatés que la taille et le nombre étaient moindres sur les sujets noués. D'autres études indiquées également que le nœud de l'olivier réduit considérablement le rendement (Tableau 04), (Schroth *et al.*, 1973).

Tableau 03 : réduction du rendement suite au nombre de tumeurs par branche d'olivier (Schroth *et al.*, 1973).

Nombre de branches	Nombre de tumeurs	Nombre moyen d'olives
80	0	5,5
55	1	3,4
34	2	2,8
30	3	2,6
38	4	2,2
25	5	1,7
26	6	1.6

II.7. Impact de la maladie

Bien que la maladie de la tuberculose de l'olivier est v répandue dans la plupart des régions oléicoles, il n'y a pas d'estimation précise des pertes qu'elle provoque. Ceci est très difficile à évaluer car de nombreux facteurs peuvent influencer la gravité des symptômes. Des infections sévères peuvent provoquer la mort des branches et un affaiblissement progressif, entraînant une perte de vigueur de l'arbre et donc de récolte (Tjamos *et al.*, 1993). En outre, une faible qualité de l'huile a été signalée lorsque les olives étaient récoltées sur des oliviers modérément affectés avec des nœuds d'olive présentant des odeurs et des saveurs telles que l'amer, le rassis ou le salé, mais les données manquaient de support statistique. (Tjamos *et al.*, 1993) .Dans une autre étude, l'incidence de la maladie du nodule de l'olivier n'a modifié ni les caractéristiques chimiques ni organoleptiques de l'huile d'olive vierge extraite de jeunes fruits d'olivier dans un bosquet à haute densité (Schroth *et al.*, 1968(Quesada *et al.*, unpublished data).

II.8. Gestion de la maladie

La tuberculose de l'olivier (Loussert et Brousse, 1978), une maladie bactérienne qui prend de plus en plus d'ampleur ainsi la lutte contre cette dernière devient une priorité. Sachant que les traitements chimiques deviennent pénibles a compte tenu des résultats incohérents sur le terrain,

ces traitements peuvent également avoir une faible efficacité et même voir la phytotoxicité pour certains tissus, ces éléments ne favorisent pas le développement de la lutte chimique ce qui a

orienté les recherches vers une lutte alternative par l'utilisation de molécules naturelles extraites de plantes qui révèlent une grande efficacité contre certains microorganismes phytopathogènes (Oulebsir *et al.*, 2007).

II.8.1. Lutte prophylaxie

Les méthodes utilisées pour lutter contre les bactéries phytopathogènes reposent sur des mesures préventives et curatives et la combinaison des deux doit être utilisée dans le cadre d'une lutte intégrée. La production, l'entretien et l'utilisation de matériel végétal certifié exempt d'agents pathogènes est l'une des principales mesures préventives utilisées pour contrôler les agents pathogènes des plantes. À cet égard, et de nouvelles oliveraies devraient être établies en utilisant du matériel végétal certifié sans *Pseudomonas savastanoi* (Quesada *et al.*, 2012). Les mesures prophylactiques sont conçues pour réduire ou éliminer les niveaux d'agents pathogènes ou entraver son établissement dans une culture et ces mesures peuvent également être de nature eradication basée sur la sensibilité des cultivars ou par protection directe. Dans le cas du Psv, elles comprennent toutes celles réalisées pour la désinfection des végétaux, des machines agricoles, ou tout ce qui est en contact avec les végétaux (Montesinos et López, 1996).

II.8.2. Lutte chimique

La lutte chimique contre les maladies bactériennes des plantes n'est efficace que lorsqu'elles sont utilisées dans des stratégies préventives avant le début de l'infection ou très tôt dans le processus d'infection bactérienne. Plus précisément, le contrôle chimique de la maladie de l'olivier a donné des résultats incohérents dans les expériences sur le terrain et peut également avoir une faible efficacité et même montrer une phytotoxicité pour certains tissus. Cette variabilité est due à plusieurs facteurs, tels que la quantité d'inoculum, le moment des traitements, les conditions climatiques, la sensibilité des cultivars, la méthode d'application du traitement ou l'état physiologique de la plante hôte. (José *et al.*, 2012 ; Montesinos et López, 1996).

Les composés du cuivre sont le principal traitement chimique préventif recommandé contre la maladie de l'olivier et leur utilisation est recommandée chaque année lorsqu'il y a un risque d'infection, au printemps et à l'automne avant les pluies, après la chute des feuilles et surtout après la grêle et le gel ou d'autres événements causant des blessures aux olives (Penyalver *et al.*, 1998; Protta, 1995; Smith *et al.*, 1991; Wilson, 1935).

Les composés à base de cuivre utilisés dans les oliveraies comprennent divers sels et formulations (hydroxydes, oxychlorures, oxydes ou sulfates) ainsi que leur mélange avec des composés organiques obtenus par synthèse chimique. Un exemple intéressant est la combinaison de sulfate cuprocalcique et de mancozèbe car il a un effet synergique contre plusieurs maladies bactériennes. Actuellement, l'oxychlorure de cuivre est le composé de cuivre le plus couramment recommandé contre la maladie de la tuberculose d'olivier (Hausbeck *et al.*, 2000 ; Jones *et al.*, 1991).

II.8.3. Lutte biologique

Lutte biologique ont été évalués à l'aide d'isolats de *P. fluorescens* (Blightban) et de mutants Psv produisant des bactériocines, mais sans résultats satisfaisants (Krueger *et al.*, 1999). En outre, *Pseudomonas* sp. isolé de la rhizosphère d'olivier s'est avéré antagoniste contre Psv récemment, des isolats de *P. fluorescens* et *Bacillus subtilis* provenant de nœuds et de feuilles d'olivier ont montré une activité antagoniste *in vitro* contre *Pseudomonas savastanoi* (Krid *et al.*, 2010). Les bactériocines sont d'excellents candidats pour une utilisation en agriculture pour contrôler les bactéries pathogènes des plantes en raison de leur haute spécificité. Une bactériocine produite par *P. syringae* pv. *ciccaronei* s'est avéré inhiber la prolifération et la survie de la forme épiphyte du *Pseudomonas savastanoi* (Lavermicocca *et al.*, 2002).

Chapitre III

Matériel et Méthodes

L'objectif de ce travail est une contribution à l'identification de l'agent pathogène causale de tumeurs semblables à celles de la tuberculose de l'olivier. Ces symptômes ont été observés dans deux oliveries une dans la Wilaya de Djelfa et l'autre dans la wilaya de Msila. Nous avons réalisé dans une première étape des prospections sur le terrain pour déterminer le taux de l'infection de cette maladie, et dans une deuxième étape nous avons fait l'isolement et l'identification d'agent pathogène et nous avons essayé de vérifier leur éventuel pouvoir pathogène.

1. prospections sur le terrain

Les prospections sur terrains effectuées durant la période fin mars jusqu'à début avril 2021, au niveau de premier l'oliveraie dans la wilaya de Msila, ont permis d'observer sur la partie aérienne de l'arbre, notamment sur les branches, les jeunes brindilles et les rameaux de l'année de développement d'excroissances de bois. Ces symptômes sont typiques de la tuberculose ou le chancre bactérien de l'olivier. L'importance de cette bactériose dans l'oliveraie de Msila était aux alentours de 50% des arbres malades, de tous les arbres de la ferme et pour le deuxième et le troisième oliveraie est dans la wilaya de Djelfa nous avons observé la plus part des arbres de olivier sont atteints avec la tuberculose aux alentours de 80%.

2. Prélèvement des échantillons

Les échantillons sont prélevés à partir de deux oliveries une à Djelfa et l'autre à Msila, l'échantillonnage est effectué en mois de mars et avril (printemps 2021). Des rameaux d'olivier de variété Chemlal présentant des symptômes typiques de la tuberculose d'olivier ont été découpés à l'aide d'un sécateur stérile et misent dans des sacs stériles, avec une étiquette portant la référence. Les échantillons ont été conservés au frais à température de 4°C jusqu'au moment de l'analyse au laboratoire.

3. Technique d'isolement

L'isolement est réalisé à partir de tumeur. La méthode on a faite dans des conditions aseptiques, les tumeurs sont coupées séparément des rameaux à l'aide d'un scalpel stérile puis sont lavées à l'eau du robinet ensuite désinfectés par trempage dans de d'hypochlorite de sodium (1%) pendant 5 minutes, puis rincé dans l'eau distillée stérile trois fois pendant successivement: 5, 10 et 15 minutes, puis séchés sur papier buvard stérile quelques minutes ensuite découpées en petits fragments puis bien écrasées dans 9ml d'eau distillée stérile, afin d'obtenir un macérât « solution mère » (Schaad *et al.*, 2001).

La préparation des dilutions consiste à préparer à partir de la solution mère d'autres dilutions de 10^{-1} jusqu'à 10^{-6} , à l'aide d'une micropipette, à partir de la suspensions-mère, un volume de 100 μl a été prélevé et ensemencé puis étalé dans des boîtes de Pétri contenant le milieu King B (King *et al.*, 1954). Les boîtes ont été ensuite mises en incubation dans l'étuve à 27 °C.

