



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



Université Amar Telidji- Laghouat

**FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES**

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par Moussai Nesrine

**DOMAINE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)
FILIERE DES SCIENCES AGRONOMIQUES
OPTION DES PROTECTION DES VEGETAUX ET
L'ENVIRONNEMENT**

Thème

Identification de quelques bactéries issues des galles
d'olivier au niveau de la région de Djelfa

Jury de soutenance :

AIT SALAH Boubekour
AMEUR Djamila
ZAZA Messaouda

Président
Examineur
Rapporteuse

Promotion : Juin - 2016

REMERCIEMENTS

Avant tout je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donnés le courage, la volonté, la patience, et la santé durant toutes ces années et que grâce à lui ce travail a pu être réalisé.

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude à **Mlle. zaza masaouda** d'avoir proposé le sujet sur lequel j'ai travaillé, et qui a assuré la direction et l'encadrement du travail présenté dans ce mémoire.*

Je tiens tout d'abord à exprimer mes reconnaissances envers les membres du jury, dont la renommée et la qualité scientifique honore grandement ce travail :

***Mr Ait Salah** qui a bien accepté de présider le Jury de ce mémoire, **Mlle Ameur D.** pour m'avoir fait l'honneur d'être examinateurs de ce travail.*

*J'adresse mes vifs remerciements aux membres et personnels de laboratoire, **Taibi Halima, Renan Zohra, Latrache aicha, Othmani Reguia, Ben Brika Fatim, Neia Chahra, Ben Djerba Nedjwa, Nagaz Mahjouba**, pour leur aide et soutien morale.*

*Enfin, je tiens à remercier vivement mes amis **Nassima, zainbe, chahira et nour Houda** pour leur disponibilité, leurs encouragements durant toutes les phases de l'étude et leurs conseils qui m'ont beaucoup soutenu tout au long de ce travail pratique, Qu'il prouve ici notre plus grande reconnaissance.*

DEDICACES

A mes très chers parents

A mes soeurs : Ibtissam, Safa, Feryal.

A mon frère : Mouhammed.

A tous ceux qui m'ont aidé dans mes études

A tous mes proches, mes amis et tous ceux qui m'aiment.

Résumé

L'olivier (*Olea europea*), l'arbre millénaire du bassin Méditerranéen, et qui existe depuis l'antiquité et jusqu'aujourd'hui. Parmi les maladies qui peuvent attaquer cet arbre est la tuberculose d'olivier avec un agent causal connu sous le nom de *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* capable de provoquer des tumeurs typiques.

Le dénombrement sur les deux milieux de culture King B et LPGA montre que le taux de *pseudomonas* par rapport à la flore totale est entre 10 et 30 %. Les tests biochimiques et physiologiques ont été réalisés sur 36 isolats. Ces souches ont été isolées à partir des tumeurs collectées dans une oliverie située dans la région d'Ain El Ibel à Djelfa. Les résultats ont montré que sont des bactéries bacilles à Gram négatif, aérobies strict et fluorescentes sur le milieu King B. Pour l'ensemble du test LOPAT, le test levane est négatif, l'oxydase est négatif et le pectinase est négatif. Le test d'hypersensibilité n'a pas été réalisé par manque des plantules de Tabac. L'apparition des tumeurs typiques pour 11 isolats, identiques à ceux d'isolement confirment que ces souches sont des *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi*.

Mots clés : *Olea europea*, *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi*, coloration de Gram, test LOPAT, test de pathogénicité.

Abstract

The olive tree (*Olea europea*), the ancient tree of the Mediterranean basin, which existed since ancient times and until today. Among the diseases that can attack this tree is tuberculosis of olive with a causative agent known as *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* capable of causing the typical tumors.

Counting on both King B Culture Media and LPGA shows that *Pseudomonas* rate compared to the total flora is between 10 and 30%. We conducted the biochemical and physiological tests of 36 isolates. These strains were isolated from the tumors collected from an oliverie located in the region of Ain El Ibel in Djelfa. The results showed that bacilli are Gram negative, strictly aerobic and fluorescent in the middle B. King Lopat For the entire test; we confirmed that levan are negative, oxidase are negative, pectinase are negative and the test of hypersensitivity has not been realized by lack of Tobacco seedlings. The appearance of tumors typical for 11 isolates identical to those isolated confirm that these strains are *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi*.

Keywords: *Olea europea*, *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi*, Gram stain, Lopat test, pathogenicity test.

المخلص

شجرة الزيتون (*Olea europea*)، الشجرة القديمة في حوض البحر الأبيض المتوسط، التي كانت موجودة منذ العصور القديمة وحتى اليوم. ومن بين الأمراض التي يمكن أن تهاجم هذه الشجرة هو مرض tuberculose d'olivier العامل المسبب المعروف باسم *Pseudomonas savastanoi savastanoi* قادرة على التسبب في الأورام نموذجية.

الإحصاء الذي قمنا به في الوسطين الغذائيين King B و LPGA حول كمية *Pseudomonas* الموجودة هي ما بين 10 و 30%. أجرينا الاختبارات البيوكيميائية والفسولوجية على 36 عزلة. تم عزل هذه السلالات من الأورام التي تم جمعها من

منطقة عين إبل في الجلفة. وأظهرت النتائج أنها سلبية الغرام، الهوائية بدقة ومشعة في الوسط الغذائي King B اختبار LOPAT، أكد لنا أن Levane سلبي، Oxydase سلبي، Pectinase سلبي واختبار فرط الحساسية لم يتحقق بسبب نقص شتلات التبغ.

ظهور أورام نموذجية بعد شهرين مماثلة لتلك التي قمنا منها بعملية العزل تأكيد عن أن هذه السلالات هي .

Pseudomonas savastanoi pv savastanoi

الكلمات الدالة: *Olea europea* , *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* سلبيية لبغرام , اختبار LOPAT اختبار المرض

Liste des figures

N° Figure	Titre	Page
Figure 01	<i>Olea europaea L.</i>	06
Figure 02	La distribution géographique de l'olivier dans le bassin méditerranéen.	07
Figure 03	Les superficies des oliviers dans le monde.	07
Figure 04	Cycle de développement de l'olivier.	12
Figure 05	Les principaux pays producteurs en 2005.	13
Figure 06	la galle d'olivier.	20
Figure 07	Cycle de vie de la tuberculose d'olivier.	22
Figure 08	Isolement, purification et conservation des bactéries.	31
Figure 09	Le protocole pratique de la coloration de Gram.	33
Figure 10	Le taux de <i>Pseudomonas</i> par rapport à la flore totale pour l'échantillon E ₁ .	37
Figure 11	Le taux de <i>Pseudomonas</i> par rapport à la flore totale pour l'échantillon E ₂ .	38
Figure 12	Le taux de <i>Pseudomonas</i> par rapport à la flore totale pour l'échantillon E ₃ .	38
Figure 13	Isolat pure.	39
Figure 14	Observation microscopique (Grandissement X100) après coloration de Gram.	40
Figure 15	Résultat de test oxydation / fermentation.	41
Figure 16	Résultat du test levane.	44
Figure 17	Résultat du test pectinase.	44
Figure 18	Résultat du test arginine.	45
Figure 19	Résultat du test de pathogénicité (formation de la galle d'olivier).	48

Liste des tableaux

N° Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Les résultats des tests préliminaires.	42
Tableau 02	Résultat du test LOPAT.	46

Liste des abréviations

LPGA :	Extrait de Levure, Peptone. Glucose. Agar.
AIA :	Acide indole-3-acétique.
KB :	King B.
KOH :	Hydroxyde de potassium.
CFU :	Unité formant une colonie bactérienne.
MIN :	Minute.
mm :	Millimètre.
cm :	Centimètre.
PH :	Potentiel d'hydrate.
Kg :	Kilogramme.
t :	Tonne.
FNRDA :	Fonds National de Régularisation et Développement Agricole.
UE :	Union Européenne

Table des matières

Résumé	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III
Liste d'abréviations.....	IV
Introduction	1

Généralité sur l'olivier

1. Généralité sur l'olivier	3
1.1.Origine et expansion de l'olivier.....	3
1.2.Classification botanique de l'Olivier.....	3
1.3.Description botanique de l'Olivier.....	4
1.3.1. Le système racinaire.....	4
1.3.2. Les rameaux	5
1.3.3. Les feuilles.....	5
1.3.4. Les inflorescences.....	5
1.3.5. Les fruits	5
1.4.Ecologie.....	6
1.5.Distribution géographique de l'olivier.....	6
1.6.L'oléiculture en Algérie.....	8
1.6.1. Structure de la surface oléicole.....	8
1.6.2. La structure variétale de l'olivier en Algérie.....	8
1.6.3. Production.....	9
1.6.4. Consommation.....	9
1.7.Exigences édaphoclimatiques	10
1.7.1. Température.....	10
1.7.2. Pluviométrie.....	10
1.7.3. Sol.....	10
1.8.Cycle de développement de l'olivier.....	11
1.9.Impact économique	13
1.10. Les maladies de l'olivier.....	14
1.10.1. Les fumagines	14
1.10.2. La verticilliose.....	14
1.10.3. La tuberculose de l'olivier.....	15
1.10.4. Maladie de l'œil de paon ou tavelure de l'olivier.....	15

1.11. L'huile d'olive.....	15
1.11.1. Production de l'huile d'olive.....	16
1.11.2. Transformation et commercialisation de l'huile d'olive.....	16

La tuberculose d'olivier

1. La tuberculose d'olivier	17
1.1. Historique	17
1.2. Taxonomie.....	17
1.2.1. Statut taxonomique	18
1.3. Propriétés microbiologiques	18
1.4. La gamme d'hôtes	19
1.5. Isolement de l'agent pathogène	19
1.6. Symptômes.....	19
1.7. Cycle de vie	20
1.8. Processus d'infection	23
1.9. Bactéries associés à la tuberculose d'olivier	23
1.10. Epidémiologie	24
1.11. Impact économique	24
1.12. La lutte	25
1.12.1. La lutte préventive	25
1.12.1.1. La taille	25
1.12.1.2. L'utilisation de cultivars résistants	
1.12.2. La lutte chimique	26
1.12.3. La lutte biologique	27
1.12.4. La lutte intégrée	28

Matériel et méthodes

1. Prospection sur terrain.....	29
2. Echantillonnage et isolement à partir des tumeurs.....	29
2.1. Origine de la matière végétale.....	29
2.2. Isolement	29
2.3. Dénombrement des bactéries	30

2.4.	La sélection et purification.....	30
3.	Identification des isolats	32
3.1.	La fluorescence.....	32
3.2.	Tests biochimique et physiologique	32
3.2.1.	Coloration de Gram.....	32
3.2.2.	Test KOH.....	33
3.2.3.	Test Oxydation/ Fermentation.....	34
3.2.4.	Test LOPAT	34
3.2.4.1.	Test de l'oxydase	34
3.2.4.2.	Test pectinase	34
3.2.4.3.	Production de levane sucrase.....	35
3.2.4.4.	Test d'arginine	35
3.2.4.5.	Le teste d'hypersensibilité sur les feuilles de tabac.....	35
3.3.	Test de pathogénicité.....	36

Résultats et discussion

1.	Les résultats.....	37
1.1.	Isolement.....	37
1.2.	Dénombrement bactérien.....	37
1.3.	Caractérisation morphologique des <i>Pseudomonas</i>	39
1.4.	Test de Gram.....	39
1.4.1.	Test de KOH.....	40
1.4.2.	La coloration de Gram.....	40
1.5.	Test Oxydation/ fermentation.....	40
1.6.	Test de LOPAT.....	43
1.6.1.	Teste d'oxydase.....	43
1.6.2.	Test levane.....	43
1.6.3.	Test pectinase.....	44
1.6.4.	Test arginine dihydrolase	44
1.7.	Test de pathogénicité	48
2.	Discutions.....	48
	Conclusion.....	54
	Références bibliographiques.....	56
	Annexes.....	66

Introduction

Introduction :

Les bactéries pathogènes des plantes représentent un groupe relativement restreint de micro-organismes qui, dans des circonstances particulières, présentent un fort impact social à travers la destruction des plantes cultivées, déterminant ainsi les pertes économiques pertinentes. Certaines de ces bactéries sont distribuées dans le monde entier, tandis que d'autres sont plus limitées à des zones de culture et, en fonction des facteurs climatiques, agronomiques, et ou édaphiques, ces bactéries peuvent causer chaque année des épidémies récurrentes (Agrios, 2005). Compte tenu de leurs relations avec les plantes hôtes, certaines bactéries pathogènes de plantes sont considérées comme des généralistes qui causent la maladie dans plusieurs ou de nombreuses plantes cultivées, tandis que d'autres sont considérées comme des spécialistes. Les spécialistes sont capables de surmonter les barrières de défense des plantes et d'inciter les symptômes à une ou quelques cultures et sont définis comme pathovars (Scortichini *et al.*, 2014).

Les *Pseudomonas* forment un large groupe colonisant le sol, les plantes et l'eau. Ces bactéries Gram négatives, non sporulantes, sont des aérobies obligatoires, à l'exception de certaines pouvant utiliser le NO₃ comme accepteur d'électrons. Leur mobilité est assurée par plusieurs flagelles polaires, et elles ont un métabolisme mésophile et chimio-organothorphe, la plupart étant saprophytes (Bossis *et al.*, 2000). Quelques espèces comme *P. syringae*, sont phytopathogènes et certaines peuvent causer des infections chez l'humain. Particulièrement *P. aeruginosa*, reconnu comme pathogène opportuniste et causant des infections pulmonaires mortelles chez les patients atteints de fibrose kystique (Mavrodi *et al.*, 2001).

L'évolution des processus de classification, l'identification et la nomenclature des *Pseudomonas syringae* ont été décrites dans une revue publiée par Young en (2010). Selon le même auteur, dans la révision des noms bactériens en 1980, *Pseudomonas syringae* est devenue l'espèce qui représente une population de pathogène spécifique de plus de 40 hôtes. Répartie en différents pathovars. Des études basées sur des hybridations ADN-ADN indiquent que *P. syringae* est un complexe qui englobe maintenant jusqu'à dix espèces de *Pseudomonas* et 60 pathovars de *P. syringae* (Young, 2010). Dont la plupart attaquent différents hôtes. Ces *Pseudomonas* sont distribués dans le monde entier et provoquent des maladies sur la plupart des plantes supérieures (Schroth *et al.*, 2006).

Parmi ces plantes supérieures, l'olivier. Cette arbre apparaît donc dans la plupart des civilisations comme un symbole de paix, de sagesse et d'abondance et il n'y a rien d'étonnant à

ce que le produit de cet arbre légendaire, cette huile aux milles vertus, se soit forgé une telle renommée depuis cinq mille ans (Maillard, 1975).

L'olivier présente une remarquable rusticité et une plasticité lui permettant de produire dans des conditions difficiles (adaptation à une large gamme de sol et une insuffisance de l'irrigation), mais sa productivité reste toujours limitée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques. Les problèmes phytosanitaires de l'olivier constituent le facteur principal de la faible productivité de cette culture. Beaucoup des ravageurs et des agents pathogènes peuvent être à l'origine de ces problèmes et parmi les maladies bactériennes les plus dommageables ; la tuberculose d'olivier (Qessada *et al.*, 2012).

La tuberculose d'olivier est considérée comme l'une des maladies les plus graves qui touchent l'olivier (*Olea europaea L.*) dans la plupart des régions oléicoles de plus en plus dans le monde et principalement dans les pays méditerranéens, où cette culture a été en croissance pendant des siècles. La maladie peut conduire à des graves dommages dans les oliveries, causant de graves pertes en termes de production. L'agent causal de cette maladie est *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi*, cette espèce provoque la formation des galles sur les troncs, les tiges et moins fréquemment sur les feuilles (Qessada *et al.*, 2012).

L'objectif de ce travail est d'identifier l'agent causal responsable des tumeurs semblables à celle de la tuberculose d'olivier observées dans une oliverie à Ain El Ibel à Djelfa, de savoir leur caractéristiques biochimiques et physiologiques ainsi leur pathogénicité sur l'olivier.

Le présent travail s'articule autour de trois chapitres dont le premier concerne la recherche bibliographique sur l'Olivier, la tuberculose d'olivier et son agent causal, le deuxième chapitre rassemble la présentation des différents matériels et méthodes utilisés pour la réalisation de notre expérimentation. Les résultats obtenus et la discussion sont rassemblés dans le troisième chapitre. La présente étude est clôturée par une conclusion.

Synthèse bibliographique

1. Généralité sur l'olivier :

1.1. Origine et expansion de l'olivier :

Les premières traces que l'on a de cet arbre datent de 37 000 ans avant Jésus Christ, sur des feuilles fossilisées découvertes dans les îles de Santorin, en Grèce. Bien que les historiens et les archéologues ne soient pas unanimes sur le pays d'origine de l'olivier, cet arbre a incontestablement trouvé en Méditerranée des conditions naturelles, principalement climatiques, auxquelles il s'est parfaitement adapté. A partir du VI^{ème} siècle avant J-C, sa culture s'est étendue à tout le bassin méditerranéen en passant par la Lybie, la Tunisie, la Sicile puis en Italie (Viola, 1998).

Peu de documents historiques sont disponibles pour la période du Moyen âge. Toutefois, on sait que l'huile était encore employée pour l'hygiène corporelle, les besoins du culte et les usages domestiques (Scotto, 1995). La culture de l'olivier fait un bond en dehors du bassin méditerranéen avec la découverte de l'Amérique. Au XVI^{ème} siècle, conséquence des grandes expéditions maritimes parties d'Espagne et du Portugal en direction du Nouveau Monde, l'olivier est introduit en Amérique centrale, au Pérou, au Chili, en Argentine, puis au XVIII^{ème} siècle en Californie. Enfin, l'olivier a poursuivi son expansion au-delà de la méditerranée, s'implantant en Afrique de Sud, en Australie, en Chine et au Japon (Douat, 1998). Mais jamais l'olivier ne poussera aussi bien que sur sa terre de prédilection, la méditerranée : «Là où l'olivier renonce, s'achève la méditerranée (Scotto, 1995).

1.2. Classification botanique de l'Olivier :

L'olivier est classé dans la famille des Oléacées qui comprend, entre autre, les lilas (*Syringia*), les troènes (*Ligustrum*), les frênes (*Fraxinus*) ainsi que plusieurs arbustes comme les forsythias et les jasmins. Le genre est appelé *oléa* et comporte 30 espèces différentes réparties à la surface du globe (Moreaux, 1997).

L'espèce cultivée dans le monde méditerranéen est *Oléa europaea* qui provient de l'*oléastreou* appelé également l'olivier sauvage. Elle comporte plusieurs variétés qui donnent des olives de formes et de goûts divers. Un des oliviers cultivés à partir de cette espèce sauvage est nommé *Oléa europaea ssp. Sativa* (Moreaux, 1997).