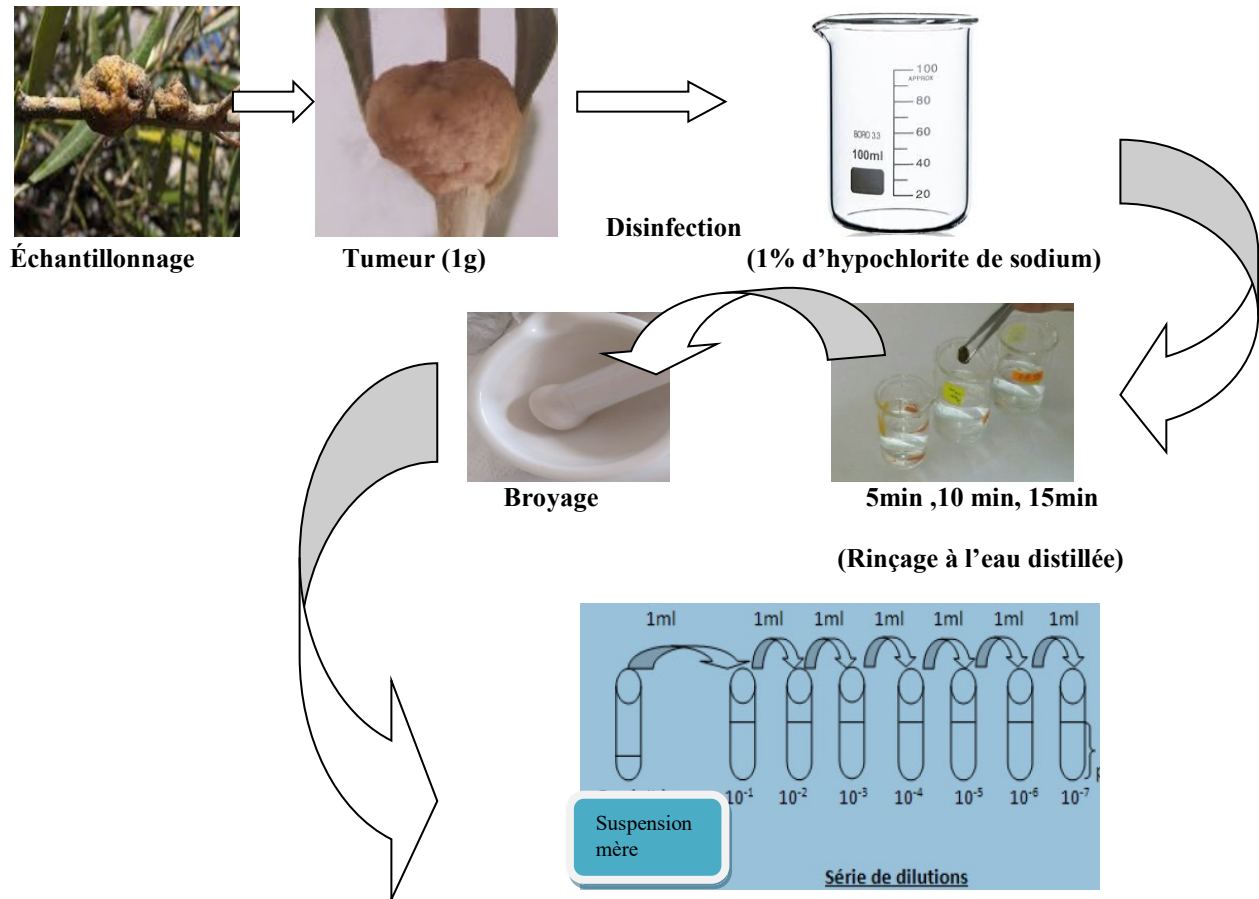


Figure 17 : Schéma représentatif du Protocole expérimentale d'isolement à partir des tumeurs d'olivier (Originale, 2021).

4. Dénombrement des colonies

Après une incubation de trois jours, nous avons effectué le comptage des colonies qui se sont développées sur le milieu King B utilisant l'appareil compteur de colonies bactériennes.

Le dénombrement consiste à compter les colonies ayant les caractéristiques de *Pseudomonas savastanoi* sur les boîtes d'isolement. Le comptage se fait macroscopiquement et seules les boîtes ayant de 30 à 300 colonies sont retenues, le taux des bactéries par échantillons est déduit en multipliant le nombre de bactéries par son facteur de dilution (Klement *et al.*, 1990).

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

UFC : Unité Formant Colonie.

N : La moyenne du nombre des colonies bactériennes comptées par boîte de la même dilution.

n : Facteur de dilution.

5. Technique de sélection

La méthode de sélection des colonies de *Pseudomonas savastanoi* like bactéria a été basée principalement sur les caractéristiques macroscopiques des colonies : la forme circulaire, la couleur, le diamètre, l'aspect et la production de pigment fluorescent sur King B (Schaad *et al.*, 2001).

6. Purification des isolats bactériens

Nous avons prélevé une colonie bactérienne bien individualisée et isolée nous l'avons par la suite ensemencé sur le milieu de culture King B puis les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve à une température de 27 °C. Cette opération a été répétée jusqu'à l'obtention d'isolats purs (Marchal *et al.*, 1991).

7. Identification de l'agent pathogène

L'identification de ces isolats bactériens étant basée essentiellement sur les clés de détermination des genres à savoir les caractères culturels et la morphologie macroscopique (aspect des colonies, production de pigment fluorescent sur milieu King B), et microscopique (coloration de Gram), caractères métaboliques de la bactérie; Les voies d'utilisation du glucose (fermentative ou oxydative) et les systèmes enzymatiques caractéristiques (Pectinase, Levane sucrase, Hugh et Leifson, Arginine di hydrolase) (Holt *et al.*, 1994).

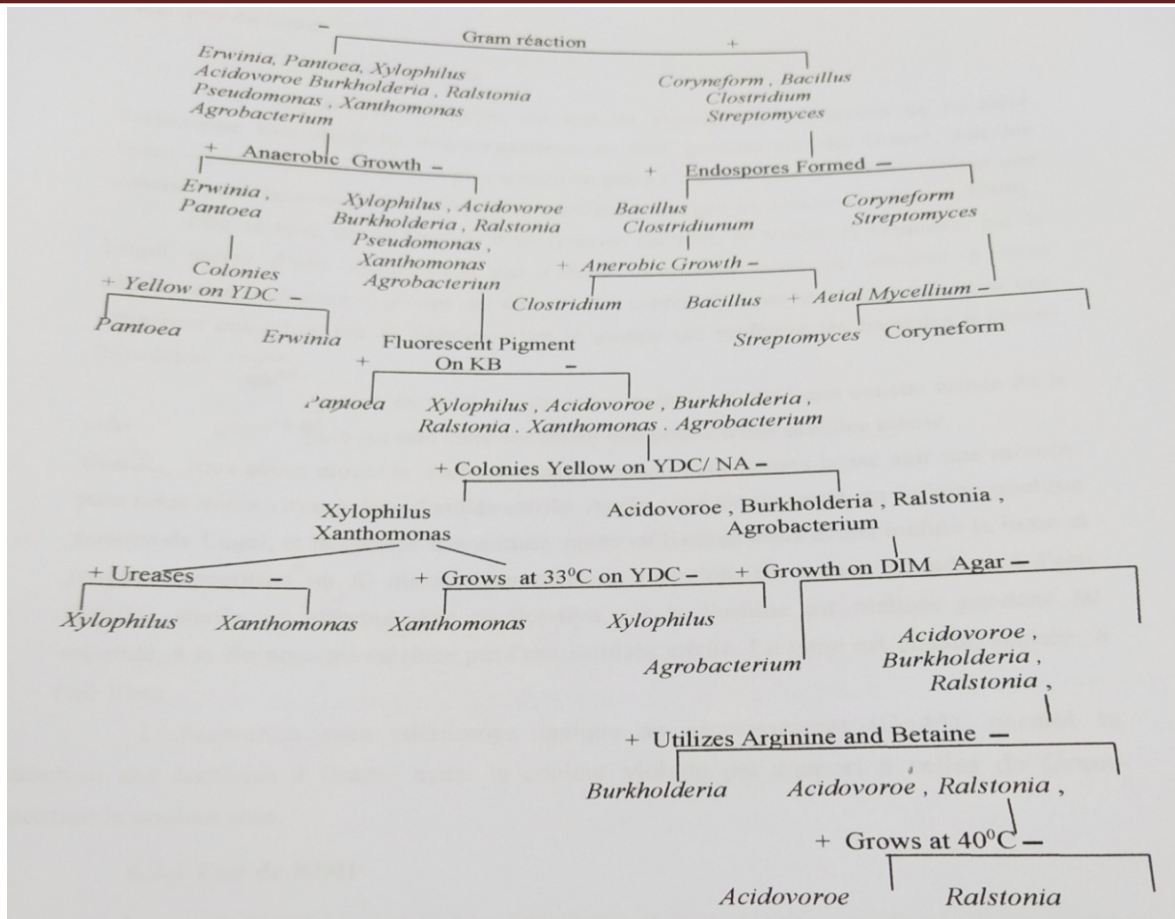


Figure 18 : Schéma de détermination des différents genres bactériens(Schaad, 2001).

8. Test de Gram

8.1. Coloration de Gram

C'est la coloration de base en bactériologie qui permet de distinguer les bactéries en Gram positif et en Gram négatif, cette distinction est fondamentale pour leur identification. En effet, le violet de gentiane se fixe sur des composants cytoplasmiques et après ce temps de coloration, toutes les bactéries sont violettes. Chez les bactéries à Gram négatif, la paroi, riche en lipides, laisse passer l'alcool (ou le mélange alcool - acétone) qui décolore le cytoplasme alors que, chez les bactéries à Gram positif, la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet (Aminetou, 2007).

La coloration de Gram est un test rapide utilisé dans les laboratoires en microbiologie pour différencier différents types de bactéries en fonction des propriétés biochimiques de la paroi bactérienne.

Le coloration de Gram consiste à prélever une colonie âgée de 24 à 48 heures qu'on dépose sur une lame contenant une goutte d'eau distillée stérile pour faire un frottis par des mouvements circulaires, Ce frottis sera séché puis fixé à la flamme. Pour la coloration le frottis sera recouvert avec du violet de gentiane qu'on doit laisser agir 1 minute puis rincer à l'eau

distillée, après du Lugol sera versé et laisser agir pendant 1 minute afin d'améliorer la liaison du premier colorant, puis rincer à l'eau distillée, décolorer à l'alcool à 95° pendant 30 secondes jusqu'à ce qu'il change complètement de couleur après rincé à l'eau distillée, puis recolorer avec de la fuchsine pendant 10 secondes et laver doucement avec de l'eau distillée.

Finalement, la lame colorée sera séchée à l'aire libre et puis observée au microscope à l'objectif 40X et à immersion 100X.

8.2. Test KOH

Dans le but de vérifier le Gram d'une bactérie d'une manière rapide, à l'aide d'une anse stérile, une colonie isolée a été mélangée à une goutte d'une solution de KOH (Hydroxyde de potassium) à 3%. Après quelques secondes, le mélange est tiré vers le haut; s'il y aura formation d'un filament entre la boucle de l'anse et la lame, cela veut dire que la bactérie est à Gram négatif, si rien n'est entraîné par l'anse, cela veut dire que la bactérie est à Gram positif (Ryu, 1938).

9. Test de Fluorescence

Ce test consiste à ensemercer en stries les isolats à tester sur milieu King B en boîtes de Pétri puis les incubées à l'étuve à une température de 27 °C pendant trois jours. Les colonies qui se sont développées ont été observées sous une lampe émettant une lumière ultraviolette ayant une longueur d'onde de 254 - 360 nm afin de noter la présence ou l'absence de pigments fluorescents bleus ou verts, permettant ainsi la mise en évidence de la pyoverdine des *Pseudomonas* du groupe fluorescent (Lelliott *et al.*, 1966).

10. Test Hugh et Leifson

Le milieu de Hugh et Leifson permet de déterminer la voie métabolique oxydative, ou fermentative empruntée par la bactérie étudiée. A l'aide d'un fil de platine stérilisé à la flamme, nous avons prélevé une colonie bactérienne (âgée de 24 à 48h) et nous avons ensemercé deux tubes gélosés contenant le milieu Hugh et Leifson par piqure centrale. Un des deux tubes a été mis en conditions d'anaérobiose en ajoutant une couche d'environ 1cm d'huile de vaseline stérile à la surface du tube. Les deux tubes ont été mises à l'étuve pendant 24 à 48 heures à une température de 27 °C. Deux lectures sont effectuées pour ce test, une après 24heures et l'autre après 48heures.

11. Tests biochimiques

Les tests biochimiques constituent une approche classique pour l'identification de l'espèce bactérienne. Ces tests réalisables après isolement, reposent sur la constitution et le métabolisme cellulaire des bactéries. La réalisation de tests permet de mettre en évidence diverses propriétés biochimiques spécifiques d'une espèce bactérienne et son identification. L'identification présomptive des bactéries a été effectuée en comparant nos résultats avec ceux relevés sur des références de systématiques bactériennes (Holt *et al.*, 1994 ; Prescott *et al.*, 2003). Le test LOPAT (Production de Levane ; présence d'oxydase ; dégradation de Pectinase ; présence de l'arginine déshydrolase et Hypersensibilité du Tabac) ont été réalisés selon les techniques décrites par. Ces tests permettent de déterminer les caractères métaboliques des *Pseudomonas savastanoi* et permettent de distinguer au sein du groupe, les espèces non pathogènes et espèces phytopathogènes (Lelliot *et al.*, 1966).

11.1. Test Production de Levane sucrase

Le test levane sucrase sert à déterminer si la bactérie polymérise le fructose en polyfructose. Avec une pipette pasteur, nous avons inoculé le milieu de culture Levane par stries utilisant une culture bactérienne jeune âgée de 24 à 48 heures. Après 5 jours d'incubation à 27°C, l'apparition d'une culture abondante, bombée, muqueuse et brillante indique que la bactérie possède l'enzyme levane sucrase (Goszczyńska *et al.*, 2000).

11.2. Test oxydase

L'oxydase est une enzyme intervenant dans divers couples d'oxydoréduction. Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram (-). Ce test a été réalisé en utilisant des disques d'oxydase qui ont été placés sur une lame propre et stérile, sur celui-ci une colonie bactérienne a été déposée en utilisant une pipette Pasteur stérilisée au préalable. S'il y a apparition d'une tache violette au bout de deux minutes, la bactérie à oxydase positive donne rapidement une coloration violette foncée et elle possède le cytochrome oxydase. L'absence de la coloration violette (il n'y a pas de coloration) est due à l'absence de l'enzyme respiratoire recherchée chez l'isolat testé (Prescott *et al.*, 2003).

11.3. Test de l'activité pectinase

Le test pectinase permet vérifier la possibilité d'une bactérie à dégrader la pectine, présente dans un milieu de culture spécifique ou sur une tranche de pomme de terre riche en pectine (Rathore *et al.*, 2000). Ce test permet de déterminer la présence ou l'absence de l'enzyme pectinase chez l'isolat bactérien testé. Premièrement, des tubercules de pomme de terre sont bien

Lavées puis ont subi une désinfection par éthanol (95%) après nous les avons coupé en rondelles, puis déposé dans une boîte de Pétri contenant du papier filtre stérile mouillé. Une suspension bactérienne ajustée à 10^7 CFU est inoculée au centre des rondelles puis les boîtes sont incubées à 27 °C pendant 7 à 15 jours. Chaque deux ou trois jours nous faisons des gouttes d'eau distillée stérile pour humidifier le papier absorbant.

11.4 Test Arginine dihydrolase

Ce test permet de détecter la capacité d'un organisme à produire de l'arginine dihydrolase (ADH), enzyme qui décarboxyle l'acide aminé arginine. Le milieu arginine est un milieu semi solide préparé dans des tubes inoculés par les isolats d'âgés de 24h à 28h, ensuite une couche de vaseline stérile sera ajoutée au milieu pour créer des conditions d'anaérobiose, A raison de deux répétitions par isolat puis les tubes sont mis à l'étuve à 27°C (Gardan *et al.*, 1992).

La lecture des résultats se fait après deux à cinq jours. Si le milieu reste rose le test est considéré négatif, et si le milieu vire vers la couleur jaune le test considéré positif.

Le test est positif s'il y a apparition de pigment fluorescent allant du vert au bleu, et il est négatif en l'absence de ce pigment.

11.5. Test d'hypersensibilité sur tabac

Le test d'hypersensibilité du tabac sert à mettre en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie par le dessèchement des zones d'inoculation sur les feuilles de tabac. Elle consiste à injecter une suspension bactérienne d'une culture âgée 24 à 48 heures dans l'espace intercellulaire du limbe d'une feuille du tabac sur sa face inférieure, après, la plante a été exposée à une température ambiante pendant 24 à 48 heures. L'opération a été répétée avec l'eau distillée pour le témoin négatif. La lecture du résultat a été faite après 24 heures. La réaction est dite positive si la zone foliaire inoculée avec la bactérie devient légèrement translucide avec un aspect humide. Par la suite, les tissus s'assèchent et prennent une coloration brun clair à beige mais dans le cas où aucun changement dans la couleur et l'aspect du tissu n'est observé, la réaction est dite négative (Schaad *et al.*, 2001). Dans le présent travail, ce test n'a pas été effectué par manque de plantules de Tabac.

12. Test pathogénicité

Ce test permet la mise en évidence du pouvoir pathogène des isolats bactériens testés. Nous avons utilisé des jeunes plants d'oliviers de la variété Chemlal âgée d'un an, pour la préparation de l'inoculum, nous avons gratté une culture bactérienne âgée de 24 à 48 heures et nous l'avons mis dans 9 ml d'eau distillé stérile puis nous l'avons agité pendant quelques minutes. La concentration d'inoculum est ajustée à 10^7 cellules.ml⁻¹ pour chacun des isolats, concentration suffisante pour provoquer la manifestation des

symptômes inoculations, l'inoculation a été réalisée au niveau de tige avec des blessures, chaque tige en a fait 4 blessures avec scalpel stérile et injecte avec syringe de volume 50 µl, les jeunes oliviers sont irrigués chaque deux jour. Les symptômes ont été enregistrés pendant deux à trois mois après l'inoculation (Marchi *et al.*, 2006).

Chapitre IV

Résultats et Discussion

I. Résultats

Resultat de l'isolement a été effectué sur le milieu King B utilisant la technique suspension dilution. Le principe de cette technique d'isolement de faire passer le tissu intérieur de la galle sur milieu King B. Après une incubation deux jours à 27°C, des bactéries semblables à celles de *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* sur la surface des boites d'isolement.

1. dénombrement bactérien

Après une incubation de deux jours, nous avons fait le comptage des colonies bactériennes qui se sont développées sur le milieu King B. Les résultats obtenus, montrent que le taux des *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* like bacteria est faible au niveau des deux échantillons de tumeurs E1 et E1 par rapport à l'échantillon E2.

E1 : Echantillon 1, E1 : Echantillon 2, E2 : Echantillon 3

Taux des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria cfu/ml.

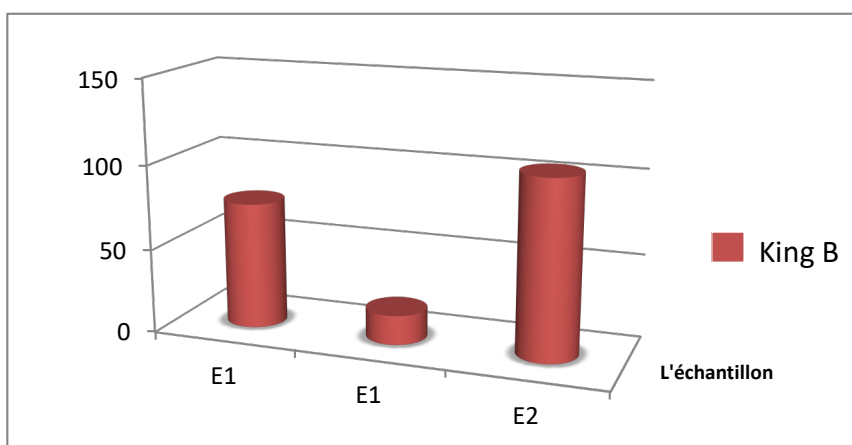


Figure 19: Taux des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria dans des tumeurs d'olivier quantifiées sur le milieu King B.

Pour le premier échantillon E1, le taux des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria dans le milieu King B est de 7.5×10^2 cellule.ml⁻¹, et pour le deuxième échantillon E1, le taux des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria dans le milieu King B est de 1.75×10^1 cellule.ml⁻¹. Quant au troisième échantillon E2 le taux est de 1.05×10^2 cellule.ml⁻¹.

2. La description morphologique des isolats

Sur milieu King B nous avons pu sélectionner 46 colonies bactériennes présentant les caractéristiques morphologiques des *Pseudomonas savastanoi*, ces colonies ressemblent typiquement aux colonies des *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*. Ces colonies sont de couleurs blanchâtres généralement lisses convexes avec un reflet bleu et un diamètre de 1 à 4mm (Figure 20) Ces isolats ont été identifiés par des tests biochimiques après avoir été purifiés. Les

tests effectués dans la détermination du genre sont : coloration de gram, KOH, fluorescence sur king B et test Hugh et Leifson.

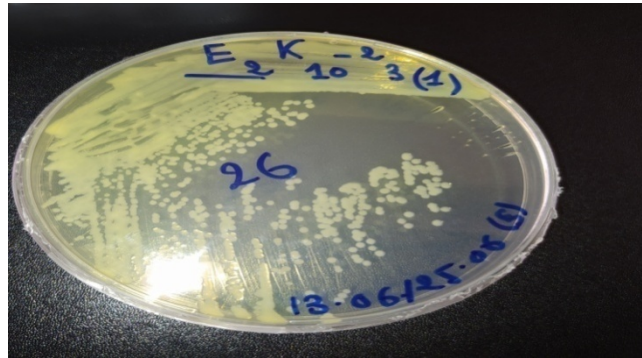


Figure 20: Morphologie des colonies d'un des *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* like bactéria sélectionnés (Originale, 2021).

3. Test de Gram

3.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram permet de différencier entre les bactéries selon les propriétés de la paroi. Les bactéries Gram positives se colorent en violet, les bactéries Gram négatives en rose (Schaad *et al.*, 2001).

Les résultats obtenus dans ce test montrent que 46 isolats sont des bacilles à Gram négatif (en rose) et 5 isolats sont à gram positif, la figure 21 montre des bacilles à Gram négatif.

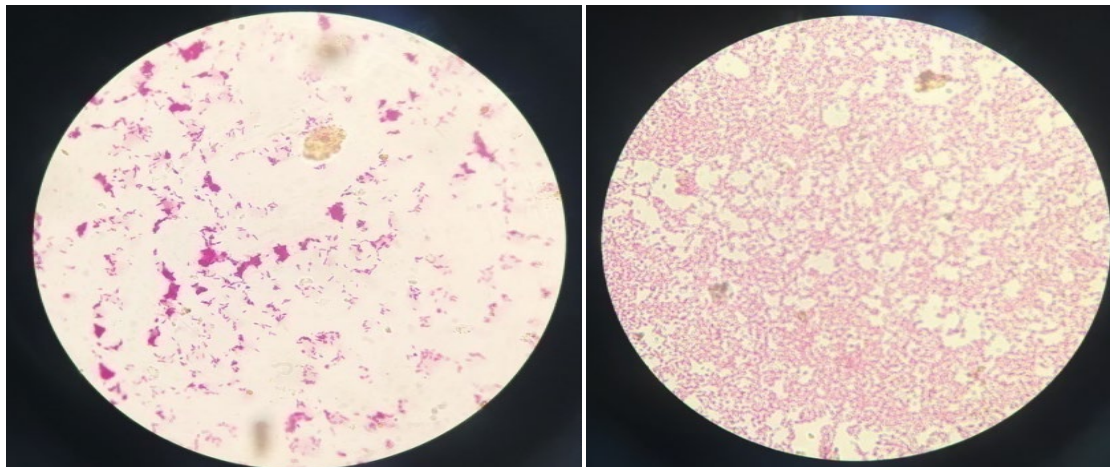


Figure 21 : Observation microscopique d'un frottis d'un isolat coloré par la technique de Gram (microscope G 100X à immersion) (Originale, 2021).