L'olivier (*Olea europaea L.*), espèce caractéristique du paysage méditerranéen, compte de nombreuses variétés ayant une diversité phénotypique importante. Les origines de ses variétés demeurent imprécises. Divers travaux ont suggéré que l'inter-fertilité entre les formes cultivées et/ou les formes sauvages étaient à l'origine de la diversification de l'olivier

cultivé. Plus récemment, en Andalousie, Barranco et Rallo (1984) ont inventorié et identifié 156 variétés sur la base d'un schéma pomologique incluant un grand nombre de caractères relatifs à l'arbre, au rameau fructifère, au fruit, à l'inflorescence, à la feuille et à l'endocarpe (Bari *et al.*, 2002). La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon Cronquist (1981) est la suivante :

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Scrophulariales*

Famille : *Oleaceae*

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea L.*

Subespèce : *Olea europaea L. subsp. sativa*

Olea europaea L. subsp. Oleaster (Bartolini et Petruccelli, 2002).

1.3. Description botanique de l'Olivier :

L'olivier (*Olea europaea L.*) est une espèce à croissance lente et très longue durée de vie, avec une espérance de vie jusqu'à 1000 ans (Maldonado *et al.*, 2016). Le tronc pouvait avoir de 09 à 12 m d'élévation, et de 90 à 130 cm de diamètre (Moquin-Tandon, 1861).

1.3.1. Le système racinaire :

D'après Maillard (1975) Le système racinaire s'adapte à la structure des sols et n'émet des racines profondes que si les conditions d'alimentation sont difficiles. Il reste généralement, à une profondeur de 50 à 70 cm. Ce système racinaire de l'Olivier forme sous le tronc une souche ligneuse très importante dans laquelle s'accumulent des réserves, surtout si les conditions de son alimentation sont difficiles.

1.3.2. Les rameaux :

Les rameaux sont les ramifications de la tige principale de l'arbre, il est issu du développement des bourgeons depuis début printemps jusqu'à fin automne. Il porte à son extrémité un bourgeon terminal et au niveau de chaque nœud, deux feuilles opposées avec à l'aisselle de chacune un bourgeon axillaire (Moquin-Tandon, 1861).

1.3.3. Les feuilles :

Les feuilles sont épaisses, coriaces et disposées de manière opposée, légèrement aiguës, dentées, un peu convexes, d'un vert cendré, blanchâtre en dessous, coriace et persistantes (Maldonado *et al.*, 2016). Les feuilles présentent une densité stomatique élevée sur la face inférieure (4 à 5 stomates/mm²), accompagnée d'une pilosité (poils en ombelle) de 35 à 40 trichomes pelletés assurant la couverture de 100 stomates marquant le caractère xérophytique de l'olivier (Villemeur et Dosba, 1997). Les dimensions de la feuille varient de 3 à 8cm de long et 1 à 2,5cm de large (Lousert et Brousse, 1978).

1.3.4. Les inflorescences :

Les inflorescences sont en grappe axillaire, à la partie supérieure du rameaux. Chaque inflorescence contient 15-30 petites, discrètes, fleurs odorante. Cette espèce est monoïque avec des fleurs hermaphrodites, formé par un court calice segmenté en 4 et une corolle de tube court contenant 4 lobes (Martin, 2008 ; Vargas *et al.*, 2012). Etamine un peu saillantes. Ovaire globuleux, à deux loges, contenant chaque un deux ovules, surmonté d'un style court avec un stigmate allongé, un peu bifide (Moquin-Tandon, 1861).

1.3.5. Les fruits :

Le fruit est une drupe de 2 à 2.5cm de long, noir à maturité (Maldonado *et al.*, 2016). Il à une pulpe molle et charnue, il renferme un noyau très dur, à deux loges, dont une avorte le plus ordinairement (Moquin-Tandon, 1861).



Figure 01 : L'inflorescence de l'olivier (Source : Bartolini et Petruccelli, 2002).

1.4. Ecologie :

Cette espèce est un élément typique du climat thermo méditerranéen, caractérisé par des étés et des pluies chaudes et sèches, des hivers froids, ce qui correspond généralement à des côtes de la mer Méditerranée jusqu'à 200 m d'altitude. L'olivier est une espèce thermophile et est conçu pour tolérer la sécheresse et le stress de la salinité (Maldonado *et al.*, 2016).

La forme sauvage ne se développe fréquemment que l'un des constituants communs des maquis et des formations garrigues de broussailles sur les sols pauvres et les pentes. Il colonise les habitats secondaires, tels que les bords de la culture ou de vergers abandonnés, propagées par les graines d'oiseaux dispersés, mais aussi se propageant par voie végétative (Martin, 2008 ; Zohary, 2000 ; Caballero, 2008).

1.5. Distribution géographique de l'olivier :

L'olivier connaît une distribution géographique assez large due à son adaptation à toutes les conditions édaphiques et aux reliefs du sol. Cependant, la rusticité de l'olivier lui confère une certaine marginalité, car l'espèce *Olea europaea* peut bien exprimer son potentiel génétique par de hauts rendements dans des conditions très favorables (Uzzan, 1992).

Le genre *Olea* se localise dans les régions tropicales et subtropicales, principalement sur les montagnes. Il manque en Amérique. Par contre, il existe des espèces d'*Olea* en Afrique, en Asie, aux Iles Mascareignes, en Océanie et jusqu'à Nouvelle-Zélande et la Nouvelle-Calédonie. Une seule espèce l'*Olea europea* L. est cultivée sur une grande échelle

dans toute la région méditerranéenne depuis la plus haute antiquité pour l'huile fournie par ces fruits (Chevalier, 1948).

Les superficies mondiales consacrées à l'olivier (olives de table et olives à huile) se situent en 2005 au niveau de 7.5 millions d'hectares. Pour la période 1993-2005, la superficie mondiale d'olivier a augmenté au taux annuel moyen de 1.3% environ ce qui reflète globalement un intérêt croissant pour la culture d'olivier dans le monde (Allalout, 2013).

L'évolution de la superficie de l'olivier à travers le monde s'est caractérisée par L'émergence de certains pays considérés auparavant des petits producteurs (Maroc, Syrie) et l'entrée dans la production de nouveaux pays (Libye, Algérie et Croatie). L'évolution variable des nouvelles superficies d'olivier dans les pays producteurs. Ces deux phénomènes ont eu des implications sur les parts respectives des différents pays dans la production mondiale (Allalout, 2013).



Figure 02 : La distribution géographique de l'olivier dans le bassin méditerranéen (source : Argenson et al., 1999).

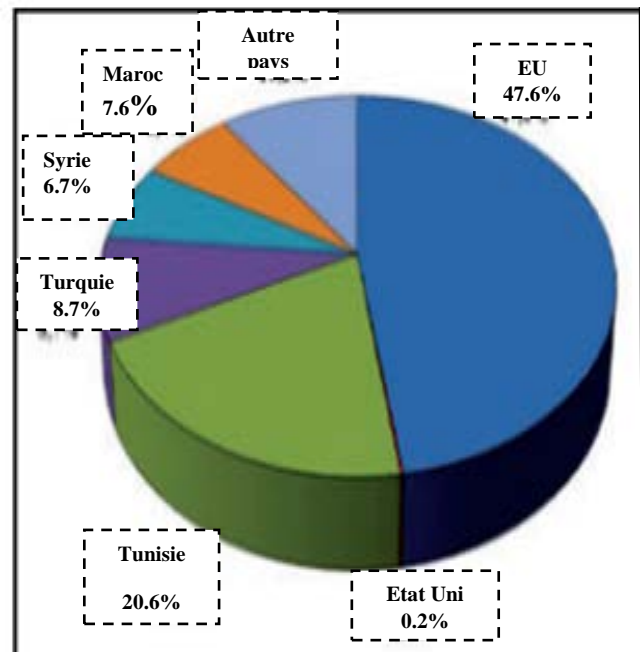


Figure 03 : Les superficies des oliviers dans le monde (source : FAO, 2005).

1.6. L'oléiculture en Algérie :

En 2000, la culture de l'olivier en Algérie occupait une superficie de 168 080 hectares de terrain, soit 33 % des 500 000 hectares de superficie arboricole nationale et 2 % des terres agricoles cultivables. La participation du secteur oléicole à la production finale agricole du pays était en moyenne de 21 % en 1999-2000. En 2010, les prévisions de superficies oléicoles portent sur 309 500 ha (Benouafa, 2011).

1.6.1. Structure de la surface oléicole :

La surface oléicole est répartie dans trois régions, le Centre, avec 54,3 % de la superficie totale ; l'Est, avec 28,3 % ; et l'Ouest, avec 17 %. La plupart des oliveraies (80 %) sont situées dans des zones de montagne, sur des terrains accidentés et marginaux, peu fertiles et caractérisés par une pluviométrie moyenne comprise entre 400 et 900 mm/an. Le reste des oliveraies (20 %) sont situées dans les plaines occidentales du pays, où la pluviométrie moyenne annuelle est de 300-400 mm (Benouafa, 2011).

L'analyse des données statistiques de la superficie oléicole de la dernière décennie (1990/99) montre que la surface plantée a enregistré une baisse continue entre 1990 et 1995 en raison principalement de l'absence de soutien de l'État. La restructuration du secteur agricole en 1997 a permis d'augmenter de nouveau les surfaces oléicoles. Cette tendance s'est confirmée avec la relance du Plan National de Développement Agricole en 2000 et grâce au financement du secteur par le Fonds National de Régularisation et Développement Agricole (FNRDA) (Benouafa, 2011).

Sept pour cent des oliviers sont âgés de moins de 5 ans, 11 % ont entre 5 et 15 ans et 39 % sont âgés de 16 à 50 ans et se trouvent en pleine production. Enfin, 43 % ont plus de 50 ans. En 2006, 79 % de la superficie oléicole était destinée aux oliviers à huile et les 21 % restants aux oliviers à fruits de table (Benouafa, 2011).

1.6.2. La structure variétale de l'olivier en Algérie :

Selon Belhouha (2015) l'oléiculture algérienne est caractérisée par une large gamme de variétés. Parmi les variétés les plus cultivées nous pouvons citer :

- **La variété Sigoise :** Elle est cultivée dans l'Ouest Algérien depuis Oued Rhiou jusqu'à Tlemcen mais principalement dans la plaine de Sig (Mascara). Elle présente 20% des

Oliviers cultivées en Algérie dont le rendement en huile varie de 18 à 20 %.

- **La variété Chemlal** : Elle est dominante en Kabylie. Elle présente 40 % de l'oléiculture Algérienne, son rendement en huile est de 14 % à 16 %. Elle est considérée comme étant bonne productrice d'huile de bonne qualité.

- **La variété Sévillane ou Gordal** : Originaire de l'Espagne, cette variété est localisée dans la plaine sublittoral Oranaise.

- **La variété Limli** : C'est une bonne variété à huile, localisé uniquement dans la vallée de la Soummam.

- **La variété Azéradj** : Elle est rencontrée dans la petite Kabylie, elle représente 5 % des oliviers et le rendement à huile est d'environ 15 %.

- **La Blanquette** : Elle est cultivée dans le Constantinois et son huile est fort, très recherchée sur le marché.

1.6.3. Production :

La production a enregistré des fluctuations importantes en raison de la sécheresse persistante dont notre pays, il a souffert au cours de la décennie passée et du phénomène de l'alternance de l'olivier.

En 2003/2004, la production a atteint de 69 500 t, au cours des dernières années, le rendement moyen (en litre d'huile/100 kg d'olives) a été de 17 %. La variété, mais aussi les conditions climatiques (la pluviométrie en particulier), influence fortement le rendement des diverses régions oléicoles, qui varie entre 17 % et 24 % (Benouafa, 2011).

La production d'olives de table a oscillé entre 8 000 t en 1994/95 et 63 500 durant la période 1994/95 au cours de la campagne 2002/03, avec une moyenne de 15 400 t au cours de la période 1993/94 – 1998/99 et une moyenne de 51 600 t au cours de la période 2000/01 – 2003/04. La tendance annuelle est à la hausse puisque l'estimation de la production des dernières campagnes 2005/06 et 2006/07 est d'environ 80 000 t (Benouafa, 2011).

1.6.4. Consommation :

L'huile d'olive est consommée pratiquement dans sa totalité dans les zones de production. La consommation par habitant est passée d'une moyenne de 0,85 kg au cours des années 80 et 90 à 1,43 kg en 2000 et 1,53 kg en 2004, soit une augmentation de 80 %. L'autoconsommation dans les zones traditionnelles est très forte. La moyenne de consommation actuelle (2000/01 – 2003/04) est de 33 000 t avec un maximum en 2003/04, grâce à une excellente récolte (Benouafa, 2011).

1.7. Exigences édaphoclimatiques :

1.7.1. Température :

L'olivier résiste jusqu'à 8 à 10 °C en repos végétatif hivernal. Mais à 0 à 1 °C, les dégâts peuvent être très importants sur la floraison (Waladi *et al.*, 2003). L'olivier est une espèce thermophile et est adapté à tolérer la sécheresse, à une température de 35 à 38 °C (Maldonado *et al.*, 2016), la croissance végétative s'arrête à 40 °C et plus, des brûlures endommagent l'appareil foliacé et peuvent faire chuter les fruits, surtout si l'irrigation est insuffisante (Waladi *et al.*, 2003).

1.7.2. Pluviométrie :

Avec 600 mm de pluie bien répartis, l'olivier végète et produit normalement. Entre 450 et 600 mm, la production est possible à condition que les capacités de rétention en eau du sol soient suffisantes (sol profond argilo-limoneux). Avec une pluviométrie inférieure à 200 mm, l'oléiculture est économiquement non rentable. Les vents chauds au cours de la floraison, les brouillards et les fortes hygrométries, la grêle et les gelées printanières sont aussi de facteurs défavorables à la floraison et la fructification (Waladi *et al.*, 2003).

1.7.3. Sol :

La faculté d'adaptation de l'Olivier aux différents types de sol est grande, mais les sols fortement argileux, compactes et humides, sont à écarter des plantations. Les sols ne dépassants pas 30% d'argile avec une structure grossière et non fine ou compacte son installation est possible mais demande beaucoup de soin en particulier durant la saison sèche, pour éviter les craquellements du sol. Les sols calcaires jusqu'à un pH = 8 peuvent lui convenir, par contre les sols acides avec un pH = 5,5 sont à éviter. Ce qui concerne la teneur en sel des eaux d'irrigation la tolérance peut atteindre 3 g/L en résidus secs, pour une pluviométrie égale ou supérieure à 500 mm et de 1 g/L pour une pluviométrie inférieure à 500 mm, ce qui permet d'assurer le lessivage en absence d'irrigation (Chevalier, 1948).

1.8. Cycle de développement de l'olivier :

Le cycle de développement de l'olivier est bisannuel, se compose d'une séquence végétative et d'une séquence fructifère se succédant dans le temps, mais toutes les deux sont présentes sur le même arbre.

Au cours d'une année N, deux cycles biologiques consécutifs se superposent :

- Au printemps, la différenciation florale et la floraison du cycle N-1 ont lieu en même temps que la phase de croissance végétative du cycle N,
- Au début de l'été, la nouaison et la croissance des jeunes fruits de l'année N-1 se produit en même temps que l'induction florale du cycle N.
- A l'automne et en hiver, la fin de la croissance et de la maturation des fruits du cycle N-1 a lieu en même temps que la deuxième vague de croissance végétative et l'initiation florale du cycle N.

De ce fait, une compétition importante pour les éléments nutritifs aura lieu entre la fonction de reproduction végétative et la fonction de reproduction. Cela explique en grande partie les fluctuations annuelles de production, avec une alternance de production forte et faible, régulièrement observée (Bervillé et Breton, 2012).

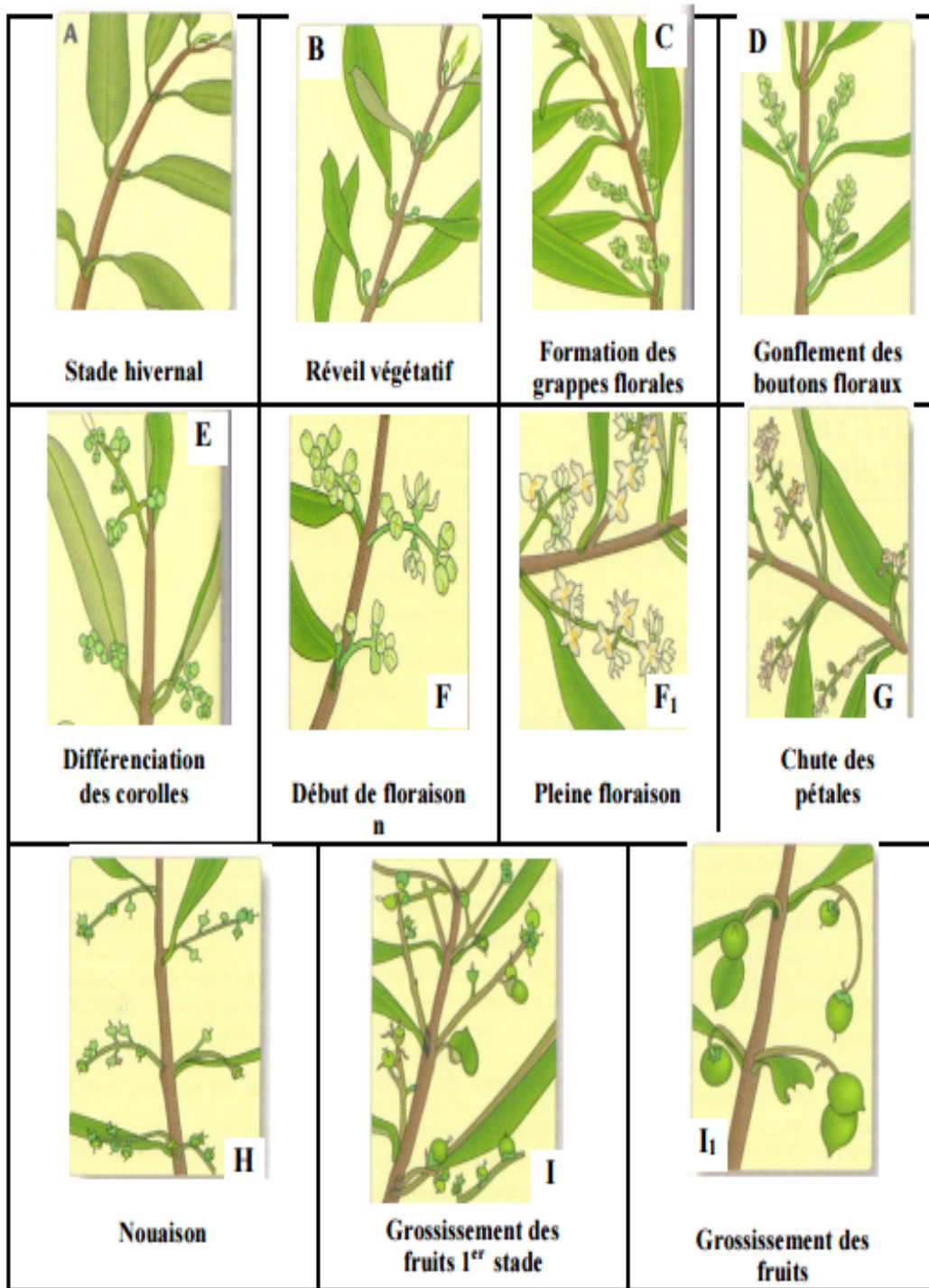


Figure 04 : Cycle de développement de l'olivier (Argenson et *al.*, 1999).

1.9. Impact économique :

L'impact économique de la production oléicole connaît un nouveau souffle depuis une trentaine d'année, car sa culture a été encouragée et ses produits valorisés. La qualité des produits oléicoles est donc un élément majeur du succès de cet arbre dans de nombreux pays du bassin méditerranéen (Bervillé et Breton, 2012).

La production mondiale est estimée à 14.9 millions de tonnes d'olives avec un rendement de 20 quintaux/ ha. Sur la période 2000-2006, la production mondiale moyenne annuelle s'élève à 2 778 800 tonnes d'huile d'olive et à 1 638 300 tonnes d'olives de table (Allalout, 2013).

L'oléiculture occupe ainsi une part très importante dans l'économie agricole de certains pays méditerranéens et la tendance de la consommation mondiale est à la hausse. Les quatre premiers pays producteurs (Espagne, Italie, Grèce et Turquie) assurent 80% de la production mondiale d'olives et les dix premiers, tous situés dans la zone méditerranéenne (Allalout, 2013).

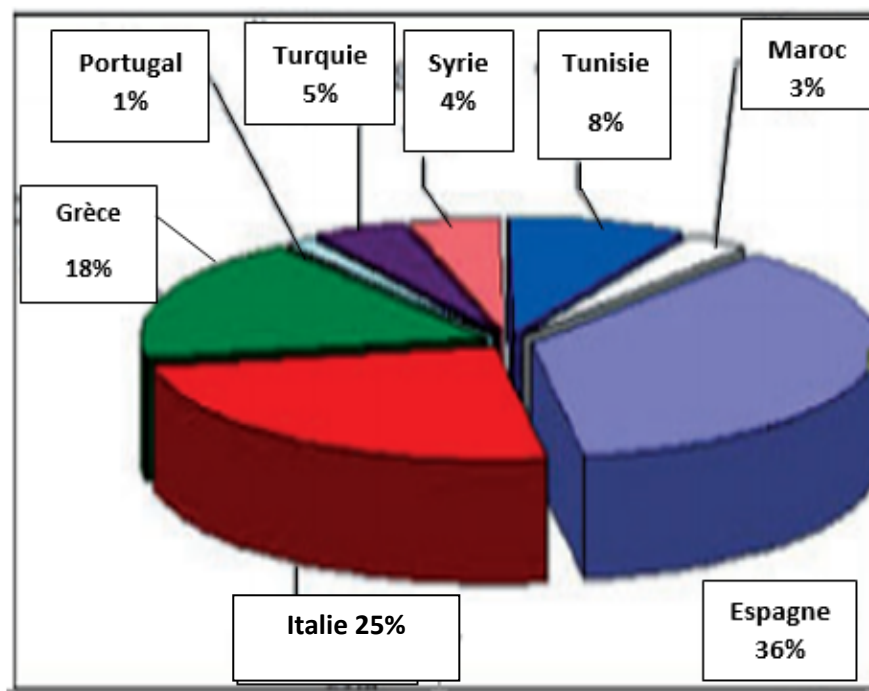


Figure 05 : Les principaux pays producteurs en 2005 (Source : Allalout, 2013).

1.10. Les maladies de l'olivier :

1.10.1. Les fumagines :

Les fumagines recouvrent les branches, rameaux et feuilles de l'olivier d'une couche noire. Il s'agit d'un ensemble de champignons microscopiques qui poussent en saprophytes sur le miellat de cochenilles. Plusieurs organismes contribuent à former cette couche noire (Bervillé et Breton, 2012).

Le genre *Fumago*, qui a donné son nom au symptôme, est rarement présent. On trouve essentiellement *Alternaria*, *Stemphylium*, *Cladosporium*... La défoliation généralement importante associée à la couche noire de fumagines est l'œuvre exclusive des cochenilles. Ce sont ces dernières qu'il convient de combattre (Bervillé et Breton, 2012).

1.10.2. La verticilliose :

La verticilliose est due à *Verticillium dahliae*. La maladie est très répandue dans les vergers modernes en particulier sur les jeunes arbres placés dans les meilleures conditions possibles de croissance et qui, en manifeste généralement au printemps et se traduit par des dessèchements brusques de rameaux entiers, quelquefois par la mort de jeunes oliviers (Bervillé et Breton, 2012).

Les symptômes s'expliquent par l'envahissement des faisceaux vasculaires par *V. dahliae* suite à l'infection de racines par un inoculum constitué de microsclérotés conservés dans le sol et qui germent lorsque les racines de l'arbre arrivent à leur voisinage (Bervillé et Breton, 2012).

Pour une coupe transversale de la tige, on observe un brunissement au niveau des faisceaux vasculaires. Les cultures précédentes, surtout les cultures maraichères, ou des mauvaises herbes sont à l'origine de cet inoculum car le parasite n'est pas spécifique de l'olivier (Bervillé et Breton, 2012).

Comme pour la plupart des maladies conservées dans le sol, les moyens de lutte sont limités. Des différences de sensibilité sont signalées entre variétés d'olivier n'ont pas encore été exploitées. Les monocotylédones n'hébergent pas *V. dahliae*, ce qui théoriquement du moins, pourrait être mis à profit, lorsque la situation s'y prête, dans la préparation d'une parcelle avant plantation (Bervillé et Breton, 2012).

1.10.3. La tuberculose de l'olivier :

En anglais, Olive knot est une bactériose due à *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*. Son diagnostic au champ est simple car l'infection se traduit par des tubercules, c'est-à-dire des tumeurs plus ou moins globulaires. De taille généralement comprise entre un et cinq centimètres de diamètre en corrélation avec la taille de l'organe atteint (tronc, branche ou feuille). Les arbres attaqués ne meurent pas mais sont affaiblis par la maladie. L'agent pathogène est présent au niveau des tumeurs et chaque épisode pluvieux est pour lui une occasion de dissémination (Bervillé et Breton, 2012).

1.10.4. Maladie de l'œil de paon ou tavelure de l'olivier :

En anglais, olive scab. La maladie est répandue sur toute l'aire de culture de l'olivier. Elle est causée par *Spilocaea oleaginea*, décrit sous le nom de *Cyloconium oleaginum* par Castagne (Therios, 2008).

Les symptômes observés le plus souvent sur les surfaces supérieures des feuilles. La tache provoque une dégradation cutine, apparaissant sur les feuilles sous forme de marbrures fuligineuses ayant un diamètre de 2-6 mm. La couleur de ces taches change vers le vert et plus tard au noir avec un halo jaune, donnant l'apparence de la tâche comme l'œil sur la queue des plumes du paon (Therios, 2008).

1.11. L'huile d'olive :

L'huile d'olive est un produit très polyvalent. Connue de longue date dans le bassin méditerranéen, où de nombreuses générations lui ont trouvé des vertus incomparables dans les domaines de la santé et de l'alimentation, elle est aujourd'hui largement appréciée dans le monde pour ses qualités nutritionnelles et ses effets bénéfiques sur la santé humaine (Therios, 2008).

La qualité de l'huile d'olive varie non seulement en fonction de la variété, du sol et des conditions climatiques mais également avec de nombreux facteurs ayant trait au cycle de production, de transformation et de commercialisation des olives et des huiles (Bervillé et Breton, 2012).

1.11.1. Production de l'huile d'olive :

La production d'huile d'olive se concentre principalement dans les pays du pourtour méditerranéen : Espagne, Italie, Grèce, Turquie, Syrie, Tunisie et Maroc. La production de ces pays représente 94% de la production mondiale. En 2001, la production mondiale atteignait les 2.5 millions de tonnes. Les pays producteurs sont aussi généralement les principaux pays consommateurs (Allalout, 2013).

1.11.2. Transformation et commercialisation de l'huile d'olive :

Les huiles d'olive destinées à la consommation sont les huiles d'olive vierge, l'huile d'olive et l'huile de grignons d'olive. On désigne par huile d'olive vierge toute huile extraite du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques et dans des conditions, notamment thermiques, n'entraînant pas l'altération de l'huile. A l'exception des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature, l'huile d'olive vierge ne doit avoir subi aucun autre traitement que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (Pagnol, 1999).

2. La tuberculose d'olivier :

2.1. Historique :

Pseudomonas savastanoi pv *savastanoi* (Gardan *et al.*, 1992) est l'agent causal de la maladie de la galle d'olivier. Il est considéré comme l'une des maladies les plus graves qui touchent les oliviers (*Olea europaea* L.) dans la plupart des régions oléicoles de plus en plus dans le monde et principalement dans les pays méditerranéens, où cette culture a été en croissance pendant des siècles (Quesada *et al.*, 2012).

Les excroissances sur olivier sont connues depuis le temps du philosophe grec Theophrastus (300 ans A.J.) (Surico, 1988) alors que les premières observations rapportées sur cette maladie remontent au début du XXe siècle (Smith et Rorer, 1904).

La bactérie a été isolée pour la première fois en Italie par Luigi Savastano en 1878 et nommé *Bacillus oleaetuberculosis*, ensuite elle a été appelé *Bacterium savastanoi* par Smith en 1908 (Scortichini, 2004). Décrite par Smith en 1911 et introduite plus tard dans le genre *Pseudomonas* par Stevens en 1913. Elle a été incluse dans la nomenclature de Young *et al.* en 1978 et a été renommé récemment par Gardan *et al.* En 1992 comme *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* (Benjama, 1995).

2.2. Taxonomie :

Dans la liste approuvée des noms des bactéries pathogènes de plantes "1864-1995" l'agent pathogène de l'olivier a été affilié au rang de l'espèce, *Pseudomonas savastanoi*, (Young *et al.*, 1996) avec un certain nombre de *pathovars* : *savastanoi*, *phaseolicola*, *glycinea*, *fraxini* et *nerii* puisque la bactérie infecte aussi d'autres hôtes, notamment oleander (*Nerium oleander*), le frêne (*Fraxinus excelsior*), et le troène (*Ligustrum japonicum*), sur laquelle elle provoque des maladies similaires à la tuberculose de l'olivier. Les isolats de ces différentes plantes hôtes ont été classés parfois ensemble et parfois séparément, comme différentes espèces ou *pathovars* (Young *et al.*, 1978, Skerman *et al.*, 1980 ; Janse, 1981 Young *et al.*, 1991 ; Gardan *et al.*, 1992).

2.2.1. Statut taxonomique : (Ramos *et al.*, 2012)

Règne: *Bacteria*

Division: *Proteobacteria*

Class: *Gammaproterobacteria*

Ordre : *Pseudomonadales*

Famille : *Pseudomonadaceae*

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *P. savastanoi* pv *savastanoi*

2.3. Propriétés microbiologiques :

Pseudomonas savastanoi est une bactérie mobile, Gram négatif possède 1 à 4 flagelles polaires avec des dimensions de 0,4-0,8 µm x 1,2 à 2,3 µm (Godena *et al.*, 2009). La bactérie a une croissance assez lente, les températures optimales pour la croissance de 25 à 30°C. L'oxydase et l'arginine dihydrolase sont négative ; suscite la réaction d'hypersensibilité sur le tabac ; la plupart des isolats sont fluorescents et levane négative, bien que certains isolats sont non fluorescent et levane positif (Ramos *et al.*, 2012).

De Savastano et Smith jusqu'à les derniers rapports publiés, les isolats de la bactérie associée à l'olivier étaient toujours levane négatif. Seulement Janse (1981) a rapporté certaines souches qui sont levane positives (Marchi *et al.*, 2005).

Pour différencier les *Pseudomonas* fluorescente pathogène, Lelliot et ses collaborateurs en 1966 ont montré que cinq tests biochimiques (LOPAT : production de levane, l'activité de l'oxydase, la capacité à pourrir la pomme de terre, la production de l'arginine dihydrolase, et la réaction d'hypersensibilité sur les feuilles de tabac) (Gardan *et al.*, 1992).

Le complexe *Pseudomonas syringae* comprend toutes les bactéries qui appartiennent à un groupe Lopat I et, sur la base de la production de l'exopolysaccharide de levane, *P. syringae* (groupe 1a) pourrait être discriminé de *P. savastanoi* (groupe 1b). La production de levane ne peut pas être considéré comme un caractère typique de *P. syringae* parce que

Pseudomonas syringae pv *phaseolicola* et *glycinea* ont été inclus dans les espèces de *P. savastanoi* sur la base d'hybridation ADN / ADN et des analyses biochimiques (Cinelli *et al.*, 2014).

2.4. La gamme d'hôtes :

Gardan *et al.* (1992) a proposé que l'agent pathogène soit reclassé dans l'espèce *P. savastanoi* comme *P. savastanoi* pv. *savastanoi*. Basé sur des observations de terrain, des études de laboratoire et des tests de pathogénicité, il a ensuite été proposé que trois agents pathogènes étroitement apparentés représentés dans l'espèce *P. savastanoi* puissent être reconnue séparément *Pseudomonas savastanoi* pv *Fraxini* (Janse 1982) pathogène pour *Fraxinus spp*; *Pseudomonas savastanoi* pv *Nerii* (Janse, 1982), pathogène pour *oleander* et peut être l'olivier; *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* (Gardan *et al.*, 1992), pathogène pour l'olivier.

Un autre pathovar a été isolé à partir des surcroissances des tissus sur le balai espagnol *Pseudomonas savastanoi* pv *retacarpa* pathogène pour *Retama sphaerocarpa* (Bella *et al.*, 2002).

2.5. Isolement de l'agent pathogène :

Les expériences aux laboratoires ont indiqué que les isolements pourraient plus facilement être fabriqués à partir des tumeurs dans leurs premiers stades. Les tumeurs âgées généralement devenaient envahies par les bactéries secondaires à croissance rapide ce qui rend la reconnaissance de l'agent pathogène plus difficile (Ercolani, 1970). Un milieu semi sélectif peut être utile dans l'isolement comme le milieu de culture King B.

L'agent pathogène a une croissance lente et pourraient être différenciés après incubation à 27C° pendant 2 à 3 jours et les colonies bactériennes se produisent des pigments fluorescents vus sous une lumière UV (Panagopoulos 1993 ; Young, 2004).

2.6. Symptômes :

Les symptômes typiques s'expriment par développement des galles dans les sites blessés de jeunes rameaux, les branches et les tiges (Iacobellis *et al.*, 1994) bien que l'agent pathogène a été isolé parfois à partir des feuilles et des fruits (Campos *et al.*, 2009). *Olea europaea* est une espèce avec une haute résistance aux attaques bactériennes, et *P. savastanoi* est l'un des rares agents pathogènes capables de causer des blessures graves à ces arbres. La

résistance naturelle d'*O. europaea* est attribué, en partie, à l'existence d'une barrière physique de cristaux d'acide oléanolique à la surface de la feuille et la production de glucosides secoiridoïdes, oleuropéine et dérivés ligstroside antimicrobiens (Cayuela *et al.*, 2006).

Les galles commencent généralement sous forme de petits morceaux lisses sur l'écorce. Une coupe à travers ces galles immatures révèle du tissu pâle, apparemment en bonne santé entourant un noyau sombre. Les tumeurs développent dans plusieurs mois et peuvent former des galles à surface rugueuse plus de 2,5 cm de diamètre (Iacobellis, 2001).

Le tissu de la galle obscurcit et meurt au bout de 6 mois et les galles les plus âgés deviennent sèches et durcissent avec des cavités internes (Panagopoulos, 1993). Cette bactérie vit dans les jeunes galles, mais il peut également se produire de façon systémique dans le bois sans symptômes (Hall, 2004) et épiphyte sur les feuilles (Ercolani, 1991).



Figure 06 : la galle d'olivier (Source : Fayard, 2011).

2.7. Cycle de vie :

La maladie causée par les populations *Pseudomonas savastanoi* a un cycle de type épiphytes-pathogène. Les bactéries ont une phase épiphyte dans laquelle ils se multiplient à la

surface des tiges et les feuilles d'olivier sans développement des symptômes (Ercolani, 1978, 1991).

P. savastanoi passe d'un mode de vie épiphytique à un mode de vie endophytique à travers les blessures naturelle (la chute des feuilles, la grêle, le gel) ou à travers l'élagage et la récolte. (Ercolani 1978 ; Penyalver *et al.*, 2006 ; Quesada *et al.*, 2007; Marchi *et al.*, 2009).

L'inoculum se transporte par l'eau dans les tissus blessés dans les saisons des pluies (environ Avril et Novembre) et lorsque les températures allant de 4 à 38 ° C, mais les températures optimales sont comprises entre 23-24 ° C (Cayuela *et al.*, 2006).

Une fois l'inoculum se trouve à l'intérieur de la plante, l'infection se produit et la formation des galles commence dans les jeunes rameaux. L'invasion de l'hôte par *P. savastanoi* commence par la colonisation du site d'infection, suivie par la désintégration et la répartition des cellules végétales adjacentes qui se traduit par la formation d'une grande cavité autour de la zone colonisé par des bactéries, cette bactérie produit des enzymes dégradant les parois cellulaires *in vitro* telles que la cellulase, la cellobiase, la xylanase et de la pectinase (Quesada *et al.*, 2012).

Dans une deuxième phase, des cellules intactes entourant l'agent pathogène souffrent de l'effet des hormones qui *P. savastanoi* produit et l'augmentation de la taille (hypertrophie), suivie par une division cellulaire anormale (hyperplasie). Enfin, il existe une différenciation de certaines cellules de la zone hyperplasiques, des éléments de xylème et le phloème.

L'activité accrue du cambium favorise la formation de deux nouvelles masses de tissu des deux côtés de la plaie, qui croissent jusqu'à leur jonction et forment une tumeur (Quesada *et al.*, 2012). La bactérie a été également située dans les vaisseaux du xylème des explants, ce qui suggère une capacité d'invasion systémique et l'induction d'infections secondaires dans les différentes parties des plantes (Campos *et al.*, 2009).

Les bactéries qui se trouvent à l'intérieur des galles sont révélées être capables de migrer, infectant de nouvelles blessures chez les plantes (infection secondaire) (Penyalver *et al.*, 2006). Une recherche histologique récente sur la propagation systémique de *P. savastanoi* dans des explants d'olivier décrit une interaction entre *O. europaea* et *P. savastanoi* qui ressemble étroitement à la formation des galles *in vivo* (Campos *et al.*, 2009 ; Marchi *et al.*, 2009).