3.2. Test KOH

Le but de cette méthode est de déterminer rapidement si une bactérie est gram positive ou négative et pour confirmer le résultat de coloration de gram, une colonie isolée a été mélangé dans une goutte d'une solution de KOH à 3% à l'aide d'une pipette pasteur. Deux minutes après,

on tire le mélange vers le haut; si un filament se forme entre la pipette et la lame, la colonie isolée est alors constituée de bactéries Gram négatifs. Si rien n'est entraîné par la pipette, les bactéries sont Gram positifs.

Le résultat de ce test montre que il ya augmentation de la viscosité du KOH et la formation d'un filament chez toutes les isolats et cela, confirme que ces bactéries sont à Gram négatif. La figure 22 montre bien la formation d'un filament entre la lame et l'anse de platine et cela, signifie que se sont des bactéries Gram négatives.

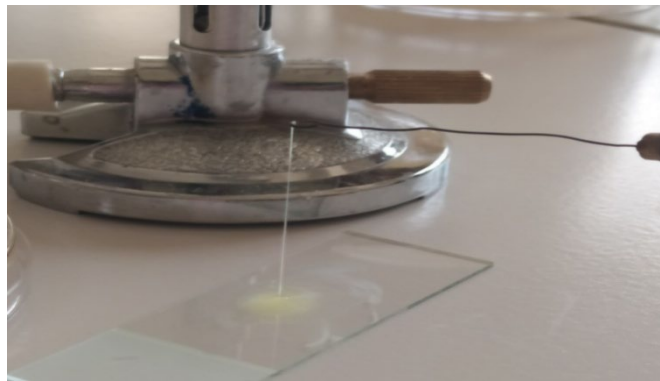


Figure 22 : Résultat de test KOH (Originale, 2021).

4. Test de fluorescence

Les cultures bactériennes en boîte de Pétri sur le milieu King B ont été observées sous une lumière ultraviolette ayant une longueur d'onde de 360 nm afin de noter la présence ou l'absence de fluorescence.

Le test de fluorescence est utilisé pour la détection et la différenciation des *Pseudomonas*, D'après ce test, la plupart de nos isolats bactériens sont fluorescents sous la lumière ultraviolette.



Figure 23 : Résultat de test de fluorescence sur King (Originale, 2021).

5. Test Hugh et Leifson

Ce test consiste à ensemencer par piqûre descendant jusqu'au fond du tube (à l'un des deux tubes on ajoute une couche d'huile de vaseline stérile et l'autre sans huile) avec une culture pure, de préférence dans la phase logarithmique de croissance, de l'isolat à étudier et l'incuber au moins 48 heures à la température optimale.

Une coloration jaune dans les deux tubes (ouvert et recouvert) se traduit par une dégradation oxydative du glucide ajouté. On constate ainsi que la dégradation oxydative se produit à la surface ou près de la surface du milieu nutritif, alors que la dégradation fermentaire se produit aussi bien à la surface que dans l'épaisseur du milieu mais si le virage du bleu au jaune

n'est observé que dans le tube sans huile, cela signifie que l'isolat inoculé dégrade le glucose en présence d'oxygène c'est-à-dire, il s'agit d'un aérobie stricte (Schaad *et al.*, 2001).

D'après les résultats de test Hugh et Leifson nous avons observé un virage du couleur bleu au jaune dans les tubes sans huile chez 43 isolats parmi 46 isolats testés et ceci est dû à la dégradation de glucose par la bactérie, pour le reste des tubes, le virage de couleur a été observé

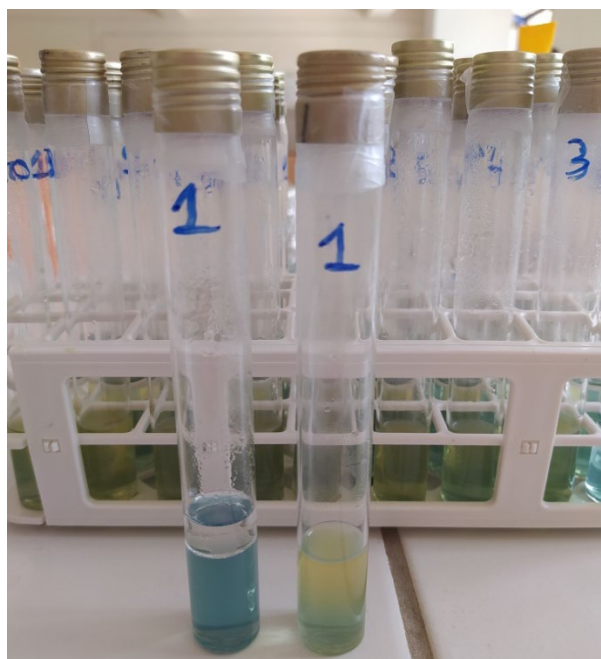


Figure 24 : Résultat test de Hugh et Leifson (Originale, 2021).

Tableau 04: Les Résultats des tests KOH, coloration de Gram, Hugh et Leifson et la fluorescence sur king B. d'identifications des isolats

Test	fluorescence	Test	Coloration	Hugh et leifson

Code	sur KB	KOH	de Gram	Après 24h		Après 48h	
				Sans huile	Avec huile	Sans huile	Avec huile
E1.1	F	-	-	+	-	+	-
E1.2	F	-	-	+	-	+	-
E1.3	F	-	-	+	-	+	-
E1.4	F	-	-	+	-	+	-
E1.5	F	-	-	+	-	+	-
E1.6	F	-	-	+	-	+	-
E1.7	F	-	-	+	-	+	-
E1.8	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.1</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.2</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.3</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.4</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.5</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.6</u>	F	-	+	+	-	+	-
<u>E1.7</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.8</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.9</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.10</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.11</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.12</u>	F	-	-	+	-	+	-
<u>E1.13</u>	F	-	-	+	-	+	-
E2.1	F	-	+	+	-	+	-
E2.2	F	-	-	+	-	+	-
E2.3	F	-	-	+	-	+	-
E2.4	F	-	-	+	-	+	-
E2.5	F	-	-	+	-	+	-
E2.6	F	-	-	+	-	+	-
E2.7	F	-	-	+	-	+	-
E2.8	F	-	-	+	-	+	-
E2.9	F	-	-	+	-	+	-
E2.10	F	-	-	+	-	+	-
E2.12	F	-	+	+	-	+	-
E2.13	F	-	+	+	-	+	-
E2.14	F	-	-	+	-	+	-
E2.15	F	-	-	+	-	+	-
E2.16	F	-	-	+	-	+	-
E2.17	F	-	-	+	-	+	-
E2.18	F	-	-	+	-	+	-
E2.19	F	-	-	+	-	+	-

E2.20	F	-	-	+	-	+	-
E2.21	F	-	+	+	-	+	-
E2.22	F	-	-	+	-	+	-
E2.23	F	-	-	+	-	+	-
E2.24	F	-	-	+	-	+	-
E2.25	F	-	-	+	-	+	-
E2.26	F	-	-	+	-	+	-

6. Les tests biochimiques :

Ces tests sont très utilisés pour identifier les isolats bactériens par la connaissance de certaines caractéristiques.

Tests de LOPAT sont des tests utilisés pour déterminer les caractères métaboliques des *Pseudomonas savastanoi* (Production de Levane, présence d'oxydase, dégradation de Pectinase, présence de l'arginine déshydrolase et Hypersensibilité du Tabac) qui jouent un rôle distinctif et permettent de différencier les souches appartenant au genre de *Pseudomonas* (Schaad, 1988).

6.1. Test Production de Levane sucrase

Le test Levane est réalisé par ensemencement des isolats par la méthode des stries sur le milieu Levane, il permet de vérifier la polymérisation du fructose en poly fructose par la bactérie. Une réaction positive se traduit le développement de colonies blanches bombées luisantes sur le milieu Levane. À l'aide (Lelliot et Stead, 1987).

Le résultat de ce test montre que toutes les 30 isolats ensemencés sur ce milieu ne produisent pas du levane sucrase car ils n'en ont pas formé des colonies, bombées, muqueuses, blanche et brillantes. donc ; ils sont considérés comme des levane négatifs (Guido *et al.*, 2005).

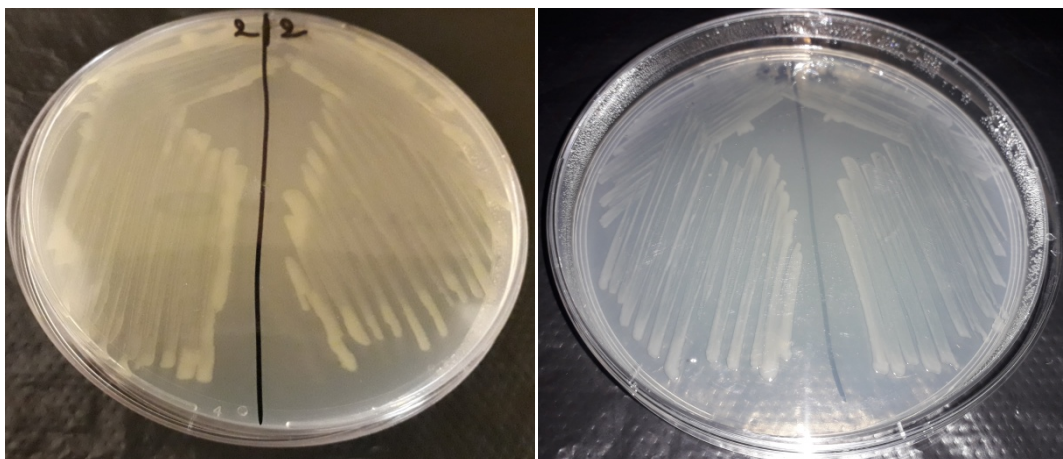


Figure 25: Résultat de Test Levane (Originale, 2021).

6.2. Test oxydase

Ce test permet de mettre en évidence la présence ou l'absence du complexe enzymatique cytochrome-oxydase (cytochrome C19) dans la chaîne respiratoire des bactéries,

Dans ce test, une réaction positive indique qu'il y a eu oxydation du réactif phénylènediamine pour former un composé coloré en violet, l'indophénol, et une réaction tardive ou une absence de coloration indiquent une réaction négative (Klement *et al.*, 1990).