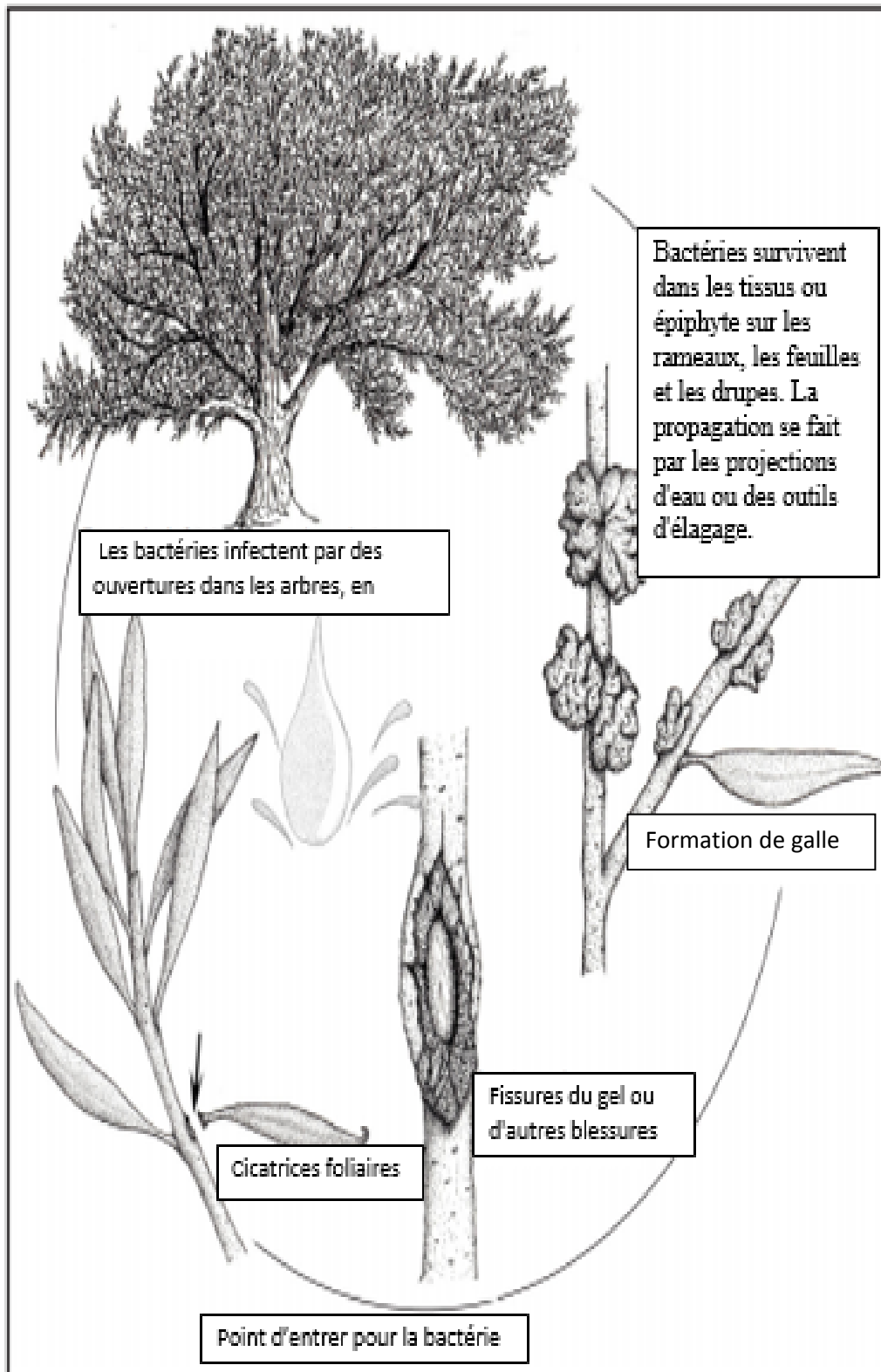


Figure 07 : Cycle de vie de la tuberculose d'olivier (Fayard, 2011).

2.8. Processus d'infection :

La formation des tumeurs par les plantes est une réponse à de fortes concentrations d'acide indole acétique (IAA) introduit dans les tissus infectés par *P. savastanoi*. La bactérie produit IAA à partir du tryptophane, avec acétamide indole comme intermédiaire (Yamada *et al.*, 1985). Les enzymes impliquées dans la conversion du tryptophane (Trp) en l'IAA sont Trp monooxygénase (codée par le gène *iaaM*) qui convertit Trp en indoleacetamide (IAM) et de IAM l'hydrolase (codée par le gène *IaaH*), qui catalyse la conversion de l'IAM à l'IAA (Aragon *et al.*, 2014).

La période d'incubation, les agents pathogènes et la taille des galles sont réglées par l'augmentation de l'IAA et la cytokinine, Pendant de nombreuses années, les phytohormones produites par les *Pseudomonas savastanoi* ont été considérés comme les principaux facteurs de virulence (Surico et Iacobellis, 1992). Les produits du système de sécrétion de type III (TTSS), codées par les groupes de gènes de *hrp / hrc* et une variété de gènes codant pour *P. syringae* déterminants de virulence, ont été découverts à jouer un rôle clé dans la pathogénicité de *P. savastanoi* (Sisto *et al.*, 2004 ; Rodriguez- Moreno *et al.*, 2008).

2.9. Bactéries associés à la tuberculose d'olivier :

L'agent causal de la maladie de la tuberculose d'olive n'est pas le seul organisme vivant dans les galles, car il y a aussi des bactéries caractéristiques blanches ou jaunes saprophytique comme *Pantoea agglomerans* (García de los Ríos, 1989). Quatre nouvelles espèces bactériennes appartenant au genre *Pantoea* ont été proposées dans l'étude des bactéries endophytes, des galles d'oliviers associés à *Pseudomonas savastanoi* (Rojas, 1999) et l'un d'entre eux a été acceptée comme nouvelle espèce connu comme *Erwinia toletana* (Rojas *et al.*, 2004) .

Ces bactéries seraient incorporées à la galle suite à l'infection provoquée par l'agent étiologique, selon García de los Ríos (1989). En effet, une relation symbiotique peut exister entre *Pseudomonas savastanoi* et *Pantoea* (ou peut-être d'autres bactéries) parce qu'ils se retrouvent ensemble, non seulement dans les tumeurs mais aussi comme des bactéries épiphytes dans les plantes infectées (Ercolani, 1978, 1991 ; Quesada *et al.*, 2007).

Des résultats ont été rapportés chez des oliviers inoculés avec des souches de *Pseudomonas savastanoi* et *Pantoea agglomerans*, montrent que les galles produites sont plus grandes que celle produites par l'inoculation seule avec des souches de *Pseudomonas*

savastanoi. Cet effet pourrait être dû à la production d'auxine par *Pantoea Agglomerans* (Marchi *et al.*, 2006).

2.10. Epidémiologie :

La diffusion des bactéries *Pseudomonas savastanoi* à partir des arbres infectés (ou inoculés) vers des arbres non infectés (ou non inoculés) a été suggérée (Quesada *et al.*, 2010a). Les bactéries peuvent se propager sur de longues distances en raison de l'introduction et la plantation de matériel infecté, ou sur de courtes distances transportées par les éclaboussures de pluie, tempêtes aérosols, les insectes et les pratiques culturelles (Horne *et al.*, 1912 ; Wilson, 1935).

Si les galles d'olivier sont observées dans les arbres dans un bloc de verger, on peut supposer que le bloc entier est en danger et que la transmission de l'agent pathogène à des oliviers dans un rayon de 500 m finira par se produire dans les aérosols générés lors des tempêtes (Young, 2004).

En 1909, Petri a isolé *P. savastanoi* du tractus intestinal et les œufs de la mouche de l'olivier (*Bactrocera oleae*), mais il n'y a pas d'autres preuves scientifiques que cette mouche ou d'autres insectes, peuvent être des vecteurs efficaces de la maladie (Quesada, 2012).

2.11. Impact économique :

Il n'y a pas de données quantitatives sur l'impact de la maladie sur le rendement des cultures ou de la qualité des cultures (Iacobellis, 2001), mais des recherches sont signalés en Italie et en Espagne. La maladie est considérée comme «réducteur de la productivité». (Teviotdale, 1994).

L'observation directe du développement de la maladie sur plusieurs saisons sera nécessaire pour déterminer l'impact de l'agent pathogène (Young, 2004). L'estimation précise de pertes provoquées par la tuberculose d'olivier est très difficile à mesurer parce que de nombreux facteurs peuvent influencer sur la sévérité des symptômes. Les infections graves peuvent entraîner la mort des branches et un affaiblissement progressif peut entraîner une perte de vigueur de l'arbre et donc de la récolte (Tjamos *et al.*, 1993).

Andrés en 1991 a estimé que les pertes liées à *P. savastanoi* étaient d'environ 1,3% de la production nationale d'olivier en Espagne. Parfois, cette maladie a causé des pertes au moment de la récolte d'olivier en raison des conditions climatiques optimales qui favorise l'entrée et la multiplication bactérienne, comme observé dans deux localités espagnoles en

1987 et 2001 après de graves tempêtes de grêle. De plus, cette maladie est présente avec une incidence variable dans de nombreuses plantes de pépinière, car elle limite leur commercialisation en raison des symptômes visibles. Ceci est particulièrement important dans les usines pour l'exportation parce que plusieurs pays qui importent des plantes de l'Union européenne (UE), comme le Chili, considèrent *P. savastanoi* comme un organisme de quarantaine (Schroth *et al.*, 1968).

En outre, la médiocre qualité de l'huile a été signalée lorsque les fruits d'oliviers ont été récoltés à partir ceux modérément touchés par la tuberculose d'olivier. Cette faible qualité est représenté par des odeurs et des saveurs amères, rassis (aucun gout) ou salés (Schroth *et al.*, 1968 ; Tjamos *et al.*, 1993).

2.12. La lutte :

La lutte contre la maladie de la tuberculose d'olivier est difficile en raison de la large gamme d'hôte de l'agent pathogène. Les méthodes utilisées pour lutter contre les *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* sont basées sur des mesures préventives et curatives et la combinaison des deux doivent être utilisée dans le cadre d'une lutte intégrée (Lavermicocca *et al.*, 2002).

2.12.1. La lutte préventive :

2.12.1.1. La taille :

Les pratiques de la lutte les plus importants sont ceux concernés par la taille. Comme déjà dit, l'agent pathogène ne peut être éradiqué des arbres ou des vergers, mais la taille réfléchie peut minimiser ses pires effets.

La taille annuelle doit être effectuée au plus tard Août pour éviter le printemps qui est une période de sensibilité. L'objectif pour la taille des jeunes arbres est de laisser les branches non-malades pour former l'échafaudage de l'arbre mature. Les jeunes arbres infectés ne doivent pas être enlevés s'ils sont gravement infectés, aussi la taille de pluie avant la date prévue doit être évitée (Young, 2004).

2.12.1.2. L'utilisation de cultivars résistants :

Des mesures prophylactiques sont destinés pour réduire ou éliminer l'agent pathogène, ces mesures peuvent également être de nature éradicative, basée sur la sensibilité du cultivar (Montesinos et López, 1996). Dans le cas de *Pseudomonas savastanoi*, elles comprennent

toutes celles effectuées pour la désinfection des plantes, des machines agricoles, ou quoi que ce soit en contact avec les plantes (Quesada, 2012).

Sisto et Iacobellis (1999) notent l'importance d'identifier des cultivars d'olivier résistants afin de contenir la maladie et d'améliorer la quantité et la qualité des fruits et de l'huile. Aucun cultivars d'olivier sont connus qui sont complètement résistants à la tuberculose d'olivier.

Au Maroc, la variété Gordale a été considéré comme résistant, Picholine Marocaine présentait quelques symptômes, alors que Meslala était considéré comme sensible (Benjama *et al.*, 1987). Une étude expérimentale (Marcelo *et al.*, 1999) a indiqué que Rendonil et Cobrançosa étaient relativement résistantes, Branquita et Santulhana exprimé certains symptômes, et Cordovil de Serpa et GalgaVulgar étaient plus sensibles. Des études comparatives ont indiqué que Nocellara del Belice était très sensible, Leccino était susceptible et Coratina était tolérant. En Irak, Hawega-2 était très résistant, alors que cvv. Ajrasibazri, Ajrasi et Bashiky étaient très sensibles (Osman *et al.*, 1980b).

Une étude des inoculations expérimentales par Sisto *et al.* (2001) ont montré que les cultivars Cellini di Nardo, Frantoio, FS-17, Morgana, Nocera, Ogliarola et Pendolino étaient sensibles, alors que Carolea, Bella di Spagna, Cerasela, Cima di Melfi, Coratina, Corniola, Dolce Agogia, leucocarpa, Maniatica di Ferrandina, N3, Nolca et San Felice ont donné une réponse modérée à l'agent pathogène. Une étude similaire (données non publiées) faite ici de la résistance relative des cultivars d'olivier favorisées en Nouvelle-Zélande a montré que les cultivars les plus sensibles étaient Manzanillo, Picholine et S.A. Verdale, et que les moins sensibles étaient Carolea, Koroneiki et Pendolino (Young, 2004).

2.12.2. La lutte chimique :

La lutte chimique contre les maladies des plantes bactériennes est seulement efficace quand ils sont utilisés dans les stratégies de prévention avant l'apparition de l'infection ou très tôt dans le processus d'infection bactérienne (Montesinos et López, 1996). Plus précisément, la lutte chimique de la maladie de la galle d'olivier a donné des résultats contradictoires dans les expériences sur le terrain et peut aussi avoir une faible efficacité et même montrer phytotoxicité à certains tissus (Quesada, 2012).

L'utilisation continue du produit chimique cause des affects indésirables, tels que la toxicité résiduelle, le développement de la résistance, pollution de l'environnement et les risques pour la santé des humains et des animaux (Krid, 2011). La variabilité de ces effets est

due à plusieurs facteurs, tels que la quantité d'inoculum, le calendrier des traitements, les conditions climatiques, la sensibilité du cultivar, la méthode d'application de traitement, ou de l'état physiologique de la plante hôte (Quesada, 2012).

L'oxychlorure de cuivre est le composé le plus souvent recommandé contre la maladie de la galle d'olivier par les services de vulgarisation espagnols. L'ingrédient actif de ces produits est l'ion cuivre divalent solubilisé. Les bactéries et les exsudats de plantes, contiennent des composés qui sont capables de solubiliser le cuivre (Quesada, 2012). Ces traitements chimiques préventifs sont recommandés pour réduire les populations *Pseudomonas savastanoi* épiphytes et empêcher leur pénétration à travers les plaies de la plante (Quesada, 2012).

Les traitements chimiques basées sur des antibiotiques et des hydrocarbures contenant l'émulsion huile-eau ont également été recommandé, mais sans résultats encourageants (Scrivani et Bugiani, 1955 ; Schroth et Hildebrand, 1968). L'utilisation d'antibiotiques tels que la streptomycine et la terramycine a réussi dans des conditions expérimentales (Trapero et Blanco, 1998), mais leur application contre les bactéries pathogènes des plantes est actuellement interdite par la législation de l'UE, même si elle est autorisée dans certains autres pays (Quesada, 2012).

2.12.3. La lutte biologique:

Comme alternative, le contrôle biologique des agents pathogènes des plantes gagnent une importance pour la gestion des maladies à l'aide de champignons antagonistes et les souches bactériennes des plantes.

Bacillus et *Pseudomonas* sont considérés comme des classes importantes des bactéries de biocontrôle qui sont fréquemment utilisés contre diverses maladies des plantes (Saravanakumaret *al.*, 2007). Auparavant, Rokni *et al.* (2008) ont rapporté que plusieurs *Pseudomonas* fluorescents ont une activité antibactérienne *in vitro* contre *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Kacem *et al.* (2009) ont constaté que plusieurs espèces de *Rhizobium* montrent une activité antibactérienne contre *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* en produisant des bactériocines (Krid, 2011).

Ces derniers sont d'excellents candidats pour l'utilisation dans l'agriculture pour lutter contre les bactéries pathogènes des plantes en raison de leur grande spécificité. Une bactériocine produite par *P. syringae* pv. *Ciccaronei* inhibe la prolifération et la survie de la

forme *P. savastanoi* épiphytes (Lavermicocca *et al.*, 2002, 2003). Pour tester l'efficacité, des essais ont été réalisés avec des plants d'olivier de deux ans dans une chambre de culture était équivalente à celle de l'hydroxyde de cuivre, mais il serait intéressant d'évaluer son efficacité dans une pépinière ou sur le terrain des plantes, déterminer leur toxicité et de la persistance avant de conseiller leur enregistrement commercial (Quesada, 2012).

2.12.4. La lutte intégrée :

Dans le domaine de la gestion des maladies bactériennes sont principalement basée sur des procédures préventives, car il est difficile d'éradiquer les agents pathogènes une fois établies. En raison de l'impact économique de la tuberculose d'olivier, les producteurs ont besoin de méthodes de contrôle adéquates pour surmonter ses répercussions négatives sur le rendement et même sur la qualité des fruits d'olive (Quesada *et al.*, 2010a ; Schroth *et al.*, 1973).

Le Contrôle de la galle d'olivier doit être fondé sur une stratégie de lutte intégrée, en donnant la priorité aux mesures les plus efficaces qui sont de type préventif. Ceux-ci sont très diverses et peuvent être regroupées en mesures réglementaires, la prévention de l'introduction de l'agent pathogène dans les zones protégées et des mesures prophylactiques pour réduire ou éliminer l'agent pathogène ou d'entraver sa mise en place dans les pépinières et les vergers (Montesinos et López, 1996).

Matériel et méthodes

1. Prospection sur terrain :

Les prospections sur terrain ont été faites en 2016 au niveau de 3 oliveraies. Ces oliveraies se trouvent dans la région d'Ain El Ibel à 45 km de la willaya de Djelfa. Pour les 2 premières aucun symptôme n'a été observé. Pour la troisième oliveraie, nous avons observé des symptômes semblables à ceux de la tuberculose avec un taux d'infection de 100 %. A partir de cette dernière nous avons fait l'échantillonnage.

2. Echantillonnage et isolement à partir des tumeurs :**2.1. Origine de la matière végétale :**

L'échantillonnage a été réalisé en hivers en janvier 2016. Des jeunes tumeurs ont été prélevées de la parcelle et à partir d'oliveraie dans la région d'Ain El Ibel, l'échantillonnage a été fait d'une manière subjectif et la variété d'olivier étudié est chemlal.

Les échantillons ont été placés dans un sac en plastique stérile, transportés directement au laboratoire et conservé au réfrigérateur à une température de 4 °C.

2.2. Isolement :

Les tumeurs sélectionnées pour l'isolement ont un poids de 1.3g, 1,24 g et 1,09 g respectivement. Ces tumeurs ont été désinfectée superficiellement à l'eau de javel dilué 1% pendant 5 min puis rincé 3 fois à l'eau distillée stérile pendant 5, 10, et 15 min respectivement.

Des fragments de tumeurs coupés aseptiquement ont été broyés au mortier dans 9 ml d'eau distillée stérile. La suspension obtenue a été laissée à la température ambiante pendant 20 min pour permettre la diffusion bactérienne avant de procéder à l'étape de dilution de cette suspension.

L'isolement a été effectué selon la méthode suspension-dilution (Klement, 1990). La suspension bactérienne est homogénéisée pendant 10 secondes environ à l'aide d'un vortex.

1 ml de la suspension mère est prélevé à l'aide d'une micropipette de 1000 µl et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillé stérile ce qui donné une concentration de 10^{-1} .

Une dilution en série ou successive est effectué pour une gamme de dilutions jusqu'à 10^{-5} . Un volume de 0.1 ml de la suspension bactérienne est prélevé à partir de chaque tube et disposé au centre de la boîte. Deux types de milieu de culture ont été utilisé le King B et LPGA. Sachant que trois boîtes de pétri sontensemencées par dilution et pour chaque milieu.

L'étalement se fait de façon uniforme et le plus rapidement possible à la surface du milieu à l'aide d'un étaloir stérile en verre (pipette pasteur).

2.3. Dénombrement des bactéries :

Le comptage des colonies bactériennes est effectué à l'aide de l'appareil compteur des colonies après 48h d'incubation, et sur les deux milieux de culture utilisés.

L'estimation de nombre des bactéries viables sur le King B et LPGA est en Unité Formant Colonie (UFC). Pour le calcul nous avons utilisé la formule suivante :

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

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

n : le nombre de dilution.

2.4. La sélection et purification :

Après une incubation à 27 °C pendant 48 h, les colonies ont été sélectionnées sur la base de leur fluorescence, de leur couleur, de leur taille, de leur aspect et la forme développée sur le King B et LPGA. Les colonies bactériennes sélectionnées ont été repiquées deux fois sur le milieu de culture King B jusqu'à l'obtenir des colonies pure et dans le but de les conserver, des tubes à vices contenant le milieu de culture incliné (king B) sont utilisés pour conserver ces isolats.

Après incubation à 27 C° pendant 48h, les tubes ont été mis au réfrigérateur à 4 C° pour les utiliser ultérieurement.

► L'isolement

Première étape : la désinfection

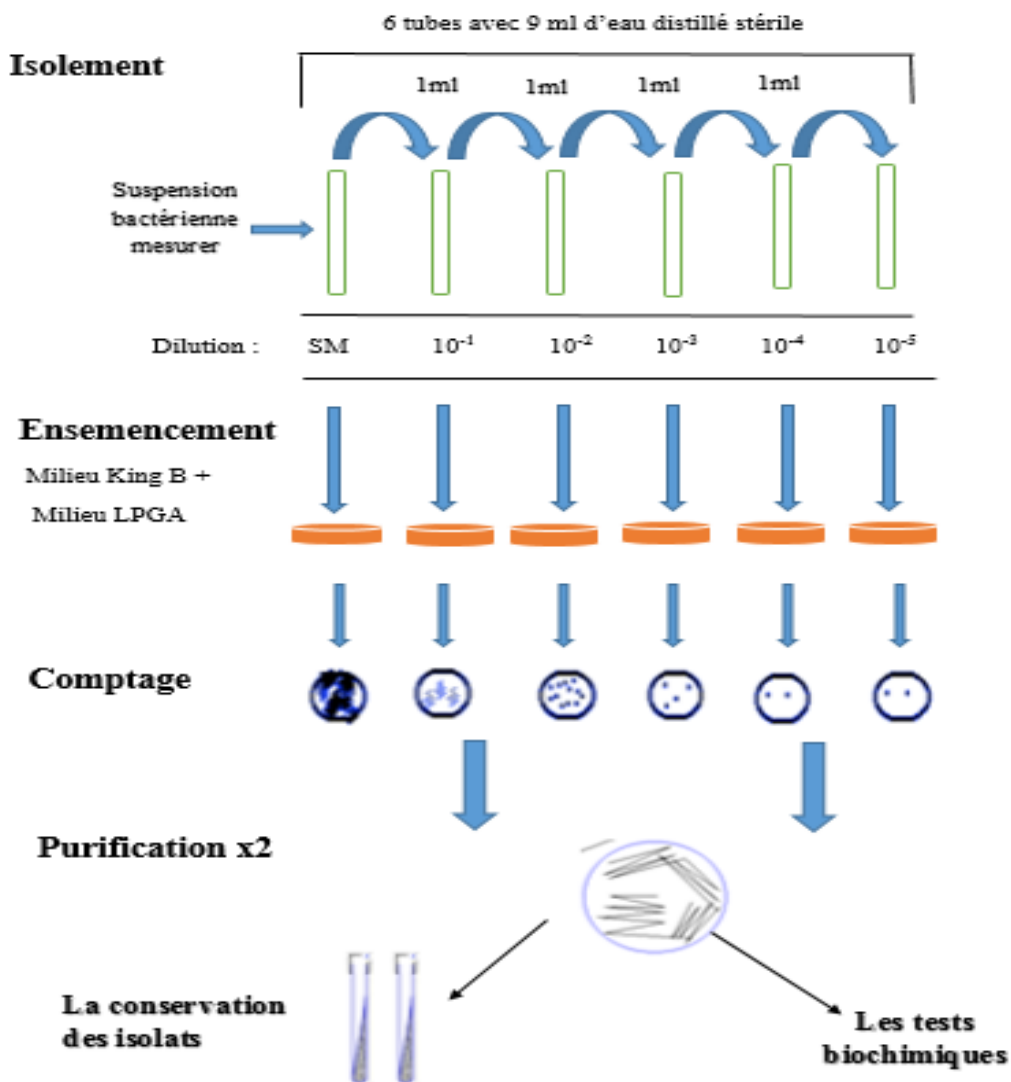
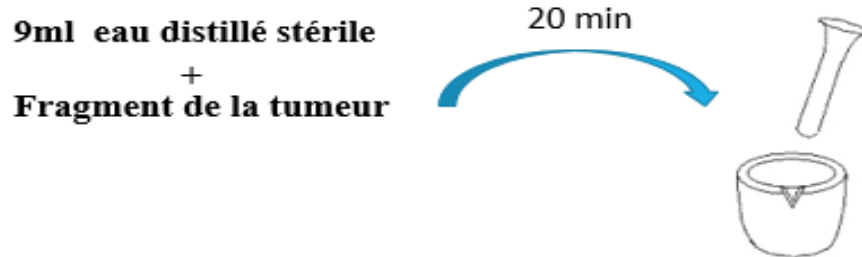
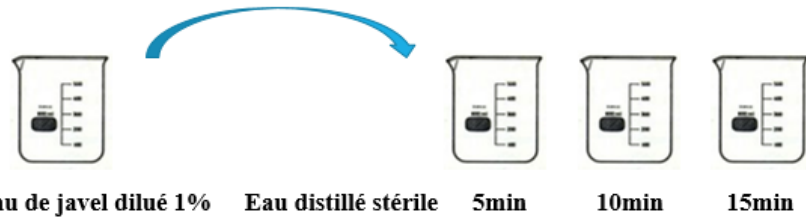


Figure 08 : Isolement, purification et conservation des bactéries (Original, 2016).

3. Identification des isolats :

L'identification du genre et de l'espèce repose sur l'étude des caractères biochimiques, Les caractères d'identification sont essentiellement "biochimiques" et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique, la fermentation des sucres, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases) ou la formation de gaz.

3.1. La fluorescence :

Les isolats bactériens peuvent être visualisés par un simple examen à l'œil nu de la fluorescence de pigments diffusibles libérés dans le milieu King B après une période d'incubation. La fluorescence peut être observée sous une lampe UV.

3.2. Tests biochimique et physiologique :

Ces tests permettent l'identification de caractères morphologiques et métaboliques, parmi lesquels : la forme, la structure des parois, les voies d'utilisation du glucose (fermentative ou oxydative), le type respiratoire (aérobie stricte, anaérobie facultative...), les sources carbonées et azotées utilisées et les systèmes enzymatiques caractéristiques (oxydase, nitrate réductase...). Pour identifier avec certitude la bactérie étudiée, il est nécessaire au préalable d'avoir une idée de sa nature pour réaliser les tests adéquats.

3.2.1. Coloration de Gram :

La coloration de Gram est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie, elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane ou fuschine. L'intérêt de cette coloration est de donner une information rapide sur la forme et le type de la bactérie testée (Halebian *et al.*, 1981).

La réalisation d'un frottis est effectuée plus classiquement par une fixation simple, à l'aide d'une anse de platine stérilisée une colonie bactérienne isolée est ajouté à la goutte d'eau distillée stérile. La lame séchée est déposé sur un bac de coloration (Halebian *et al.*, 1981).

La réalisation de la coloration est commencé par le violet de gentiane ou cristal violet pendant une 1min et le rinçage est effectué par l'eau distillée stérile, puis quelques gouttes de lugol sont déposées sur le frottis pendant environ 1min. Lugol est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries. Le rinçage se fait encore une fois par l'eau distillé stérile.

Une décoloration rapide de cytoplasme par l'alcool en faisant couler la solution sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus de frottis pendant environ 30S, Un lavage à l'eau distillée est effectué pour stopper la décoloration (Halebian *et al.*, 1981).

La recoloration est réalisé avec la fuchsine pendant 30S et le lavage se fait doucement à l'eau distillée. Le frottis est séché à l'air près de bec benzène et dans la zone stérile (Halebian *et al.*, 1981).

Après que les frottis sont séchés, l'observation microscopique a été réalisée à l'aide de microscope optique à un grandissement x10, x 40 et x 100.

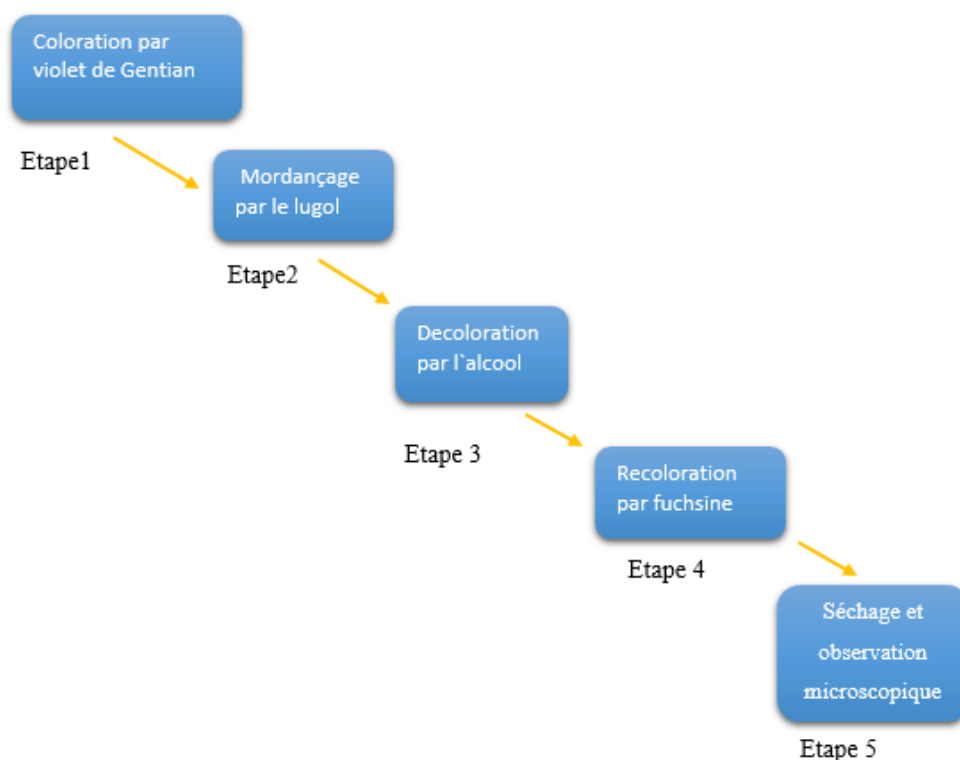


Figure 09 : Le protocole pratique de la coloration de Gram (source : Original, 2016).

3.2.2. Test KOH :

Le test KOH est un test rapide pour déterminer le type des bactéries, Gram positif ou Gram négatif. Deux gouttes d'une solution d'hydroxyde de potassium à 3% ont été placées sur une lame de verre. A l'aide d'une anse, la colonie bactérienne a été agitée avec un mouvement circulaire dans la solution de KOH. Si la solution de KOH est devenue très visqueuse et muqueuse avec la formation des fibres, c'est une réaction positive et ces bactéries sont à Gram-négatives. Si la solution est devenu aqueuse, non muqueuse et il n'y a pas une

formation de fibre cela indique que c'est une réaction négative et ces bactéries sont à Gram-positif (Fahy et Parsley, 1983).

3.2.3. Test Oxydation/ Fermentation :

Le milieu Hugh et Leifson, qui contient un indicateur de pH, 5 à 10 ml du milieu est distribué dans des tubes à essai et stérilisé par autoclavage. Le glucose est préparé séparément du milieu comme une solution aqueuse à 10%, et stérilisé par filtration. La solution de glucose stérile est ajoutée de manière aseptique au milieu de culture préparé.

Chaque isolat est ensemencé dans deux tubes par piqure centrale et l'un des deux est recouvert par la paraffine liquide stérile (Harrigan, 1998).

La lecture se fait après 24h et 48 h, un virage de couleur dans les deux tubes se traduit par la production d'acide est représenté par un changement de la couleur du milieu du bleu au jaune (Harrigan, 1998).

3.2.4. Test LOPAT :

Le test de LOPAT est l'ensemble des tests biochimiques proposé par Lelliot *et al.* (1966) et comprend le test d'oxydation, test pectinase, test levane, test arginine et test hypersensibilité sur le tabac.

3.2.4.1. Test de l'oxydase :

Le test de l'oxydase est un test qui permet de vérifier la présence du cytochrome oxydase, une enzyme oxydase parfois appelée indophénol (Gaby et free, 1958). En présence d'un organisme qui contient l'enzyme cytochrome oxydase, le réactif réduit incolore devient un produit de couleur violé (Gaby et free, 1958).

Un disque d'oxydase a été placé sur une lame et une colonie bien isolée d'une culture âgée de 18 à 24 heures a été écrasé sur ce disque à l'aide d'une pipette pasteur stérile.

Les microorganismes sont oxydase positive lorsque les changements de couleur à violet foncé dans les premiers 10 secondes alors que les microorganismes sont oxydase négative si la couleur ne change pas et reste incolore (Elkhalfi *et al.*, 2013)

3.2.4.2. Test pectinase :

Les pommes de terre fermes ont été bien lavées et stérilisées en surface par l'alcool et flambé au bec benzen puis désinfecté par l'eau de javel 1% suivie par 3 rinçages successifs à l'eau distillée stérile. Les tranches ont été coupées transversalement à une épaisseur de 7

cm environ et placé dans des boîtes de Petri stériles, au fond des quelles un papier filtre stérile humide (Ignjatov *et al.*, 2007).

Les tranches ont été ensuite inoculées dans un petit creux fait au centre de chaque tranche avec une suspension bactérienne de chaque isolat à une concentration de 10^8 UFC. Une surveillance de l'activité pectolytique a été faite pour observer la condition de la pomme de terre en tranches. L'incubation des boites a été réalisé à une température de 27 °C pendant 10 à 14 jours et la détection des symptômes de la pourriture molle est concéder comme résultat positif (Ignjatov *et al.*, 2007).

Pour un résultat négatif aucun changement n'est observé sur la tranche de pomme de terre (pas dégradation de pectine) (Ignjatov *et al.*, 2007).

3.2.4.3. Production de levane sucrase :

Les bactéries qui ont l'enzyme levane sucrase, peuvent briser le saccharose en produisant le Poly-fructose. Sucrose peptone agar ou d'un milieu de gélose nutritive avec 5% de saccharose est un substrat approprié pour le test Levane (Shila *et al.*, 2013).

Pour la réaction positive une strie partiellement saillante est observé en vue dessus, ainsi que la présence d'une zone opaque et luisante en marge de la strie en vue du dessous. Par contre la réaction négative s'exprime par une strie prostrée et non luisante (Ielliot ,1987).

3.2.4.4. Test d'arginine :

Le test a été effectué pour observer la présence de deux enzymes qui autorise à certaines *pseudomonas* à croître dans des conditions anaérobies. Les enzymes génèrent ATP par la dégradation de l'arginine en ornithine avec la génération de CO_2 et de NH_3 . Les deux enzymes sont desmidase arginine qui dégrade l'arginine en citrulline + NH_3 et l'enzyme ureidase arginine qui dégrade la citrulline en ornithine, CO_2 , NH_3 et l'ATP. C'est la réaction alcaline où la production de NH_3 est détectée par ce test (Thornley, 1960).

Les isolats ont étéensemencés dans un tube contenant le milieu arginine par pique centrale, scellé avec l'huile de vaseline stérile et incubé à 27 C° pendant 48 h. Un changement de couleur du rose au rouge dans les quatre jours est une réaction positive (Thornley, 1960).

3.2.4.5. Le teste d'hypersensibilité sur les feuilles de tabac :

Le test d'hypersensibilité (HR) sur feuille de tabac met en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie suite au dessèchement des zones d'inoculation sur les feuilles de tabac (Lamichhane, 2013).

Ce test n'a pas été réalisé à cause d'un manque au niveau des plantules de tabac.

3.3. Test de pathogénicité :

Des blessures d'environ 4 cm de long ont été faites dans l'écorce des tiges d'olivier à l'aide d'un scalpel stérile et les suspensions bactériennes âgé 24 h avec une concentration de 10^8 UFC ont été injectée dans ces blessures. 20 isolats ont été testés à quatre points sur la tige de 20 plantules d'olivier âgé 1 an.

Les blessures ont été protégées avec papier aluminium stérile pour éviter le dessèchement de l'inoculum pendant trois jours (Krid *et al.*, 2011).

L'apparition des tumeurs typiques est observée après 2 à 3 de la date de l'inoculation dans les conditions favorable

Résultats et discussion

1. Les résultats

1.1. Isolement :

L'isolement a été réalisé sur les deux milieux de culture King B et LPGA. Après incubation à 27 °C pendant 48 h nous avons obtenu des colonies caractéristiques sur les deux types de milieux (Annexe 1).

1.2. Dénombrement bactérien :

Le dénombrement bactérien sur les deux milieux de culture King B et LPGA a été réalisé après 48h d'incubation. Les histogrammes suivants représentent le taux de *Pseudomonaslikebacteria* sur le King B par rapport le taux de la flore totale sur LPGA.

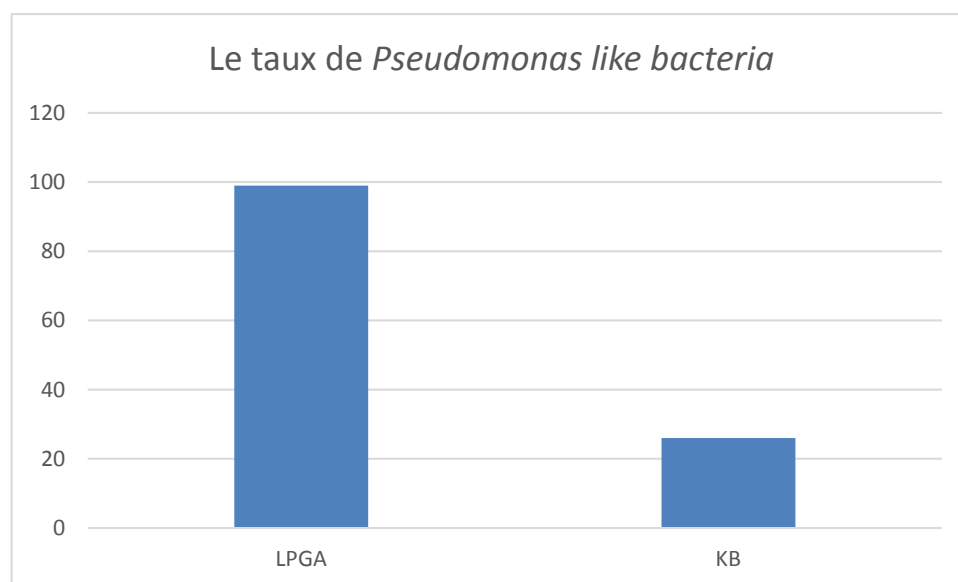


Figure 10 : le taux de *Pseudomonaslikebacteria* par rapport à la flore totale pour l'échantillon E₁.