Le résultat de ce test sur 30 isolats, montre l'absence de la coloration violette dans plus part des isolats qui est due à l'absence de l'enzyme recherchée, cela indique que la bactérie est dépourvue de cette enzyme respiratoire.

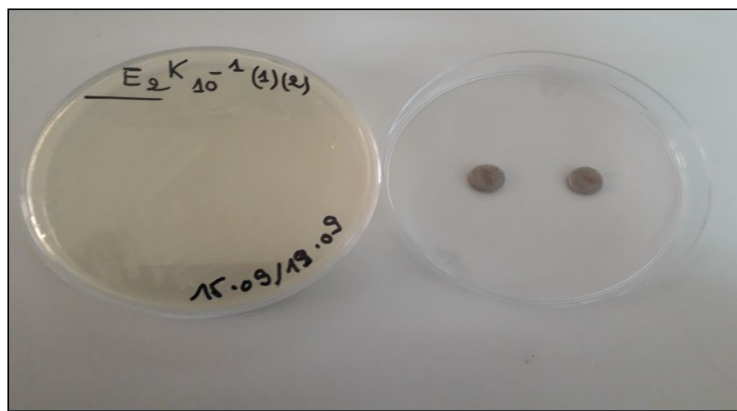


Figure 26 : Résultat de test oxydase (Originale, 2021).

6.3. Test Pectinase

Le test Pectinase permet d'identifier l'activité pectinolytique d'une bactérie c'est-à-dire sa capacité à dégrader la pectine présente dans un milieu de culture spécifique ou des tranches de pomme terre. (Guido *et al.*, 2005).

Après une incubation de quatorz jours, nous avons observé l'absence de zone de lyse dans toutes les 29 isolats. Ces isolats n'ont pas pu dégrader la pectine et nous avons noté l'apparition d'une pourriture chez un seul isolat uniquement (pectinase positif).

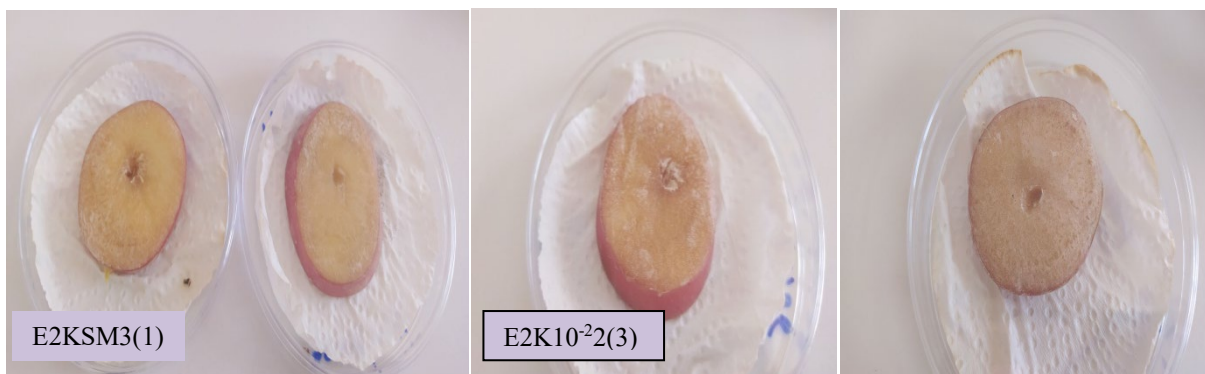


Figure 27 : Résultat de test pectinase (Originale, 2021)**6.4. Test d'arginine di hydrolase**

Pour le test Arginine di hydrolase, nous n'avons observé aucun changement de couleur dans les tubes de tous les isolats testés, ce qui confirme que ces isolats sont des Arginine négatifs, d'après (Guido *et al.* (2005), les *Pseudomonas savastanoi* sont des arginine négatifs.

**Figure 28**: Les résultats de test Arginine di hydrolase (Originale, 2021).**6.5. Test d'hypersensibilité sur tabac**

Le test LOPAT ne pourra pas être complet sans le test Tabac, dans le présent travail, nous n'avons pas pu faire ce test. de manque de plantules de tabac

Tableaux 05: Résultat des tests biochimiques LOPAT

Test Code	Test levane	Test oxydase	Test pectinase	Test d'arginine di hydrolase	Test d'hypersensibilité sur tabac
E1.1	-	-	-	-	NT
E1.2	-	-	-	-	NT
E1.3	-	-	-	-	NT
E1.4	-	-	-	-	NT
E1.5	-	-	-	-	NT
E1.6	-	-	-	-	NT
E1.7	-	-	-	-	NT
E1.8	-	-	-	-	NT

<u>E1.1</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.2</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.3</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.4</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.5</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.6</u>	-	-	+	-	NT
<u>E1.7</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.8</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.9</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.10</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.11</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.12</u>	-	-	-	-	NT
<u>E1.13</u>	-	-	-	-	NT
E2.1	-	-	-	-	NT
E2.2	-	-	-	-	NT
E2.3	-	-	-	-	NT
E2.4	-	-	-	-	NT
E2.5	-	-	-	-	NT
E2.6	-	-	-	-	NT
E2.7	-	-	-	-	NT
E2.8	-	-	-	-	NT
E2.9	-	-	-	-	NT
E2.10	-	-	-	-	NT
E2.12	-	-	-	-	NT
E2.13	-	-	-	-	NT
E2.14	-	-	-	-	NT
E2.15	-	-	-	-	NT
E2.16	-	-	-	-	NT
E2.17	-	-	-	-	NT
E2.18	-	-	-	-	NT
E2.19	-	-	-	-	NT
E2.20	-	-	-	-	NT

NT : non testé

7. Test pathogénicité

Deux mois après l'inoculation des plantules d'olivier (variété Chemlal), nous avons noté la présence de tumeurs qui se sont développées (Tableau06). Quatre isolats (2, 3,5et10) sur 11 isolats testés, ont développé des tumeurs caractéristiques au niveau des blessures effectuées sur les tiges d'olivier. Par ce test nous avons pu confirmer le pouvoir pathogène de la plupart des isolats.



Figure 29 : Résultat de Test de pathogénicité (Originale, 2021).

Tableau 06: Résultat de testpathogenicité

Test pathogenicité	Répétition			
	1	2	3	4
Isolat				
E1(7)	-	-	-	-
E1 (8)	+	-	-	-
<u>E1(7)</u>	+	-	-	-
E2(3)	-	-	-	-
E2 (18)	+	-	-	-
E2(7)	-	-	-	-
E2(9)	-	-	-	-
E2 (14)	-	-	-	-
E2 (12)	-	-	-	-
E2 (13)	+	-	-	-
E2(6)	-	-	-	-

II. Discussion

Pseudomonas savastanoi est une bactérie phytopathogène causant des excroissances, dénommées galls, des nœuds ou des tumeurs, principalement sur les parties aériennes des plantes. Elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen. La bactérie s'installe sur les blessures et provoque des tumeurs aériennes sur différentes parties du végétal (Benjama, 2003).

Notre travail vise à confirmer la présence de l'agent causale de la maladie la plus redoutable de l'olivier (La tuberculose d'olivier) ; pour cela, nous avons fait isolement et identification de la bactérie au niveau du laboratoire, cette identification est basée sur une série de tests biochimiques.

L'échantillonnage a été effectué à partir d'un verger d'olivier situé dans la wilaya de Djelfa et l'autre situé dans la wilaya de Msila, les échantillons ont été prélevés durant la période de floraison de l'olivier à partir d'arbres présentant les symptômes typiques de la maladie de la tuberculose ; pour cela des petites branches portant des tumeurs ont été coupées et mises dans des sacs stériles et amenés au laboratoire pour l'isolement de l'éventuel agent causale de ces tumeurs.

Dans l'objectif d'évaluer approximativement le taux des *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* dans les tumeurs d'olivier, nous avons quantifié le nombre des colonies des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria qui se sont développées trois jours d'incubation sur le milieu d'isolement. Les résultats obtenus montrent que le taux des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria était plus élevé dans l'échantillon E1 et E2 par rapport au troisième échantillon E1.

Dans le premier échantillon (E1) nous avons enregistré un taux des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria dans le milieu King B de ($7,5 \times 10^1$ cellules /ml⁻¹) et pour le deuxième échantillon (E1) nous avons ($1,75 \times 10^1$ cellules /ml⁻¹). Quand au troisième échantillon ce taux est de ($1,05 \times 10^2$ cellules /ml⁻¹). Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Birech (2016) qui a effectué des isollements à partir de tumeurs d'olivier prévenant d'une oliverie dans la wilaya de Djelfa, selon laquelle, le taux des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria sur milieu King B varie de ($1,66 \times 10^1$ cellules /ml⁻¹) à (9×10^2 cellules /ml⁻¹). Le taux des *Pseudomonas savastanoi* dans les tumeurs peut aller à des valeurs plus élevées comme c'est le cas des travaux de Marchi et ses collaborateurs (2003) qui rapportent que le taux des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria a été estimé à ($2,7 \times 10^7$ UFC /g⁻¹).

Les tests biochimiques constituent une approche classique pour l'identification des bactéries, il n'en demeure pas moins qu'ils sont particulièrement utiles pour la détermination de certaines espèces et sous-espèces de bactéries phytopathogènes. Grâce à ces tests, il est possible

de connaître certaines caractéristiques du métabolisme des bactéries isolées, ces tests sont utilisés pour déterminer les caractères macroscopique et microscopique (Coloration de Gram) et permettent donc de vérifier si la bactérie a un métabolisme oxydatif ou fermentatif.

La Coloration de Gram est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'arrangement, la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules étudiées. Cette coloration permet de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le cristal violet. Celles qui possèdent une enveloppe externe sont décolorées lors du lavage à l'éthanol (Gram-) alors que celles qui n'en possèdent pas vont retenir le colorant (Gram+). et les gram négatives vont être coloré par la fushine un colorant de contraste (Marchal et Bourdon, 1973).

Chez les bactéries à Gram négatif, la structure de la paroi est plus complexe. Il existe une membrane externe séparée de la membrane interne cytoplasmique par un espace périplasmique qui contient le peptidoglycane (une ou deux feuilles), beaucoup moins épaisse chez les bactéries à Gram positif. La membrane externe est formée d'une couche interne phospholipidique et d'une couche externe essentiellement composée de lipopolysaccharide (LPS) (Gutmann et Williamson, 1987).

Le test KOH sert à confirmer d'une façon rapide si une bactérie est de Gram positif ou à Gram négatif sans passer par les étapes de coloration habituelles et sans utiliser un microscope (Ryu, 1938).

Les colonies présentant une fluorescence jaune verte détectable sous ultraviolets à 360 nm, sont considérées comme positives. La gélose King B favorise la production de pyoverdine et inhibe par ailleurs la production de pyocyanine, le phosphate dipotassique augmente la concentration en phosphore apporté par la peptone et stimule ainsi la production de fluorescéine, et le sulfate de magnésium apporte les cations nécessaires à la production de pyoverdine et inhibant la production de pyocyanine (King et *al.*, 1954).