Dans le premier échantillon, nous avons obtenus $38,330 \times 10^3$ Cellules.ml⁻¹ de *Pseudomonas* sur le KB et $169,330 \times 10^3$ Celules.ml⁻¹ de la flore totale sur le LPGA. Le taux du *Pseudomonaslikebacteria* par rapport à la flore totale est environ de 26%.

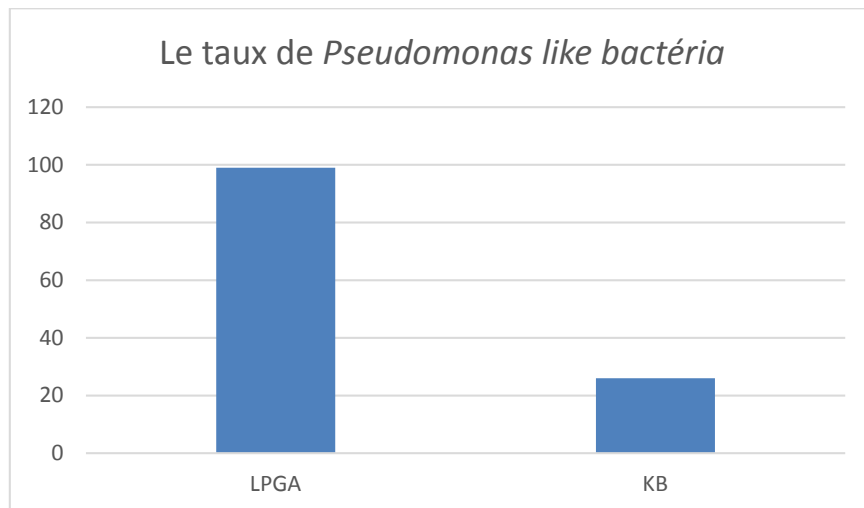


Figure 11 : le taux de *Pseudomonaslikebacteria* par rapport à la flore totale pour l'échantillon E₂.

Dans le deuxième échantillon, le taux de *pseudomonaslikebacteria* est environ 10% avec une concentration de $24,666 \times 10^3$ Cellules.ml⁻¹ par rapport à la flore totale avec une concentration de $29,666 \times 10^3$ Cellules.ml⁻¹.

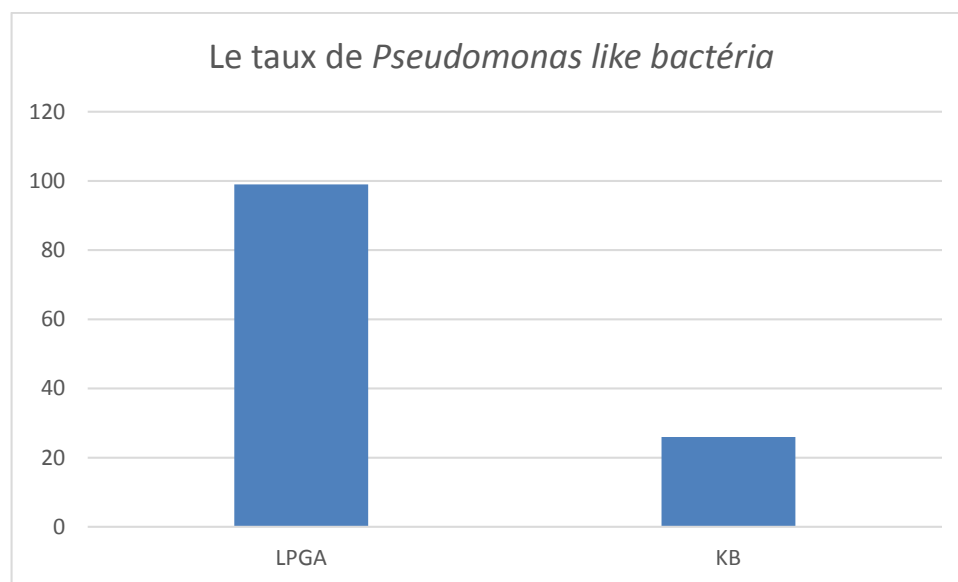


Figure 12 : le taux de *Pseudomonaslikebacteria* par rapport à la flore totale pour l'échantillon E₃.

Pour le troisième échantillon, le taux de *Pseudomonaslikebacteria* est 29,6% avec une concentration de 61×10^3 cellule.ml⁻¹ de par rapport à la flore totale avec une concentration de 206×10^3 cellule.ml⁻¹.

1.3. Caractérisation morphologique des isolats :

Les 36 isolats que nous avons sélectionnés sur le King B possèdent les mêmes caractères morphologiques à celles de Young (2004).

Les colonies choisies possèdent les caractéristiques suivantes: de petite taille, la plupart entre 1 et 3 mm, la forme est arrondie, la couleur est beige et l'aspect est demi-bombé. La faible fluorescence est un caractère spécifique de *Pseudomonas*, cette faible fluorescence est observée après quelques jours d'incubation ou sous lampe UV.

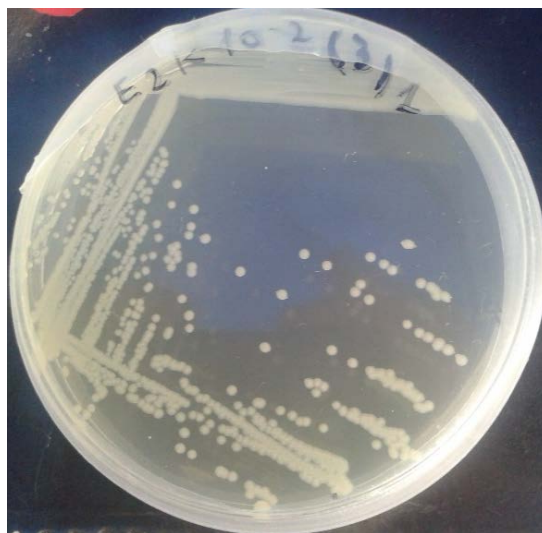


Figure 13 : Isolat pure (Original, 2016).

1.4. Test de Gram :

La coloration de Gram et le test KOH représentent le test de Gram, c'est le test le plus utilisé dans l'étude et la classification des bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

1.4.1. La coloration de Gram :

La coloration de Gram donne une information rapide sur le type de la bactérie si elle est Gram négatif ou Gram positif basant sur les propriétés de la paroi bactérienne de chaque type.

Les colonies bactériennes âgé 24h de 36 isolats, ont été prises pour effectuer le test de coloration de Gram.

Après la réalisation de la coloration de Gram de 36 isolats bactériens, nous les avons observé sous microscope optique (grandissement X 10 ; X 40) et a immersion (X100). 34 isolats sont bacille à Gram négatif alors que 2 isolats sont cocci à Gram positif.

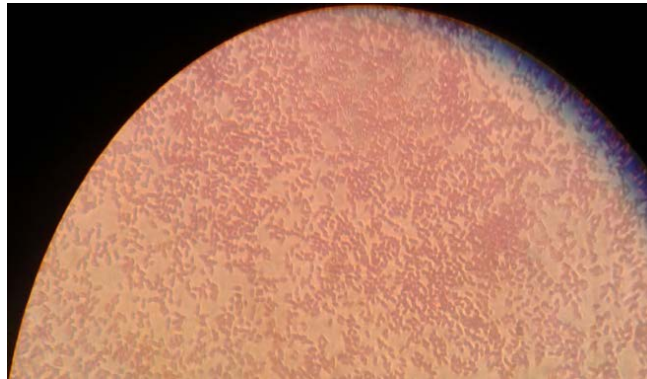


Figure 14 : Observation microscopique (Grandissement X100) après coloration de Gram (Original, 2016).

1.4.2. Test de KOH :

C'est la technique qui nous permet de distinguer entre les bactéries à Gram négatif et Gram positif. La présence d'un fil visqueux chez 34 isolats indique qu'ils sont des bactéries à Gram négatifs alors que l'absence de ce fil chez deux isolats montre qu'ils sont à Gram positif.

1.5. Test Oxydation/ Fermentation :

Pour le test Oxydation / Fermentation, 34 isolats ont été testé. Chaque isolat est ensemencé par pique centrale dans deux tubes contenant le milieu de culture auquel le glucose stérile est ajouté aseptiquement après autoclavage par filtration, l'un des deux tubes est recouvert par l'huile de paraffine liquide stérile.

Après 48h d'incubation, pour les 34 isolats testé nous avons observé un virage de couleur vers le jaune sur les tubes qui ne contiennent pas de l'huile stérile, par contre les tubes recouvertes avec l'huile ont été resté vert.

Les bactéries fermentatives produisent de l'acide dans les deux tubes alors que les bactéries oxydatives produisent de l'acide dans le tube ouvert uniquement et en général, ou tout au moins initialement, seulement à la moitié supérieure du tube ouvert.

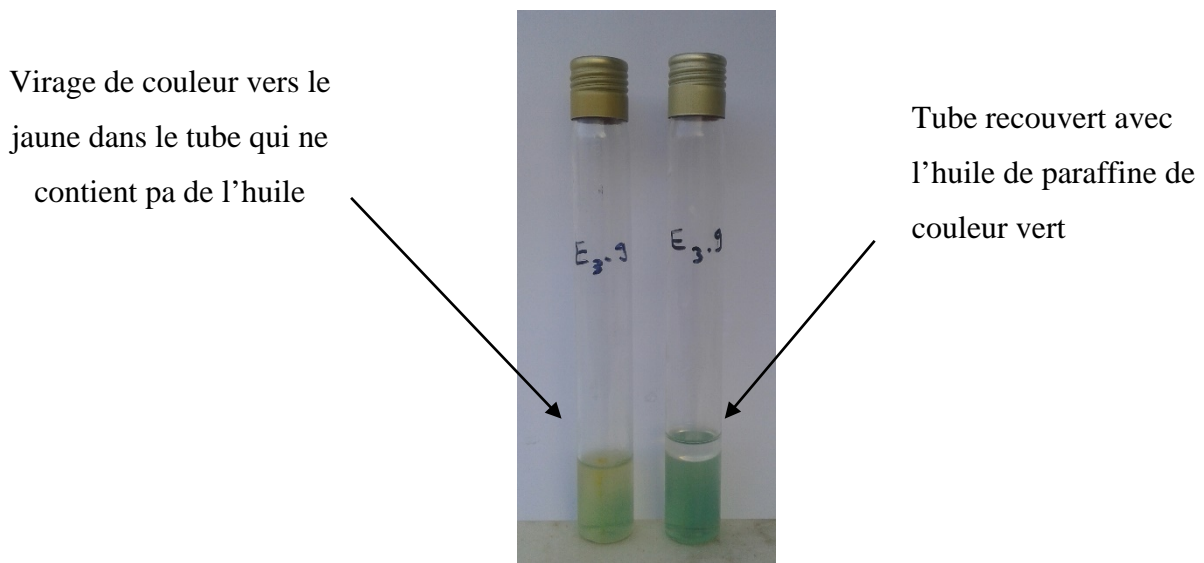


Figure 15 : résultat de test Oxydation / Fermentation (Original, 2016).

Tableau 01 : les résultats des tests préliminaires.

Codes	Florescence	Coloration de Gram	KOH	Oxydation/ Fermentation	
				F	O
E2.1	+	-	+	vert	jaune
E2.2	+	-	+	vert	Jaune
E2.3	+	-	+	Vert	Jaune
E2.4	+	-	+	Vert	Jaune
E2.5	+	-	+	Vert	Jaune
E2.6	+	-	+	Vert	Jaune
E2.7	+	-	+	Vert	Jaune
E2.8	+	-	+	Vert	Jaune
E2.9	+	-	+	Vert	jaune
E2.10	+	-	+	Vert	Jaune
E2.11	+	-	+	Vert	Jaune
E2.12	+	-	+	Vert	Jaune
E2.13	+	-	+	/	/
E2.14	+	-	+	/	/
E3.1	+	-	+	Vert	Jaune
E3.2	+	-	+	Vert	Jaune
E3.3	+	-	+	Vert	Jaune
E3.4	+	-	+	Vert	Jaune
E3.5	+	-	+	Vert	Jaune
E3.6	+	-	+	vert	Jaune

Codes	Florescence	Coloration de Gram	KOH	Oxydation / Fermentation	
				Vert	Jaune
E3.7	+	-	+	Vert	Jaune
E3.8	+	-	+	Vert	Jaune
E3.9	+	-	+	Vert	Jaune
E3.10	+	-	+	Vert	Jaune
E3.11	+	-	+	Vert	Jaune
E4.1	+	-	+	Vert	Jaune
E4.2	+	-	+	Vert	Jaune
E4.3	+	-	+	Vert	Jaune
E4.4	+	-	+	Vert	Jaune
E4.5	+	-	+	Vert	Jaune
E4.6	+	-	+	Vert	Jaune
E4.7	+	-	+	Vert	Jaune
E4.8	+	-	+	Vert	Jaune
E4.9	+	-	+	Vert	Jaune
E4.10	+	-	+	Vert	Jaune
E4.11	+	-	+	Vert	jaune

Tableau 01 : les résultats des tests préliminaires (Suite).

1.6. Test de LOPAT :

Les tests biochimiques étaient décrits par Lelliott, *et al.* (1966) et sont désignés comme le teste LOPAT (la production de levane, le test oxydase, testpectinase, la présence d'arginine dihydrolase, test d'hypersensibilité sur le tabac). Ce test a été réalisé sur les 34 isolats pour étudier leurs propriétés biochimiques.

1.6.1. Teste d`oxydase :

Les isolats bactériennes âgées 24 h ont été testés par les disques oxydase. Nous avons testé 8 isolats, ces souches bactérienne ont été écrasés sur les disques oxydase et donné une réaction négative. Aucun changement au niveau de la couleur du disque ce qui signifie que ces bactéries sont incapable de produire le cytochrome C oxydase.

1.6.2. Test levane :

Les résultats du test levane sont lus après 5 jours d'incubation, les 34 isolats testés donnent une réaction négative s'exprime par une strie prostrée et non luisante.



Figure 16 : Résultat du test levane sur la face supérieure et inférieure de la boîte de Petrie.

(Original, 2016).

1.6.3. Test pectinase :

Pour ce test, après incubation à 27C° pendant 14 jours, nos 34 isolats inoculé sur les tranches de la pomme de terre ont été donné un résultat négatif, ceci peut être expliqué que ces bactéries sont incapables de dégrader la pectine et provoque les symptômes de la pourriture molle de la pomme de terre.



Figure 17 : résultat du test pectinase (Original, 2016).

1.6.4. Test argininedihydrolase :

Le résultat de test arginine dihydrolase est négative pour tous les 34 isolats testé, ces souches ne possèdent pas l'enzyme responsable de la dégradation de l'arginine en l'ornithine.

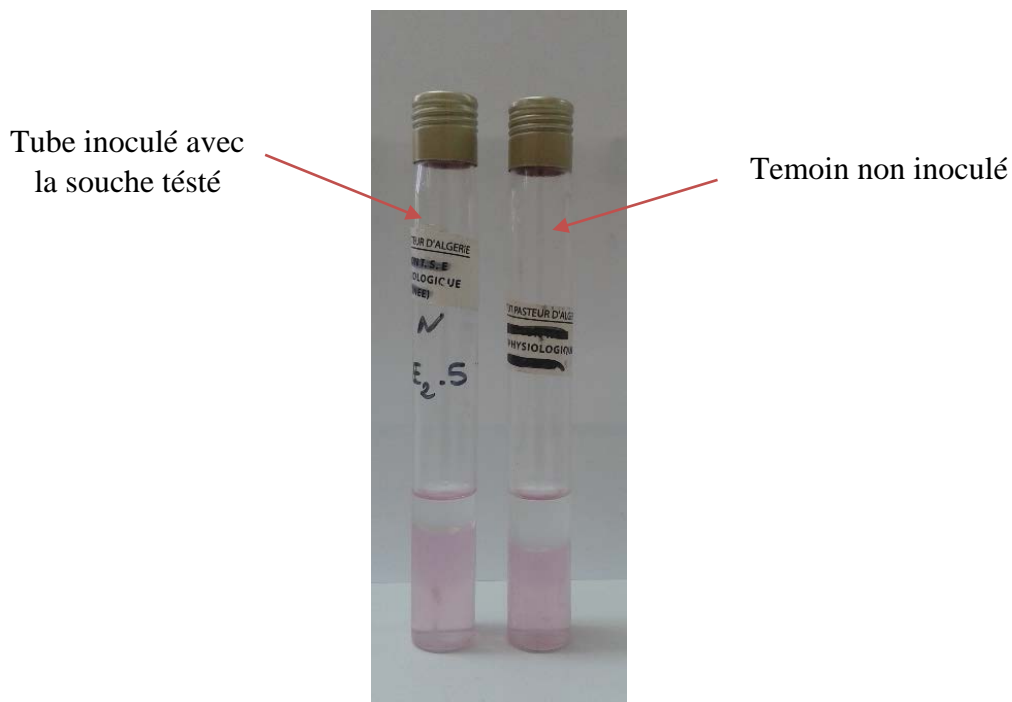


Figure 18 : résultat du test arginine (Original, 2016).

Tableau 02 :Résultat du test LOPAT.

Codes	Levane	Oxydase	Pectinase	Arginine	Hypersensibilité
E2.1	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	/
E2.2	négatif	Négatif	Négatif	Négatif	/
E2.3	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E2.4	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	/
E2.5	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E2.6	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E2.7	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	/
E2.8	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	/
E2.9	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	/
E2.10	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	/
E2.11	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	/
E2.12	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E3.1	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E3.2	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E3.3	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E3.4	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E3.5	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E3.6	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E3.7	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E3.8	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E3.9	Négatif	/	Négatif	Négatif	/

Codes	Levane	Oxydase	Levane	Arginine	Hypersensibilité
E3.10	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E3.11	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.1	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.2	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.3	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.4	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.5	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.6	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.7	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.8	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.9	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.10	Négatif	/	Négatif	Négatif	/
E4.11	Négatif	/	Négatif	Négatif	/

Tableau 02 :Résultat du test LOPAT (Suite).

/ : Test non réalisé.

1.7. Test de pathogénicité :

20 isolats ont été inoculés sur des plantules d'olivier âgé d'un an. Onze isolats donnent un résultat positif après deux mois de la date d'inoculation.



Figure 19 :résultat du test de pathogénicité (formation de la galle d'olivier) (Original, 2016).

2. Discussions :

La tuberculose d'olivier est une maladie bactérienne qui se manifeste par l'apparition de galles ou tumeurs sur les jeunes rameaux et au point d'insertion des feuilles. La bactérie vit dans les tumeurs ou elle se multiplie. Lorsqu'il pleut, elle est exsudée à la surface des tumeurs et disséminée par les gouttes d'eau. Elle pénètre par les plaies et les cicatrices causées par la grêle, la taille et la chute des feuilles.

Les tumeurs que nous avons sélectionnées ont été prélevées à partir d'une oliverie située dans la région d'Ain Ibel wilaya de Djelfa. Ces tumeurs ont été transportées au laboratoire où nous avons fait l'isolement, test de Gram, test fermentation/oxydation, test LOPAT et le test de pathogénicité.

Nous sommes intéressés à la flore microbienne qui se trouve à l'intérieur des galles d'olivier. Dans le but de l'isoler, l'identifier et savoir les caractéristiques physiologiques et biochimiques de la bactérie responsable de la galle d'olivier ainsi que leur degré de pathogénicité.

Pour dénombrer le taux de *Pseudomonas* dans une tumeur, nous avons fait l'isolement sur deux types de milieu de culture King B et LPGA. Nous avons obtenu un taux de bactérie de

Pseudomonas qui varie entre 10 et 30% sur le King B. Selon Young, 2004 les isollements pourraient plus facilement être faites à partir des tumeurs dans leurs premiers stades. Les tumeurs âgées généralement devenaient envahis par les bactéries secondaires à croissance rapide ce qui rend la reconnaissance de l'agent pathogène plus difficile. Un milieu sélectif peut être utile dans l'isolement comme le milieu de culture King B.

Le choix de 36 colonies bactériennes était basé sur les caractères morphologique (la taille est entre 0.1 et 0.3 mm, la forme est rendu, l'aspect est demi bombé, la couleur est beige). Selon Young (2004) l'identification préliminaire des espèces de *Pseudomonas* produisant le pigment fluorescent observé à l'œil nu ou sous lampe UV, est essentiellement basée sur les caractéristiques morphologiques (morphologie cellulaire), c'est pour cela nous avons utilisé des méthodes de caractérisations bactériologiques et de teste biochimiques pour confirmer l'aspect de ces bactéries.

Après purification successif de ces isolats sur le milieu King B, nous avons passé aux tests biochimique et physiologique.

Pour le test KOH, 36 isolats ont été testés, 34 isolats donnent le fil visqueux ce qui montre que sont des bactéries à Gram négatif alors que 2 isolats ne donnent pas le fil visqueux ce qui signifie que sont des bactéries à Gram positif.

Le test KOH est utilisé essentiellement pour la différenciation entre les isolats Gram négative et Gram positive. La distinction entre les bactéries Gram-négatives et Gram-positives par la capacité de la solution de KOH à 3% à lyser les seules cellules de bactéries Gram négative et libérer l'ADN de la cellule, cela indiqué par la viscosité de la suspension, la méthode a été initialement décrit par Ryuen en 1940 et réintroduite par Gregersen en 1980 (Colwell, 1987).

Pour la coloration de Gram, nous avons testé 36 isolas, après la coloration nous avons constaté que 34 isolats sont des bactéries à Gram négatif et 2 isolats sont des bactéries à gram positif.

La coloration de Gram est une méthode sur le type de la paroi bactérienne, les bactéries ont une paroi cellulaire composée de peptidoglycane. Cette paroi cellulaire assure la rigidité à la cellule, et une protection contre la lyse osmotique dans des solutions diluées. Les bactéries gram-positives ont une paroi épaisse et les bactéries gram-négatives ont une paroi cellulaire mince et une membrane bicouche phospholipidique externe. Le cristal violet est suffisamment faible pour pénétrer à travers la matrice de la paroi cellulaire des deux types des bactéries, mais le complexes Crystal violet-lugol issues seulement avec difficulté (Davies *et al.*, 1983) puisque lugol joue un rôle de mordant et fixe le colorant (Sutton, 2006).

Le décolorant alcool déshydrate la paroi cellulaire, et sert comme solvant pour rincer le complexe Crystal violet-indole (Beveridge et Graham, 1991). Chez les bactéries à Gram négatif, l'alcool dissout la membrane externe de la paroi cellulaire et aide à la libération du colorant. C'est l'épaisseur de la paroi de cellule qui caractérise la réponse des cellules à la procédure de coloration (Sutton, 2006).

Nos résultats sont apparus identiques aux ceux de Gardanet *al.* (1992), Alvarazet *al.* (1998) et Cinelliet *al.* (2014) puisque d'après eux les *Pseudomonas savastanoi* sont des bactéries Gram négative, bacille, mobile grâce de 1 à 4 flagelles polaires avec des dimensions de 0,4-0,8 μm x 1 à 2 μm .

Pour le test Oxydation/Fermentation, les 34 isolats ont été testés et donné un virage de couleur du bleu-vert vers le jaune dans les tubes qui ne contiennent pas de l'huile.

Le test Oxydation/fermentation (OF) est utilisé pour différencier les organismes qui utilisent des glucides en milieu aérobie (oxydation), tels que *Pseudomonas*, de ceux qui utilisent des carbohydrates par voie anaérobie (fermentation), tels que des membres de la *Enterobacteriaceae* et ceux qui n'utilisent pas de glucides du tout (non fermenteurs) telles que *Alcaligenes faecalis*. Ce test a été développé par Hugh et Leifson (Beck, 2002).

Si les organismes inoculés utilisent le glucose dans les deux tubes ouverts et fermés qui est indiquée par le changement de la couleur du milieu du vert au jaune, donc l'organisme est fermentatif. Ceci est expliqué par le processus de fermentation anaérobie, le pyruvate est converti en une variété d'acides mixtes, en fonction du type de la fermentation (Beck, 2002).

Si les organismes inoculés utilisent des glucides uniquement dans le tube ouvert, l'organisme est identifié comme oxydant. Ces bactéries métabolisent le glucose en utilisant la respiration aérobie et produisent une petite quantité d'acides au cours du cycle de Krebs et la glycolyse. La concentration accrue de glucose dans le milieu favorise la production de ces faibles acides à un niveau qui peut être détecté par bromothymol indicateur bleu. Afin d'améliorer encore la détection de ces acides faibles, ce milieu contient une concentration réduite de peptones. Ceci réduit la production d'amines du métabolisme des acides aminés, ce qui réduit par conséquent l'effet neutralisant de ces produits (Beck, 2002).

Les souches testées dégradent le glucose dans les tubes ouverts uniquement, sont des bactéries aérobie, ces résultats s'accordent avec ceux de Garden et al. (1992) ; Alvarez *et al.* (1998) qu'ils ont prouvé que les *Pseudomonas savastanoi* possèdent un métabolisme respiratoire.

Le test LOPAT est l'ensemble de test : oxydase, Arginine dihydrolase, pectinase, levane et le test d'hypersensibilité sur le tabac, nous avons réalisé ces tests sur les 34 isolats.

Nous avons testé huit isolats par le test oxydase, les disques restent incolore ça veut dire que les bactéries sont incapables de catalyser la réaction d'oxydation à cause de l'absence d'un cytochrome oxydase.

Le test de l'oxydase est utilisé pour identifier les bactéries qui ont dû cytochrome c oxydase, une enzyme de la chaîne de transport d'électrons des bactéries. Lorsqu'il est présent, le cytochrome c oxydase oxyde le réactif (tétraméthyl-p-phénylènediamine) à (indophénols) produit final de couleur pourpre. Lorsque l'enzyme est absente, le réactif reste réduite et est incolore (Schmauder, 2005).

Toutes les bactéries qui sont oxydase positifs sont aérobies, et peuvent utiliser l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons dans la respiration. Cela ne signifie pas qu'ils sont aérobies stricts. Les bactéries qui sont oxydase-négatives peuvent être anaérobie, aérobie ou facultative ; le résultat de l'oxydase négatif signifie simplement que ces organismes ne possèdent pas le cytochrome c oxydase qui oxyde le réactif de test. Ils peuvent respirer à l'aide d'autres oxydases dans le transport d'électrons (Schmauder, 2005).

Les souches que nous avons testées ne possèdent pas le cytochrome oxydase et d'après Alvarez *et al.* (1998) ; Lamichhane et Varvaro (2012) ; Cinelli *et al.* (2014) les *Pseudomonas savastanoi* *pv* *savastanoi* sont oxydase négative et ne possèdent pas le cytochrome oxydase.

Pour le test levane, tous les 34 isolats sont levane négatif, la réaction négative s'exprime après 5 jours d'incubation. Levane est un polysaccharide microbien communément appelé le polyfructose, se compose de β - (2, 6) des unités -fructosyl-fructose reliés entre eux par des liaisons glucosidiques, Levan est non-toxique, non transparente et reflète la lumière visible (Divya et Sugumaran, 2015).

La synthèse nécessite levansucrase, une enzyme extracellulaire, ce qui augmente la production de levane lorsque le saccharose est fourni comme substrat. L'enzyme levansucrase catabolise saccharose et convertit le fructose en levane. Cette réaction est appelée comme "transfructosylation". La production du levane peut être inhibée par les sucres tels que le glucose, le lactose, le D-xylose, L-arabinose, le maltose (Divya et Sugumaran, 2015).

Les isolats testés sont des levane négatif, nos résultats sont identiques aux ceux de Lamichhane et Varvaro (2012) ; Cinelli *et al.* (2014) ; Marchi *et al.* (2005).

Marchiet *al.* (2005) ont considéré que les *Pseudomonas savastanoipvsavastano* comme des bactéries à levane négatif typique mais ils ont isolé quelques souches de *Pseudomonas savastanoipvsavastano* à partir des galles d'olivier en Italie et on les considéré comme des bactéries à levane positif.

Test pectinase a été réalisé en utilisant les 34 isolats obtenues à partir de nos échantillons, ces souches n'ont pas pu causer des symptômes de la pourriture molle de pomme de terre après 15 jours d'incubation ce qui indique que sont incapable de dégrader la pectine. La pectine est un polymère ayant des groupes glucidiques estérifiées avec du méthanol, l'acide D-galacturonique est l'un des principaux composants de la pectine. La pectine est un composant important de la paroi cellulaire végétale. Il est présent en concentration la plus élevée dans la lamelle moyenne, où il agit en tant que substance de cimentation entre les cellules adjacentes. Les phytopathogènes attaquent les cellules cibles produisant une enzyme qui dégrade les cellules qui facilite l'entrée et l'expansion de l'agent pathogène dans le tissu hôte (Venkata Naga raju et Divaka, 2013).

Nos résultats s'accordent avec ceux de Alvarez (1998) ; Lamichhane et Varvaro (2012) et qui ont également rapporté que les *Pseudomonas savastanoipv. savastanoi* n'ont pas la capacité de dégrader la substance pectolytique de la pomme de terre alors que le test a été observé positif en cas de *Pseudomonas viridiflava* et *P. marginalis*.

Pour le test arginine, tous les isolats testés ont été arginine négatif, cela indique nos souches sont incapables de dégrader l'arginine.

L'arginine dihydrolase catalyse l'hydrolyse de l'arginine en l'ornithine, NH_3 et CO_2 , avec un gain d'ATP. Cette réaction peut avoir lieu dans des conditions anaérobies fournissant un moyen pour les organismes aérobies de produire de l'énergie en l'absence d'oxygène libre. Tous ces procédés ont été développés pour les bactéries Gram-négatives, non fermentaire (en particulier les espèces de *Pseudomonas* (Ottow, 1974).

Les résultats du test arginine est identique aux résultats de Gardanet *al.* (1992) ; Alvarez *et al.* (1998) ; Lamichhane et Varvaro (2012) et Cinelli *et al.* (2014) où les souches de *Pseudomonas savastano* testés sont arginine négatif.

L'agent pathogène identifié *Pseudomonas* aux caractères primaires du LOPAT (Levan négative, pouvoir pectolytique négative, arginine négative et l'hypersensibilité sur feuille de tabac est positif) et fait partie des *Pseudomonas* (Lelliott *et al.*, 1966).

Pour le test de pathogénicité, 20 isolats purs ont été testé par simple inoculation au niveau des tiges des plantes d'olivier variété chemlal âgé un an. Ce test est pour confirmer le postulat de Koch et déterminé l'espèce étudié.

Parmi les 20 isolats testés, 11 isolats ont donné des galles typiques après deux mois de la date d'inoculation. D'après Lamichhane(2012) l'inoculation artificielle des arbres d'oliviers(*Oleae. europaea*) après 3 à 4mois par les souches de *Pseudomonas savastanoipvsavastanoi* donnent des galles typiques et identique aux celles d'isolement.

Le test de pathogénicité confirme que ces 11 isolats sont des *Pseudomonas savavstanoipvsavastanoi* à cause des galles typiques qui sont apparu sur les plantules d'olivier après 2 mois d'inoculation.

Conclusion

Conclusion

Conclusion :

Au cours de ce travail, nous avons effectué des échantillonnages dans une oliverie située dans la région d'Ain El Ibel à Djelfa pour identifier l'agent causal. Les tumeurs observées sur les rameaux d'olivier rappelant les excroissances causées dans le cas d'une attaque par la tuberculose d'olivier, une des maladies les plus graves qui produise des dommages sur cette culture affectant même la qualité des fruits et le rendement.

Les isollements des bactéries ont été effectués à partir des tumeurs qui se trouvent dans des jeunes rameaux. Les isollements sur les deux milieux de culture King B et LPGA ont permis la sélection de 36 isolats en se basant sur les caractéristiques morphologiques de leurs colonies. Le milieu semi sélectif King B permet la production de fluorescéine pigment jaune vert fluorescent. Le dénombrement effectué sur les deux milieux de culture utilisés pour l'isolement montre que le taux de *Pseudomonas* dans le milieu KB par rapport au LPGA pour les trois échantillons varie entre 10 et 30 %.

Les tests physiologiques et biochimiques qui ont été faite pendant notre expérimentation sont les tests préliminaires, le test LOPAT et le test de pathogénicité. La coloration de Gram et le test KOH ont montré que nos souches sont des bacilles à Gram négatif alors que le test Fermentation/ Oxydation confirme que nos isolats sont des bactéries aérobies strictes.

Concernant le test LOPAT a été réalisé, nous avons prouvé que l'ensemble des tests (levane, oxydase, arginine et pectinase) sont négatifs. Le test d'hypersensibilité n'a pas été réalisé par manque des plantules de Tabac.

Le test de pathogénicité nous a permis après deux mois de la date d'inoculation de 20 isolats de démontrer que nos souches sont capables d'introduire des tumeurs caractéristiques et identiques à celles observées dans la parcelle.

Les résultats de ces tests nous ont permis de caractériser et identifier 11 isolats comme *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* l'agent causal de la tuberculose d'olivier.

Comme pour la plupart des maladies bactériennes, les méthodes prophylactiques restent l'essentiel de l'arsenal mis à disposition pour lutter biologiquement contre l'agent pathogène. Les risques d'infestation des arbres d'olivier par la tuberculose peuvent être potentiellement réduits en veillant à :

- L'application de différentes méthodes de lutte dans le cadre de la lutte intégrée.

Conclusion

- La taille des oliviers doit être hors la période de la pluie et la rosée.
- La Taille des arbres attaqués en dernier lieu.
- La désinfection des outils de la taille.
- Utilisation des cultivars résistants à cette maladie.

Enfin et pour faire suite à cette étude, plusieurs pistes de travail peuvent être envisagées comme perspectives :

- Caractériser génotypiquement les différents isolats de *Pseudomonas savastanoi* chez l'olivier.
- Etudier certaines caractéristiques essentielles telles que les facteurs de virulence et leurs rôles dans l'induction de la maladie chez l'olivier.
- Mettre en évidence la capacité de nos isolats à produire l'acide indole acétique (IAA).
- Déterminer le mécanisme d'action des certains métabolites produite par cette bactérie telle que (l'IAA).

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- **Agrios, G.N. 2005.** Plant pathology. Ed. 05. Academic press. 952 p.
- **Allalout, A. et Zarrouk, M. 2013.** Culture hyperintensive de l'olivier dans le monde et applications en tunisie. N° 157-158. p. 66- 97.
- **Alvarez, F. et al. 1998.** Phenotypic variability in different strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *Savastanoi* isolated from different hosts. In. *European Journal of Plant Pathology*. N°. 104. p. 603–609.
- **Aragon, I.M. 2014.** New insights into the role of indole-3-acetic acid in the virulence of *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*. In Glick, B. *FEMS Microbiology Letters*. Wiley et Sons Ltd. Vol. 356. p. 184-192.
- **Argenson .C., Regis, S., Jourdain, J.M., Vaysse, P. ,1999.** L'olivier.Eds .Centre technique interprofessionnel des fruits et légume (Ctifl), Paris, 204 p.
- **Bari, A., et al. 2002.** Use of Fractals to measure biodiversity in plant morphology. World Scientific Publishing. p. 437–438.
- **Bartolini, G. et Petruccelli, R. 2002.** Classification, Origin, Diffusion and History of the Olive. Rome: Food and agriculture organization of the United Nations. 03p.
- **Beck, S. 2002.** NCA Review for the clinical laboratory sciences .Lippencott williams. Ed.04. 303p.
- **Belhouha, A. 2015.** L'olivier, une culture millénaire à la conquête de grands espaces. 55p.
- **Bella, P. et al. 2002.** *Phenotypic Characteristics of Pseudomonas savastanoi* Strains from Various Hosts. In Iacobellis, N.S. *Pseudomonas syringae* and related pathogens. Kluwer Academic Publishers. p 681-686 .
- **Benjama, AH. et Gardan, L. 1995.** Influence de milieu de culture et du temps d'incubation sur la production d'AIA par *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*. N.88. 81p.
- **Benjama, et al. 1987.** Field reaction of different varieties of olive (*Olea europaea* L.) to olive knot disease caused by *Pseudomonas syringae* pv. *Savastanoi* (E.F. Smith) Stevens. Third International Working Group on *Pseudomonas syringae* pathovars. p. 41–52.
- **Benouafa, S. 2011.** L'oléiculture en Algérie. Medétérannen Agriculture. N°4. 31p.
- **Bervillé, A. et Breton, C. 2012.** Histoire de l'olivier. Quae. 224 p.

Références bibliographiques

- **Beveridge, T.J. et L.L. Graham. 1991.** Surface Layers of Bacteria. *Microbiol Rev.* Vol.55. N°. 04. p. 684-705.
- **Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X., et L. Gardan. 2000.** The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. Vol.20. N°01. p.51-53.
- **Bottani, D. 1994.** Le guide des routes de l'olivier. Lyon : la manufacture. 116p.
- **Caballero, J. M. et delRio, C. 2008.** El Cultivo del Olivo. In. D. Barranco, R. Fernandez-Escobar, L. Rallo. Mundi-Prensa. Madrid. p. 93–125.
- **Campos, A. et al. 2009.** Identification of bacterial protein markers and enolase as a plant response protein in the infection of *Olea europaea* subsp. *europaea* by *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*. In *European Journal of Plant Pathology*. Springer. Vol. 125. P. 603–616.
- **Castillejo, M. A., Amiour, N., Dumas-Gaudot, E., Rubiales, D., & Jorrín, J. V. 2004.** A proteomic approach to studying plant response to crenate broomrape (*Orobanche crenata*) in pea (*Pisum sativum*). In *Phytochemistry*. Vol. 65. p. 1817–1828.
- **Cayuela, J. A., Rada, M., Rios, J. J., Albi, T., et Guinda, A. 2006.** Changes in phenolic composition induced by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* infection in olive trees : presence of large amounts of verbascoside in nodules of tuberculosis disease. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol.54. p. 5363–5368.
- **Chevalier, A. 1948.** L'origine de l'olivier cultivé et ses variations. In. *Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale*. Vol. 28. N°303. p. 1-25.
- **Cinelli, T. et al. 2014.** PsaM2I, a type II restriction–modification system in *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*: differential distribution of carrier strains in the environment and the evolutionary history of homologous RM systems in the *Pseudomonas syringae* complex. In *Microbial Ecology*. Springer Science. Vol 68. p. 842-858.
- **Davies, J. A., et al. 1983.** Chemical Mechanism of the Gram Stain and Synthesis of a New Electron-opaque Marker for Electron Microscopy Which Replaces the Iodine Mordant of the Stain. In. *Journal Bacteriol.* Vol. 156. Vol. 02. p. 837-845.
- **Denis, F. et al. 2007.** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Masson. 51pp.