Sur le milieu king B les *Pseudomonas* fluorescentes sont capables de produire un pigment jaune fluorescent. Il contient de la protéose peptone qui fournit des composés carbonés et azotés pour la croissance des bactéries. Comme il contient aussi le glycérol, le sulfate de magnésium. Les pigments et ou leurs dérivés produit par les espèces de *Pseudomonas* jouent un rôle de sidérophores dans les systèmes d'absorption du fer des bactéries et par conséquent, leur production est nettement améliorée dans des conditions de carence en fer (Schaad, 1980 ; Ann et Matthyse, 1998).

Selon Guillaume, (2004), le test Hugh et Leifson permet la détermination du métabolisme oxydation ou fermentatif de la bactérie. Ce milieu permet de distinguer entre les deux processus, la dégradation d'un glucide s'accompagne généralement d'une acidification du milieu:- lors des respirations le glucide est oxydé en CO₂, par le dioxygène, lors des fermentations le glucide est

oxydé en acides et alcools, qui sont libérés dans le milieu qu'ils acidifient sensiblement. Ce milieu contient un indicateur de pH, le bleu de bromothymol, qui prend une couleur jaune en milieu acide et précise le type de dégradation du glucide (glucose) qui libère des acides et éventuellement des gaz (Schaad *et al.*, 2001).

Après l'isolement, 46 isolats bactériens ont été sélectionnés en se basant sur les caractéristiques phénotypiques des *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Les résultats des tests biochimiques (Coloration de Gram, KOH et fluorescence sur King B) montrent que les 30 isolats testés sont des bacilles à Gram négative, aérobies strictes et produisent un pigment fluorescent sur le milieu King B.

Le test LOPAT qui joue un rôle distinctif et permet de différencier les souches appartenant au genre de *Pseudomonas*. Ce test est composé de cinq tests qui sont : Levane, Oxydase, Pectinase, Arginine déshydrolyase et test d'hypersensibilité sur Tabac (Schaad, 1988).

Le résultat obtenu dans le test Levane sucrase signifie que tous les 46 isolats étaient des Levanes négatifs, selon Lelliot *et al.* (1966); L'enzyme levane sucrase catalyse la synthèse de levane à partir de sucrose et catalyse l'hydrolyse du levane en monosaccharide. La production de levane sucrase extracellulaire est présente chez quelques biovars de *Pseudomonas fluorescens* (Jacques, 1994).

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif. Ce test consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semiquinonique rose violacé. L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires bactériennes, c'est une enzyme qui catalyse une réaction d'oxydo-réduction en impliquant une molécule d'oxygène comme accepteur d'électrons. Dans ces réactions, l'oxygène est réduit en eau H₂O ou en eau oxygénée H₂O₂. Les bactéries qui possèdent l'enzyme oxydase peuvent oxyder le N,N,N,N-tétraméthyl-1,4-phénylène diamine qui est un composant du réactif de la recherche de la cytochromeoxydase en bactériologie (Klement *et al.*, 1990).

Le test de pouvoir pectonolytique a été effectué sur 41 isolats, pour savoir si la bactérie dégrade ou non la pectine. Les rondelles des tubercules de pomme de terre étant riches en pectine et son hydrolyse en présence de pectinase se traduit par l'apparition de nécrose (Guido *et al.*, 2005)

D'après Marchal *et al.* (1982), le test d'arginine dihydrolyase sert à déterminer la présence ou l'absence de l'arginine dihydrolyase, c'est-à-dire permet de détecter la capacité d'un organisme à produire l'arginine dihydrolyase (ADH), enzyme qui décarboxyle l'acide aminé arginine. Les décarboxylases ou carboxylases, scindent les acides aminés entraînant la formation de l'amine

correspondant avec la libération de CO₂ suivant la réaction. Il s'agit d'enzymes induites dont la synthèse est favorisée par un pH acide (pH =3.5-5.5) et des conditions d'anaérobiose.

Le test d'hypersensibilité du tabac est un test qui sert à mettre en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie par le dessèchement des zones d'inoculation sur les feuilles de tabac (Schaad *et al.*, 2001). Dans la présente étude, ce test n'a pas été réalisé par manque de plantules de tabac.

D'après les résultats globaux du test LOPAT, sur les 41 isolats analysés 30 isolats sont des levures négatives (absence d'une culture abondante, bombée, muqueuse, blanche et brillante), Oxydase négative (absence d'une coloration violette), pectinase négative (ne dégradent pas les pectines) et Arginine négative (absence de l'arginine dihydrolase). Concernant le test d'hypersensibilité sur feuille de tabac que nous n'avons pas pu le faire, il est indispensable pour affilier ces isolats à l'espèce *Pseudomonas savastanoi* du groupe I selon le schéma de Lelliott *et al.* (1966).

Le test de pathogénicité confirme que l'isolat bactérien est pathogène. L'intervalle de température dans lequel *Pseudomonas savastanoi* peut déclencher l'infection se situe entre 5° et 37° et cet intervalle permettrait aux bactéries de causer des infections tout au long de l'année. Cependant, les conditions optimales pour le développement de la maladie sont d'environ 22°-25 °C et les périodes subséquentes subissent une forte probabilité d'infection en l'automne et au printemps (Protta, 1995).

La présente étude constitue une contribution à l'étude de la maladie bactérienne la plus redoutable chez l'olivier dans le bassin méditerranéen et en Algérie. Cette maladie est plus dangereuse et pose un problème majeur dans le monde, vu qu'elle entraîne de graves dégâts dans les oliveraies causant de graves pertes en termes de production. Le coût des dommages est estimé à des centaines de millions de dollars chaque année, jusqu'à présent aucune solution définitive n'a été trouvée. Quand l'olivier est infecté par cette maladie cela conduit à une diminution de la taille du grain d'olive et aussi également à une diminution de la qualité de l'huile d'olive.

Le présent travail constitue une contribution à la recherche et la détection de cette maladie, pour évaluer l'étendue de son développement et ses dégâts et essayer de la contrôler. Actuellement, les chercheurs n'ont pas trouvé la solution la plus appropriée pour combattre cette maladie pour cela, les méthodes de prévention demeurent le meilleur moyen de contrôle. Les mesures prophylactiques reposent sur la désinfection des outils de taille et le fait d'éviter de causer des blessures lors des pratiques agricoles et la pulvérisation des arbres avec des composés à base de cuivre.

La sélection sanitaire des plants qu'on introduit dans le verger aide énormément dans la lutte car une fois installée, la bactérie est très difficile à éradiquer et aucun produit phytosanitaire n'est efficace sur un arbre atteint. Par ailleurs, l'utilisation des cultivars résistants reste parmi les moyens de lutte les plus efficaces.

Nos résultats sont encourageants pour savoir plus sur cette maladie pour cela, en termes de perspectives, des tests d'identification biomoléculaire et des tests sérologiques sont indispensables pour compléter et confirmer l'identité de ces isolats bactériens. D'autre part, l'élargissement des prospections dans d'autres oliveraies algériennes afin d'évaluer leur état phytosanitaire et d'estimer les incidences économiques de cette maladie constitue également un volet important.

Conclusion

Conclusion

L'olivier est sujet à différents types d'attaques d'origine fongique ou bactérienne qui peuvent réduire la capacité de production, par conséquent, causer de lourdes pertes économiques. La tuberculose de l'olivier, une maladie incurable et redoutable causée par *Pseudomonas savastanoi* pv.*Savastanoi*. En cas d'infestation, Elle se caractérise par l'apparition d'excroissances de couleur marron, appelées chancres ou galles. Ces chancres se développent généralement sur les rameaux, mais également au niveau des charpentières et du tronc dans des cas plus sévères (Benjama, 2003).

L'agent causal de la maladie de la tuberculose d'olivier, s'installe sur les blessures et provoque des tumeurs aériennes sur différentes parties du végétal et se multiplie dans un intervalle de température qui va de 18°C à 28°C. C'est un parasite épiphyte qui vit à la surface et à l'intérieur des tumeurs; sa dissémination est favorisée par le gaulage des fruits, la maladie agit, entre autres, 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. Elle constitue un sérieux problème pour la production des olives, réduit la capacité de production, affaiblit la plante et la prédispose à l'attaque par d'autres maladies ou stress abiotiques (Queseda *et al.*, 2007).

Ce travail a pour but principal, l'isolement de l'agent causal possible des tumeurs d'oliviers. Les isolats sont purifiés et identifiés en se basant sur des caractères phénotypiques et biochimiques. Ce travail réalisé au laboratoire a été précédé par une prospection de la maladie sur terrain. En effet, ces tumeurs semblables à celles induites par la tuberculose d'olivier ont été observées sur des rameaux d'olivier dans des oliveraies de la wilaya de Djelfa ainsi que Msila.

Après échantillonnage, l'isolement a été pratiqué à partir des tumeurs, car seules les tumeurs hébergent l'agent pathogène. et constituent donc la principale source d'inoculum de dissémination et de conservation de la bactérie. Cette dernière a été isolée de la tumeur même pendant les périodes sèches.

Le milieu King B est un milieu utilisé principalement pour l'isolement et l'identification et la différenciation de *Pseudomonas* qui produit ce pigment fluorescent contrairement à certaines espèces de *Pseudomonas*. Ce milieu nous a permis d'isoler la bactérie d'on soupçonne l'agent causal de ces tumeurs.

Conclusion

Les résultats d'isolement et le dénombrement montrent que le taux des *Pseudomonas savastanoi* like bacteria était plus élevé dans l'échantillon E1 et E2 par rapport au troisième échantillon E1.

Les tests biochimiques sont des tests utilisés pour identifier les types de bactéries en fonction des différences dans les activités biochimique de différentes bactéries, le choix de ces tests est basé sur des résultats préliminaires des caractéristiques macroscopiques, microscopiques, biochimiques, tels que la coloration de Gram et les caractères de croissance qui permettent d'attribuer les bactéries à une classe particulière.

Les résultats des tests réalisés sur les 46 isolats, montrent que 17 isolats sont des bacilles à Gram négatif, fluorescence, aérobies strictes, levane et oxydase négatif et ne dégradant pas la pectine et des arginine di hydrolase négatif. Ces résultats sont intéressantes et méritent d'être compléter dans l'objectif de donner l'identité de ces isolats.

Références

Références

- Afidalo, 2019.** Association Française Interprofessionnelle de l'Olive, Bulletin de Santé du Végétal Olivier.
- Alba M., Cayo R., Luis R., 2021.** Regulation of Bacterial pathogen of Woody Host *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi*.
- Alford D., 2013.** Ravageurs des végétaux d'ornement arbres, arbustes, fleurs: Editions .Alger, 123 –141 p.
- Alloum D., 1974.** L'oléiculture algérienne, Options méditerranéennes n°24, 45-48p.
- André G., Fernand M., Claude M., 1955.** La vie des plantes. Larousse. 114p.
- Ann G., Matthyse., 1998.** The Genus *Agruobacterium*, Chapter 3.1.4. Martin Dworkin, 3rd Ed., The Prokaryotes, An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community.
- Argenson C., 1999.** L'olivier : Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes, 204p.
- Argenson C., Jourdain J., Vaysse M., 1999.** L'olivier .1er édition. Paris: DS. Centre technique interprofessionnel des fruits et légume, 146p.
- Avilla A., Romero J., Agusti-Brisach C., Benali A., Roca L & Trapero A., 2020.** Phenotypic and pathogenic characterisation of *Pseudocercospora cladosporioides*, causal agent of cercosporaleaf spot of olive. *European Journal of Plant Pathology*, 45-65p.
- Balestra G., Mazzaglia A., Quattrucci A., Renzi M., Rossetti A, 2009.** Current status of bacterial canker spread on kiwifruit in Italy. *Australasian plant disease notes*, 34-36p.
- Bardbury J., 1986.** Guide to Plant Pathogenic Bacteria. CAB International Mycological Institute. Kew, UK. 332p.
- Benjama A., 1988.** Les maladies parasitaires de l'olivier au Maroc. *Olivæ*, 20 21–33p.
- Benjama A., 2003.** Méthode d'évaluation rapide du degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose causée par *Pseudomonas savastanoi pv. Savastanoi*, en verger au Maroc Inra, laboratoire de Phytobactériologie, BP 533, Marrakech, Maroc, 2p.
- Bertolini E., 2003.** Virosis y bacteriosis del olivo: detección serológica y molecular. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, 140p.
- Besnard G., Khadari B., Villemur P., Bervillé A., 2000.** Cytoplasmic male sterility in olive (*Olea europea L*), *Theoretical and Applied Genetics*, 1018-1024p.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J., Reymond P., Sanglier J., Vayssier Y., Veau P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies, 34-428p.

Références

- Boulssen B., Bouraoui N., 2016.** Etude sur la tuberculose de l'olivier ; isolement et identification présomptifs de quelques isolats bactériens à partir des tumeurs, 54p.
- Bradbury J., 1986.** Guide to plant pathogenic bacteria. CAB International Mycological Institute, Kew, UK, 332 p.
- Breton C., Bervillé A., 2012.** Histoire de l'olivier. Edition quae.224p.
- Bruno D., Hervé G., 2012.** Des plantes et leurs insectes. 1er édition. Quae, 124p.
- Chanchan., 2010.** Fleurs d'olivier-Visoflora, identifier une plantent, 27p.
- Chiappetta A., Muzzalupo I., 2012.** Botanical Description, In Olive Germplasm – The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry, ed. InTech, Italy.
- Ciccarone A., 1950.** Alterazioni da freddo e da rognia sugli ulivi. *Bollettino della Stazione di Patologia Vegetale di Roma*,141-174p.
- C,O ,I, 2016.** Le monde oléicole. Huile d'olive et la santé.<http://www.internationaloliveoil.org/>.
- Colbrant P., Fabre P, 2011.** Protection raisonne et biologique des Olivers ,P4.
- Comai L., Kosuge T, 1980.** Involvement of plasmid deoxyribonucleic acid in indoleacetic acid synthesis in *Pseudomonas savastanoi*. *Journal of Bacteriology*, 2P.
- Coutin R., 2003.** Les insectes d'olivier. Insectes 19 n°130,2P.
- Diaz A., Rallo P., De la Rosa R, 2006.** Self- and cross-incompatibility mechanism: a strategy to ensure high variability in olive populations, 29-35 p.
- Digat B., Gardan L., 1987.** Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques des *Pseudomonas fluorescence puttida* ,559-568 p.
- Ennajeh M., Tounekti T., Vadel A., Khemira H., Cochard H., 2008.** Water relations and drought-induced embolism in olive varieties 'Meski'and 'Chemlali'during severe drought.Tree physiology ,971-976 p.
- Ercolani G., 1978.** *Pseudomonas savastanoi* and other bacteria colonizing the surface of olive leaves in the field. *Journal of General Microbiology*.245- 257p.
- Ercolani G., 1971.** Occurrence of *Pseudomonas savastanoi* Stevens as an epiphyte of olive trees, in Apulia. *Phytopathologia Mediterranea*, 2p.
- Ercolani G., 1991.** Distribution of epiphytic bacteria on olive leaves and the influence of leaf age and sampling time. *Microbial Ecology*, 35-48p.
- Ercolani G., 1993.** Comparison of strains of *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* from olive leaves and knots. *Letters in Applied Microbiology*,199-202p,
- Etsuji H., 1982.** Trichome infection of the Tea Anthracnos fungus *Gloeosporium theae_sinensis*, 428.

Références

- Fabbri A., Benelli C, 2000.** Flower bud induction and differentiation in olive. J. Hort. Sci. Biotech, 131-141p.
- FAO., 2020.** Webinaire sur *Xylella fastidiosa*, une menace bactérienne mondiale qui envahit la région du Proche-Orient et de l’Afrique du Nord, 1p.
- Flahault R., 1986.** L’olivier. Ann. Ecole Nat. Agric. Montpellier, France.. In: Fertilidad de las variedades d’olivo espanolas, 25-28p.
- Gardan L., Bollet C, 1992.** "DNA relatedness among the pathovar strains of *Pseudomonas syringae* subsp. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 606-612p.
- Gargouri K., Sarbeji M., Barone E, 2006.** Assessment of soil fertility variation in an olive orchard and its influence on olive tree nutrition. Second International Seminar Biotechnology and Quality of Olive Tree Products Around the Mediterranean Basin, 8 p.
- Godena S., Dminić I, Đermić E, Persurica A, 2009.** The occurrence of olive knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi* in the northwest region of istrian peninsula. Zbornik predavanj in referatov, 4–5p.
- Goszczyńska T., Serfontein J., Serfontein S., Safrinet, 2000.** Introduction to practical phytopathology: A manual for phytobacteriology, 45p.
- Gregorio V., Carmelo P., Gregorio G, 2020.** Olive production threatened by a Resurgent pest *Liothrips oleae* in Southern Italy, 17p.
- Guido M., Carlo V., Luciana G., Guiseppe S, 2005.** Spread of levan positive populations of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, the causal agent of olive knot, in central Italy, *European journal of plant pathology* , 101-112p.
- Gutmann L., Williamson R., 1987.** Paroi bactérienne et bêta-lactamines. Laboratoire de microbiologie médicale, Laboratoire de microbiologie médicale, université Pierre et Marie-Curie, 2-3p.
- Hackett W., Hartmann H., 1967.** The influence of temperature on floral initiation in the olive. *Physiol*, 430-436p.
- Hall H., Cother J., 2004.** First rapport of olive knot caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* on olives Australia . *Australasian plant pathology* , 433-436p.
- Hannachi H., M’sallem M., Benalhadj S., El-Gazzah M, 2007.** Influence du site géographique sur les potentialités agronomiques et technologiques de l’olivier en Tunisie. *C.R. Biologies*, 135-142 p.
- Harrington M., Dobinson K., 2000.** Influences of cropping practices on verticillium dahliae populations in commercial processing tomato fields in Ontario phytopathol, 1011-1017p.

Références

- Hausbeck M., Bell J., Medina M., Podolsky R., Fulbright D, 2000.** Effect of bactericides on population sizes and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* on tomatoes in the greenhouse and on disease development and crop yield in the field. *Phytopathology*, 38-44p,
- Hmimina M., 2009.** Les principaux ravageurs de l'olivier, Institut agronomique et vétérinaire Hassan Rabat. Le psylle de l'olivier, 2p.
- Hodkinson I., 1993.** Life cycle variation and adaptation in jumping plant lice. *Journal of natural History*, 65-179p.
- Holt J., Krieg N., Sneath P, 1994.** Bergey's manual of determinative bacteriology. Williams & Wilkins. Baltimore, 787 p.
- Janse J., 1982.** *Pseudomonas syringae* subsp. *Savastanoi* Smith subsp. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 166-169p.
- Jochen G., Rosalia D., 2014.** Plant responses to *Agrobacterium tumefaciens* and Grown gall development, 78p.
- Joffin J., Leyrol G., 2006.** Microbiologie technique. Dictionnaire des techniques. Bordeaux, 363 p.
- Jones .J, Woltz S., Jones J., Portier K ,1991.** Population dynamics of *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* on tomato leaflets treated with copper bactericides. *Phytopathology*, 714-719p.
- Jose A., Mirella R., Tomas A., Angeles G, 2006.** Changes in phenolic composition induced by *pseudomonas Savastanoi* infection in olive, 53p.
- King E., Ward M., Raney D ,1954.** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J. Lab. Clin. Med.* 44, 301-307p.
- Klement Z., Rudolph K., Sands D., 1990.** Methods in phytobacteriology. Kluwer academic publishers. Budapest .568p.
- Krid S., Rhouma A., Mogou I., Quesada J., Nesme X., Gargouri, A, 2010.** *Pseudomonas savastanoi* endophytic bacteria in olive tree knots and antagonistic potential of strains of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Plant, Pathology*, 335-341p.
- Krueger W., Tevitodale., Scroth M., Metzidakis I., Voyiaztsis D ,1999.** Improvements in the control of olive knot disease, In: *Proceedings of the third International Symposium on Olive Growing*, Metzidakis, 567-571p.
- Kumari A., Kumar K., Rao C, 2014.** Adverse effects of chemical fertilizers and pesticides on human health and environment. National Seminar on Impact of Toxic Metals, Minerals and Solvents leading to Environmental Pollution. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 8p.