Références bibliographiques

- **Divya, J.M. et Sugumaran, K.R. 2015.** Fermentation parameters, condition affecting Levan production, and its applications. In. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. Vol. 07. N°02. pp. 861-865.
- **Douat, R. 1998.** Guide complet de la culture de l'olivier. Paris : De Vecchi, 130p.
- **Elkhalfi, B. et al. 2013.** Antibacterial activity of plant methanolic extracts on a field isolate of *Pseudomonas syringae pv tomato* from the Casablanca region (Morocco). In. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. Vol.4. p. 1-9.
- **Ercolani, G.L. 1978.** *Pseudomonas savastanoi* and Other Bacteria Colonizing the Surface of Olive Leaves in the Field. In *Journal of General Microbiology*. Microbiology Society. Vol. 109. P. 245-257.
- **Ercolani, G.L. 1991.** Distribution of epiphytic bacteria on olive leaves and the influence of leafage and sampling time. In *Microbial Ecology*. Springer. Vol. 21. No. 1, p. 35-48.
- **Ercolani, G.L. 1970.** Presenza epifitica di *Pseudomonas savastanoi* (E. F. Smith) Stevens sull'olivo, in Puglia. In *Phytopathologia Mediterranea*. Vol.10. p.130–132.
- **Fahy, P. C. et Parsley, G. C. 1983.** A Diagnostic Guide. In. *Plant Bacterial Diseases*. London : Academic Press. p 110-111.
- **Fayard, M.L. 2011.** Olive knot. UC Statewide. p. 1-3.
- **Gaby, W. L. et Free, L. 1958.** Differential diagnosis of pseudomonas-like microorganisms in the clinical laboratory. In. *Journal of Bacteriology*. Vol.76. p.442–444.
- **Gardan, L. et al. 1992.** DNA Relatedness among the Pathovar Strains of *Pseudomonas syringae subsp. savastanoi* Janse (1982) and Proposal of *Pseudomonas savastanoi* sp. nov. In. *International journal of systematic bacteriology*. No.4. Vol.42. p. 606-612.
- **Godena, S. et al. 2009.** The occurrence of olive knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi* in the northwest region of Isthrian peninsula. p. 467- 471.
- **Guerrero Maldonado, N., Lopez, M. J., Caudullo, G. et de Rigo, D. 2016.** *Olea europaea* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In : San-Miguel-Ayán, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston-Durrant, T., Mauri, A. *European Atlas of Forest Tree Species*. Publ. Off. EU, Luxembourg. 111. p.

Références bibliographiques

- **Halebian, S. et al. 1981.** Rapid method that aids in distinguishing Gram-positive from Gram-negative anaerobic bacteria. In *Journal of clinical microbiology*. Vol. 13. No.3. p. 444-448.
- **Hall, B. H. 2004.** Short research notes First report of olive knot caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoion* olives (*Olea europaea*) in Australia. In *Australasian Plant Pathology*. Csiro publishing. Vol 33. p. 433–436.
- **Harrigan, W. F. 1998.** Laboratory methods in food microbiology. Academic press. 108p.
- **Horne, T. et al. 1912.** The method of spreading of the olive knot disease. In *Phytopathology*. Vol. 2. p. 101-105.
- **Iacobellis, N. S. et al. 1994.** Pathogenicity of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* mutants defective in P. production. In *Journal of Phytopathology*. Wiley. Vol. 140. p. 238–248.
- **Iacobellis, N.S. 2001.** Olive knot. Malloy, O.C. et Murray, T.D. In *Encyclopaedia of plant pathology*. Malloy. John Wiley& Sons. Vol. 2. p. 713–715.
- **Ignjatov, M. et al. 2007.** Characterization of *Pseudomonas savastanoi* pv. *Glycinea* isolates from vojvodina. In *Phytopathological Society*. Vol. 45. p.43–54.
- **Janse, D.J. 1982.** *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* (ex Smith) subsp. nov., nom. rev., the Bacterium Causing Excesc enceson *Oleaceae* and *Neriurnoleander L.* In *International journal of systematic bacteriology*. No. 2. Vol. 32. p. 146-169.
- **Janse, J.D. 1981.** The bacterial disease of ash (*Fraxinus excelsior*) caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*pv. *fraxini II*. In *Etiology and taxonomic considerations. European Journal of Forest Pathology*. Vol. 11. p. 425–438.
- **Kacem, M. et al. 2009.** Antimicrobial activity of *Rhizobium* sp. Strains against *Pseudomonas savastanoi*, the agent responsible for the olive knot disease in Algeria. In *Grasas Aceites*. Vol. 60. p. 139–146.
- **Klement, Z. 1992.** Méthode in phytobacteriology. Ed printed : Hungary. 568p.
- **Krid, S. 2011.** Biocontrol of olive knot disease by *Bacillus subtilis* isolated from olive leaves. In *Annals of Microbiology*. Springer. Vol.62. p. 149–154.
- **Krid, S. et al. 2011.** Epidemiologie etiologie de *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*, agent causal de la tuberculose de l’olivier rn tunisie. In *Revue Ezzaitouna*. Vol.12. p.1-10.

Références bibliographiques

- **Lamichhane, J.R. et Varvaro, L. 2012.** Epiphytic *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* can infect and cause olive knot disease on *Olea europaea* subsp. *cuspidata*. In *Australasian Plant Pathol.* Vol. 42. p. 219–225.
- **Lavermicocca, P. et al. 2003.** Control of olive knot disease with a bacteriocin, In: Iacobellis, N.S. et al. *Pseudomonas syringae and related pathogens: Biology and Genetics*. Springer. p. 451-457.
- **Lavermicocca, P., Lonigro, S.L., Valerio, F., Evidente, A., et Visconti, A. 2002.** Reduction of olive knot disease by a bacteriocin from *Pseudomonas syringae* pv. *Ciccaronei*. In *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 68. No. 3. p. 1403-1407.
- **Le Minor, L. et Veron, M. 1989.** Bactériologie Médicale. Flam Med. Science. PP. 333-823.
- **Lelliott, R.A. et Stead, D.E. 1987.** Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Vol. 2. British Society for Plant Pathology and Blackwell, London.
- **Lelliott, RA. , Billing, E. et Hayward, AC. 1966.** A determinatives cheme for fluorescent plant pathogenic bacteria. In *J Appl Bacteriol.* Vol. 29. P.470–478.
- **Lousert, R. et Brousse, G. 1978.** L'olivier technique agricole et production méditerranéenne. Ed. G.P. Maisoneuve et larose. 437p.
- **Maillard, P. 1975.** L'olivier. In. *Comité technique de l'olivier section spécialisée de l'INVFLEC*. Paris. 137 p.
- **Maldonado, NG. et al. 2016.** *Olea europaea* in Europe : distribution, habitat, usage and threats. 111p.
- **Marchi, G. et al. 2005.** Spread of levan-positive populations of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, the causal agent of olive knot, in central Italy. Springer. p. 102-110.
- **Marchi, G. et al. 2009.** Systemic spread of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive explants. In *Plant Pathology*. Journal compilation. Vol. 58. No. 1. p. 152-158.
- **Marchi, G., Sisto, A., Cimmino, A., Andolfi, A., Cipriani, M.G., Evidente, A. et Surico, G. 2006.** Interaction between *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* and *Pantoea agglomerans* in olive knots. In *Plant Pathology*. Vol. 55. No. 5. p. 614-624.
- **Martin, G. C. 2008.** The Woody Plant Seed Manual, F. T. Bonner, R. P. Karrfalt, eds. Agriculture Handbook 727 U.S. Department of Agriculture, Forest Service. p. 753–756.

Références bibliographiques

- **Mavrodi, D. V., R. F. Bonsall, S. M. Delaney, M. J. Soule, G. Phillips, et L. S. Thomashow. 2001.** Functional analysis of genes for biosynthesis of pyocyanin and phenazine-1-carboxamide from *Pseudomonas aeruginosa*. In *J. Bacteriol.* Vol. 183. p. 6454- 6465.
- **Montesinos, E., et López, M.M. 1996.** Métodos de control de las bacteriosis. In G., López, M.M. et al. *Patología Vegetal*. Sociedad Española de Fitopatología- Phytoma España. S.L.- GrupoMundi-Prensa. p. 653-678.
- **Moquin-Tandon, A. 1861.** Éléments de botanique médicale. pp.390.
- **Moreaux, S. 1997.** L'Olivier. France : Actes Sud. 15p.
- **Osman, W.A., Tarabeih, A.M. et Michail, S.H. 1980b.** Studies on olive knot disease in Iraq with reference to response of different cultivars. In *Mesopotamia Journal of Agriculture*. Vol.15. p. 245–261.
- **Ottow, J.C.G. 1974.** Arginine Dihydrolase Activity in Species of the Genus *Bacillus* Revealed by Thin-layer Chromatography. In *Journal of General Microbiology*. Vol.84. p. 209-213.
- **Pagnol, J. 1999.** L'huile d'olive. Genève : Aubanel. 175p
- **Panagopoulos, CG.1993.** Olive knot disease in Greece. In *Bulletin OEPP. EPPO Bulletin. European and Mediterranean Plant Protection Organisation*. Vol.23. P. 417-422.
- **Penyalver, R. et al. 2006.** Factors affecting *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* plant inoculations and their use for evaluation of olive cultivar susceptibility. In *Phytopathology*, Vol. 96, No. 3. p. 313-319.
- **Quesada, J. 2012.** Epidemiology and Control of Plant Diseases Caused by Phytopathogenic Bacteria: The Case of Olive Knot Disease Caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*. In Cumagun, CJ. *Plant Pathology*. p. 300-315.
- **Quesada, J.M. et al. 2010a.** Dissemination of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations and subsequent appearance of olive knot disease. In *Plant Pathology*. Vol. 59. No. 2. p. 262–269.
- **Quesada, J.M., García, A., Bertolini, E., López, M.M., et Penyalver, R. 2007.** Recovery of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* from symptomless shoots of naturally infected olive trees. In *International Microbiology*. Vol. 10. No. 2. p. 77-84.

Références bibliographiques

- **Ramos, C. et al. 2012.** *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*: some like it knot. In. *Molecular Plant Pathology*. BSPP and Blackwell publishing LTD. Vol 13. P.998-1009.
- **Rodríguez-Moreno, L., Barceló-Munõz, A. et Ramos, C. 2008.** In vitro analysis of the interaction of *Pseudomonas savastanoi* vs. *savastanoi* and *nerii* with micropropagated olive plants. In. Subbarao, K.V. *Phytopathology. phytopathological society*. Vol.98. No. 7. p.815 – 822.
- **Rojas, A.M., García de los Ríos, J.E., Fischer-Le Saux, M., Jiménez, P., Reche, P., Bonneau, S., Sutra, L., Mathieu-Daudé, F., et McClland, M. (2004).** *Erwinia toletana* sp. Nov, associated with *Pseudomonas savastanoi*-induced tree knots. In *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 54. No. 6. p. 2217- 2222.
- **Rokni, Z.H. et al. 2008.** Biocontrol of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, causative agent of olive knot disease: antagonistic potential of non-pathogenic rhizosphere isolates of fluorescent *Pseudomonas*. In *Commun Agric Appl Biol Sci*. Vol. 73. p. 199–203.
- **Saravanakumar, D. et al. 2007.** PGPR-induced defence responses in the tea plant against blister blight disease. In *Crop, Protect*. Vol. 26. p. 556–565.
- **Schmauder, H.P. 2005.** Methods in biotechnology. Taylor and Francis. 257 pp.
- **Schroth, M.N. et al. 1968.** Off-flavor of olives from trees with olive knot tumors. In *Phytopathology*. Vol. 58. p. 524-525.
- **Schroth, M.N., Osgood, J.W., et Miller, T.D. 1973.** Quantitative assessment of the effect of the olive knot disease on olive yield and quality. In *Phytopathology*. Vol. 63. No. 8. p. 1064–1065.
- **Schroth, M.N. et al. 2006.** Phytopathogenic *Pseudomonads* and Related Plant-Associated *Pseudomonads*. In *Prokaryotes*. Vol.06.p.714–740.
- **Scortichini, M. 2004.** Relationship of genetic structure of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations from Italian olive trees and patterns of host genetic diversity. In *Plant Pathology*. Blackwell Publishing, Ltd. 491p.
- **Scortichini, M. et al. 20014.** In Genome Plasticity and Dynamic Evolution of Phytopathogenic *Pseudomonads* and Related Bacteria. *Plasticity in Plant-Growth-Promoting and Phytopathogenic Bacteria*. Springer Science. p. 99-129.
- **Scotto, E. 1995.** L'huile d'olive. Paris : édition du chêne.200p.

Références bibliographiques

- **Scrivani, P. et Bugiani, A. 1955.** Messaggio di un metodo per la riproduzione artificiale della rogna dell'Olivo e risultati dei primisaggi per l'uso di sostanze antibiotiche. In *L'Italia Agricola*, Vol. 92. p. 361-369.
- **Shila, S. J. et al. 2013.** Detection of *Pseudomonas Syringae* pv. *Lachrymans* associated with the seeds of cucurbits. In *Universal Journal of Agricultural Research*. Vol. 1. No.1. p. 1-8.
- **Sisto, A. et al. 2004.** Knot Formation Caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* on Olive Plants Is hrp-Dependent. In *phytopathologie*. The American Phytopathological Society. Vol. 94. No. 5. p. 484-489.
- **Sisto, A. et Iacobellis, N.S. 1999.** Olive knot disease: pathogenic and epidemiological aspects and defence strategies. In *Olivo and Olio*. Vol. 2. p. 32-38.
- **Sisto, A., et al. 2001.** Preliminary results on the response of olive cultivars to artificial inoculation with *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*. In 'Proceedings of the 11th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union and 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologia. p. 240-242.
- **Skerman, V., McGowan, V. et Sneath, P.H.A. 1980.** Approved list of bacterial names. In *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 30. p. 225-420.
- **Smith, ER. et Rorer, JB. 1904.** The olive tubercle. In *Science*. Vol. 480. P. 416-417.
- **Surico, G. 1988.** Indol acetic acid and cytokinins in the olive knot disease. In Baily, J. *An overview of their role and their genetic determinants. Biology and Molecular Biology of Plant Pathogen Interaction*. p.315-329.
- **Surico, G. et Iacobellis, N.S. 1992.** Phytohormones and olive knot disease. In *Molecular signals in plant-microbe communications*. CRC Press. Boca Raton. p. 209-229.
- **Sutton, S. 2006.** The Gram Stain. In *PMF Newsletter*. Vol.12. No.02. p. 1-9.
- **Teviotdale, BL. 1994.** Diseases of olive. In Ferguson, L. et al. *Olive production manual*. University of California Publication No. 3353. p. 107.
- **Therios, I. 2008.** Olives. p. 18-20.
- **Thornley, M.J. 1960.** The Differentiation of *Pseudomonas* from other gram negative bacteria on the basis of arginin metabolism. In *Journal applied bacteriology*. Vol. 1. p. 3-52.

Références bibliographiques

- **Tjamos, E.C. et al. 1993.** Conference on olive diseases. In *Bulletin OEPP / EPPO Bulletin*. Vol. 23. No. 3. p. 365-550.
- **Trapero, A. et Blanco, M.A. 1998.** Enfermedades. In. Barranco, D. et al. *El cultivo del olivo*, Junta de Andalucía- Mundi-Prensa, p. 461-507.
- **Uzzan, A. 1992.** L'huile d'olive. In *Manuel des corps gras*. Paris : Lavoisier. p. 221-228.
- **Vargas, P. et Talavera, S. 2012.** *Flora Iberica: plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares, Volume 11 Gentianaceae-Boraginaceae*, S. Talavera, et al., eds. Real Jardín Botánico, CSIC. Map. p. 136–139.
- **Venkata Naga raju, E. et Divaka, G. 2013.** Screening and Isolation of Pectinase producing Bacteria from Various Regions in Bangalore. In. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol. 04. N°01. pp. 151- 154.
- **Villemeur, P. et Dosba, F. 1997.** Oléiculture. In. *Evaluation variétale et acquisition de la maîtrise des pratiques culturales*. OCL. Vol. 4. N.5. pp. 351 – 355.
- **Viola, P. 1998.** L'olivier, l'huile d'olive. In *Conseil Oléicole International*. 115p.
- **Waladi, L.D. 2003.** L'amendier, l'olivier, le figuier, le grenadier. In. *Transfer de technologie en agriculture*. N°105. 2 p.
- **Wilson, E.E. 1935.** The olive knot disease: its inception, development and control. In *Hilgardia*. Vol. 9. p. 233-264.
- **Yamada, T. et al. 1985.** Nucleotide sequences of the *Pseudomonas savastanoi* in oleoacetic acid genes show homology with *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA. In *Biochemistry*. Proceedings of the National Academy of Sciences. Vol. 82. p. 6522-6526.
- **Young, J.M. 2004.** Olive knot and its pathogens. In *Australasian Plant Pathology*. Csiro Publishing. Vol 33. p. 33-39.
- **Young, J.M. 2010.** TAXONOMY OF *PSEUDOMONAS SYRINGAE*. In. *Journal of Plant Pathology*. Edizioni ETS Pisa. Vol. 92. pp. S1.5-S1.14.
- **Young, J.M. et al. 1978.** A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. In. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. Vol. 21. p. 153–174.
- **Young, J.M., Bradbury, J.F., Davis, R.E., Dickey, R.S., Ercolani, G.L., Hayward, A.C. et Vidaver, A.K. 1991.** Nomenclatural revisions of plant pathogenic bacteria and

Références bibliographiques

list of names 1980–1988. In. *Subcommittee on Taxonomy of Phytopathogenic Bacteria. Review of Plant Pathology*. Vol. 70. p. 211–22.

- **Young, JM. et al. 1996.** Names of plant pathogenic bacteria 1864–1995. In *Review of Plant Pathology*. p. 721-763.
- **Zohary, D. ; Hopf, M. et Weiss, E. 2000.** Domestication of Plants in the Old World. In. *Oxford University Press*.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Les milieux de cultures utilisés.

1. Milieu LPGA :

Extrait de levure	5g
Bactopeptone	5g
Glucose	10g
Agar bactériologique	18g
Eau distillée	1L

2. Milieu King B :

Peptone	20g
Glycérol	15ml
K ₂ HPO ₄	1,5 g
MgSO ₄	1,5 g
Agar	18 g
Eau distillée	1L

3. Milieu Hugh et Leifson :

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

4. Milieu Arginine :

Bactopeptone	1g
NaCl	5g
K ₂ HPO ₄	3g
Rouge de phénol 0,1%	10ml
Arginine	10mg
Agar	18 g
Eau distillée	1L

5. Levane :

Extrait de levure	3g
Bactopeptone	5g
Saccharose	50 g
Agar	18 g