Références

- Lavermicocca P., Lonigro L., Valerio F., Evidente A., Visconti A., 2002.** Reduction of Olive Knot Disease by a Bacteriocin from *Pseudomonas syringae* pv.ciccaronei. Applied and Environmental Microbiology, 1403-1407p.
- Lelliot R., Billing E., Hayward A., 1966.** = déterminative scheme for the fluorescent plant pathogenic *Pseudomonas*. Journal App.Bacterial, 470-489p.
- Lelliot R., Stead D., 1987.** Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Methods in Plant Pathology. Laboratoire de diagnostic en phytoprotection, 182-193p.
- Lepoivre P., 2003.** Phytopathologie bases moléculaires et biologiques des pathosystème et fondements des stratégies de lutte. 1ère ed. Beock Université.73 p.
- Lipshitz N., Gophna R., Hartman M., Biger G, 1991.**The beginning of olive cultivation in the OldWorld: A reassessment. J. Archaeol, 441-453p.
- Lopez E., Del Rio C., Caballero M., Blanco L, 2003.**Evaluation of olive cultivars for resistance to Verticillium ; European Journal of plant pathology , 490p.
- Loussert R., Brousse G., 1978.** L'olivier. Technique agricole et productions méditerranéennes. Maisonneuve et Larose, 480p.
- Loumou A., Giourga C., 2003.** "Olive groves:"The life and identity of the Mediterranean.Agriculture and Human Values, 87-95p.
- Maas V., Hoffman J., Civantos, 1994.** Crop salt tolerance-current assessment-. Irrig. Drain. Div, 115-134p.
- Marchal N., Bourdon J., 1973.** Milieux de culture et identification biochimique des bactéries. Doin Editeurs, Paris France, 179 p.
- Marchal N., Bourdon J., 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification Biochimique des bactéries. Doin éditeurs –Paris. 509p.
- Marchi A., Sisto A., Cimmino A., Andolfi M., Cipriani G., Evidente A., Surico G., 2006.** Interaction between *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* and *Pantoea agglomerans* in olive knots. *Plant Pathology* ,614–624p.
- Marchi G., Mori B., Pollacci P., Mencuccini M., Surico G, 2009.** Systemic spread of *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* in olive explants. *Plant Pathology*, 152-158p.
- Martelli.P., 1960.** A first contribution to the knowledge of the biology of *Gloeosporium olivarum*. *PhytopathologiaMediterranea*, 101–112p.
- Matas I., Martínez P., Quesada J., Rodríguez H., Penyalver R., Ramos C, 2009.***Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* contains two *iaaL* paralogs, one of which exhibits

Références

- a variable number of a trinucleotide tandem repeat. *Applied and Environmental Microbiology*, 1030-1035p.
- Mechelany E., Daccache R., 1998.** Etude bio-écologique de la cochenille noire de l'olivier au Liban, 785p.
- Mendil M., Sebai A., 2006.** Catalogue des Variété Algériennes de l'Olivier. Ministère de l'Agriculture et du développement rural, ITAF Alger, Algérie, 98p.
- Mendil M., Sebai A., 2007.** Aperçu sur le patrimoine génétique autochtone. Institut de l'arboriculture fruitière et de la vigne, Algérie, 11-100p.
- Merck K., 2009.** Milieu nutritif Pour l'essai oxydation et fermentation selon HUGH et LEIFSON, 2 p.
- Meziani M., 2012.** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : cas des Entérobactéries et *pseudomonas*, 8p.
- Montesinos E., López M., 1996.** Métodos de control de las bacteriosis, In: *Patología Vegetal*, Sociedad Española de Fitopatología- Phytoma España, S.L.- Grupo Mundi-Prensa, 653-678p,
- Mrchal N., Bourdain J., Richard C., 1982.** Milieux de culture pour l'isolement et identification biochimiques des bactéries, doi, Edition ,Paris,483P.
- Oulebsir M., Selami S., Benzina F., 2017.** Détection de *Pseudomonas savastanoi.pv* agent causal de la tuberculose de l'olivier. Evaluation du pouvoir antagoniste de quelques substances végétales bioactives, The 1st International Congress On Biotechnologies for Sustainable Development, P15.
- Penyalver R., García A., Ferrer A., Bertolini E., Quesada J., Salcedo C., Piquer J., Pérez-Panadés J., Carbonell E., del Río C., Caballero J., López M., 2006.** Factors affecting *Pseudomonas savastanoi pv. Savastanoi* plant inoculations and their use for evaluation of olive cultivar susceptibility. *Phytopathology*,313-319p.
- Penyalver R., García A., Ferrer., López M, 1998.** La tuberculosis del olivo: diagnóstico, epi
- Pulvinage H., 2013.** Fruit - légume et oléiculture CTIFL , 177-179p.
- Pérez I., Luis R., Lambertsen L., Murillo J., Tegli S., Antonio J., Cayo R, 2010.** Fate of a *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* Type III Secretion System Mutant in Olive Plants 409p.
- Poutiers R., 1925.** Les insectes de l'olivier, Revue de botanique Appliquée & d'agriculture coloniale Directeur de l'insectarium de menton. Bulletin ,44p.
- Prescott L., Harley J., Klein D, 2003.** Microbiologie. 2ème édition. Boeck Université, 1099p.
- Protta U., 1995.** Le malattie dell' olivo. *Informatore Fitopatologico*, 16-26p.

Références

- Quesada J., Perez-Martinez., Ramos I., Lopez M., Penyalver R., 2008.** IS53: an insertion element for molecular typing of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *Research in Microbiology*, 159, 207p.
- Quesada J., Ramón P., María M., López, 2012.** Epidemiology and Control of Plant Diseases Caused by Phytopathogenic Bacteria: The Case of Olive Knot Disease Caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* Departamento de Protección Ambiental, Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior d'Investigaciones Científicas, 299–326p.
- Ramos C., Matas M., Bardaji L., Aragon I., Murillo J., 2012.** *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* : some like it knot. *Molecular Plant Pathology*, 998-1009p.
- Rathore M., Sharma M., Sharma N., 2000.** Microbial pectinase: sources, characterization and application, *Environmental Science and Biotechnology*, 125-126p.
- Ritchie B., Cannon F., 2003.** *Colletotrichum* In: *Plant Health Diagnostics, Introduction to Fungi*. CABI Bioscience 2003, CAB International, Wallingford, UK, 123 pp.
- Rodríguez M., Barcelo M., Ramos C., 2008.** In vitro analysis of the interaction of *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* and *nerii* with micropropagated olive plants. *Phytopathology*, 815–822p.
- Rodríguez M., Barceló M., Ramos C., 2008.** In vitro analysis of the interaction of *Pseudomonas savastanoi* pvs *savastanoi* and *nerii* with micropropagated olive plants. *Phytopathology* , 815-822p.
- Rodríguez M., Jimenez L., Ramos C., 2009.** Endopathogenic lifestyle of *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* in olive knots. *Microbial Biotechnology*, 476- 488p.
- Rojas A., García J., Fischer M., Jiménez P., Reche P., Bonneau S., Sutra L., Mathieu D., Celland M., 2004.** *Erwinia toletana* sp associated with *Pseudomonas savastanoi*-induced tree knots. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2217- 2222p,
- Schaad N., 1980.** Laboratory Guide for the identification of plant pathogenic Bacteria. the American 2ème Ed. 44-81p. phytopathological Society, p3.
- Schaad N., Jones J., Chun W., 2001.** Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, APS Press. Sr Paul, Minnesota .Third edition, 373p.
- Schiff R., 1906.** Untersuchungen über die tuberkelkrankheit des oelbaumes. *Centralb. Bakteriol., Parasitenk*, 200-211p.
- Schroth M., Hildebrand D., 1968.** A chemotherapeutic treatment for selectively eradicating crown gall and olive knot neoplasms. *Phytopathology*, 848-854p.
- Schroth M., Osgood J., Miller T., 1973.** Quantitative assessment of the effect of the olive knot disease on olive yield and quality. *Phytopathology*, 1064–1065p.

Références

- Siciliano A., 2007.** Cercosporiose : La maladie oublié .olive Info, 209, Boulevard de Temps Perdu - Manosque,P7.
- Sisto A., Cipriani M., Morea M, 2004.** Knot formation caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *Savastanoi* on olive plants is *hrp*-dependent. *Phytopathology*, 484-489p.
- Sisto A., Iacobellis N., 1999.** La “Rogna dell’ olivo”: aspetti patogenetici, epidemiologici e strategie di lotta. *Olivo & olio*, 32-38p.
- Smidt M., Kosuge T, 1978.** The role of indole-3-acetic acid accumulation by alphamethyl tryptophan-resistant mutants of *Pseudomonas savastanoi* in gall formation on oleanders. *Physiological Plant Pathology*, 203-214p.
- Smidt M., Kosuge T, 2000.** Le rôle de l’indole-3-acétique par l’accumulation d’acide alpha-Méthyl-Tryptophane mutants résistants de *Pseudomonas syringae* dans la formation de galles au Laurier-rose. *Physiological Plant Pathology*, 201-204p.
- Smith E., 1920.** Pathogenicity of the olive knot organism on hosts related to the olive. *Phytopathology*, 271-278p.
- Stéphane A., 2016.** Oléiculture, systèmes oléicoles et territoires méditerranéens : de la filière au paysage.P13.
- Surico G., 1986.** Indoleacetic acid and cytokinins in the olive knot disease. An overview of their role and their genetic determinants. In: Bailey J. Biology and Molecular Biology of Plant Pathogen Interactions, 315- 329p.
- Surico G., Iacobellis N., Sisto S, 1985.** Studies on the role of indole-3-acetic acid and cytokinins in the formation of knots on olive and oleander plants by *Pseudomonas syringae* pv. *Savastanoi*. *Physiological Plant Pathology* , 309-320p.
- Surico G., 1977.** Histological observations on olive knots. *Phytopathologia Mediterranea*, 109-125p.
- Terral J., 2000.** Exploitation and management of the olive tree during prehistoric times in Mediterranean France and Spain. *J. Archaeol*,127–133p.
- Tjamos E., Graniti C., Smith A., Lamberti F, 1993.** Conference on olive diseases. *Bulletin* 365-550p.
- Varvaro L., Ferrulli M, 1983.** Sopravvivenza di *Pseudomonas syringae* pv. *Savastanoi*.*Phytopathologia Mediterranea*1-4p.
- Viala P., Ravaz L, 1895.**Organe de l’agriculture des régions viticoles.Revenue de viticulture, , Rue Gay-Lussac, 5.University California Library branch of the college og Agriculture,16 P.
- Wilson E., 1935.** The olive knot disease: its inception, development and control.*Hilgardia*, 233-264p.

Références

- Wilson E., Magie A, 1964.** Systemic invasion of the host plant by the tumorinducing bacterium, *Pseudomonas savastanoi*. *Phytopathology*, 576-579p.
- Yong J., Wilkie P., Fletcher M., Park D., Pennycook S., Triggs C., Richard D., Watson W., 2004.** Relative tolerance of nine olive cultivars to *Pseudomonas savastanoi* causing bacterial knot disease. *Phytopathol. Mediterr.*, 395–402p.
- Young J, 2004.** Olive knot and its pathogens. *Australien Plant Pathology*, 33–39p.
- Young J., Saddler G., Takikawa Y., De Boer S., Vaqueterin L., Gardan L., Gvozdyak R., Stead D, 1996.** Names of plant pathogenic bacteria. *Review of plant pathology*, 721-763.

Annexe

Composition des milieux cultures :

1-Milieux de culture (g/l)

King B :

Mélange de peptone.....	20.0g/l
Phosphate dipotassique.....	1.5g/l
Sulfate de magnésium.....	1.5g/l
Agar bactériologique.....	14.0g/l

PH final : 7 et 7.5 à 27°C

Hugh et Leifson

Peptone.....	02g
Chlorure de sodium.....	05g
Hydrogénophosphate de potassium.....	0,3g
Glucose.....	10g
Bleu de bromothymol.....	0,03g
Eau distillée.....	1L

PH = 7,2

Levane :

Extrait de levure.....	2g/l
Peptone.....	5g/l
Na Cl	5g/l
Saccharose.....	50g/l
Gélose.....	20g/l
Eau distillée.....	1L

Ph : 7.0-7.2.

Arginine :

Peptone	1g/l
Sodium chloride.....	5 g/l
Dipotassium hydrogen phosph.....	0.3g/l
L-Arginine	10. g/l
Rouge de phenol.....	0.016g/l
Agar.....	3. 0g/l
Eau distillée.....	1l