#### République Algérienne Démocratique et populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

### Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Agronomiques Spécialité : Protection des plantes cultivées

#### Thème

Mise en évidence d'<u>Erwinia amylovora</u> à partir d'échantillons de deux espèces de Rosacées à pépins, pommier (Hanna) et poirier (Santa maria) dans deux vergers de la région de Draa Ben Khedda

Présenté par : Mme HAOUA Dalila

Mme SAADA Ouerdia

Dirigée par : OUALI-ABDOUNE S. Maitre assistante chargée de cours UMMTO

Devant le jury:

**Président**: Mme MEDJDOUB-BENSAAD F. Professeur UMMTO

**Examinateurs :** Mme HELLAL Z. Maitre assistante chargée de cours UMMTO

Melle DERMECHE S. Maitre assistante chargée de cours UMMTO

**Promotion 2015-2016** 



On remercie d'abord le bon Dieu qui nous a donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

Notre profonde expression de reconnaissance est destinée à notre promotrice Mme OUALI-ABDOUNE S. Maitre assistante et chargée de cours au département de biologie de l'université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou pour ses conseils, son suivi et ses orientations.

Nous tenons à remercier Mme MEDJDOUB-BENSAAD F. Professeur au département de biologie de l'université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou d'avoir accepté de présider le jury.

Nous souhaitant également adresser nos sincères remerciements aux membres du Jury Mme TALEB K. Maitre de conférence classe B au département de biologie et Melle DERMECHE S. Maitre assistante et chargée de cours au département de biologie de l'université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou.

Nos sincères remerciements vont également au propriétaire des vergers d'étude. Enfin, On tient à remercier Mme LETIFI S. Chef de service, responsable du laboratoire de bactériologie de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) d'Alger ainsi que LILA, Inspectrice principale phytosanitaire à l'INPV pour sont aide, ses conseils et sa patience et Mme KEBIR N. Chef de service bactériologie à la Station Régionale de la Protection des Végétaux pour ses orientations, sans oublier tous ceux qui ont contribué de proche ou de loin à la réalisation de ce travail.

# Dédicaces

## On dédie ce travail à :

Nos parents pour leurs sacrifices et leur patience, en nous aidant à aller vers l'avant, vers un avenir meilleur, que dieu les garde.

A toute ma famille;

A nos enfants;

A nos chères amies ;

A tous nos amis (es) de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques.

# Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction générale	1
Première partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre I- Pommier et poirier	
I-1- Généralités	3
I-1-1- Historique et origine du pommier	
I-1-2- Importance économique	
I-1-2-1- Dans le monde	
I-1-2-2- En Algérie	
I-1-2-3-Dans la wilaya de Tizi-Ouzou	
I-1-3- Position systématique	
I-1-4-Morphologie du pommier	
I-1-4-1-Système racinaire	
I-1-4-2-Système aérien	
I-1-5-Stades phénologique du pommier	
I-1-6-Exigences pédoclimatiques	
I-1-6-1- Exigences climatiques	
I-1-6-2-Exigences hydriques	
I-1-6-3-Exigences pédologiques	
I-1-7-Principales variétés du pommier	
I-1-8-Valeur nutritionnelle du fruit	9
I-1-9-Contraintes de la culture	
I-1-9-1-Contraintes abiotiques	10
I-1-9-2-Contraintes biotiques	
I-2-Généralités sur le poirier	11
I-2-1-Historique et origine du poirier	11
I-2-2-Importance économique	12
I-2-2-1-Dans le monde	12
I-2-2-2-En Algérie	12

I-2-2-3-Dans la wilaya de Tizi-Ouzou			
I-2-3-Position systématique	14		
I-2-4-Morphologie du poirier	14		
I-2-4-1-Système racinaire	15		
I-2-4-2-Partie aérienne	15		
I-2-5- Stades végétatifs	16		
I-2-6-Exigences pédoclimatiques de la culture	16		
I-2-6-1-Exigences climatiques.	16		
I-2-6-2-Exigences édaphiques	17		
I-2-5-3-Exigences hydriques	17		
I-2-7- Principales variétés.	17		
I-2-8-Importance nutritionnel	17		
I-2-9-Contraintes de la culture	18		
I-2-9-1-Contraintes abiotiques	18		
I-2-9-2-Contraintes biotiques	18		
Chapitre II- <i>Erwinia amylovora et</i> le feu bactérien			
II-1- Généralités	20		
II-2-Historique et origine du feu bactérien	20		
II-3- Le feu bactérien dans le monde	20		
II-4-Le feu bactérien en Algérie	21		
II-5-Description de la bactérie <i>Erwinia amylovora</i>			
II-6-Position systématique	21		
II-7- Cycle biologique	22		
• Infection	22		
Dissémination	22		
Propagation de la maladie	23		
II-9- Plantes hôtes	23		
II-10- Eléments de reconnaissance du feu bactérien	24		
II-11-Description des symptômes sur rameau	25		
II-12-Moyens de Lutte	26		
II-13-Sensibilité au feu bactérien de quelques variétés de pommier et poirier			

#### Deuxième partie : Partie pratique

#### Chapitre III : Matériels et méthodes

III-1-Présentation de la région d'étude Draa Ben Khedda	28
III-1-1-Localisation des sites d'étude	28
III-1-2-Caractéristiques climatiques de la région d'étude	29
III-1-2-1-Température	29
III-1-2-2-Pluviométrie	31
III-1-2-3-Humidité relative	32
III-2-Matériels et méthodes	32
III-2-1-Echantillonnage sur le terrain.	34
III-2-1-1-Matériels	34
Matériel végétal	34
Matériels d'échantillonnage	34
III-2-1-2-Méthodes d'échantillonnage	34
Verger de pommier (asymptomatique)	34
Verger de poirier (symptomatique)	35
III-2-2-Diagnostic au laboratoire	36
III-2-2-1-Matériels et réactifs utilisés au laboratoire	36
III-2-2-Méthodes de diagnostic	36
III-2-2-2-1-Préparation des milieux de culture et des réactifs	36
A-Préparation des milieux LPGA et NAS	37
B-Préparation du milieu sélectif CCT	38
C-Préparation du milieu Hugh et Leifson	38
III-2-2-2-Préparation des échantillons asymptomatiques et symptomatiques	39
A-Echantillon asymptomatique.	39
B-Echantillon symptomatique	39
C-Prélèvement d'exsudat sur l'échantillon symptomatique	40
III-2-2-3-Extraction	40
III-2-2-4-Isolement sur les différents milieux de culture (LPGA, NAS et CCT	)40
III-2-2-5-Incubation	41
III-2-2-6-Purification	41

III-2-2-7-Identification	41
A-Tests d'orientation ou test biochimiques	41
a-Test de KOH 3%(détermination de Gram)	42
b-Test oxydase	42
c-Test catalase	43
d-Test d'Hugh et Leifson (H&L)	43
B-Test d'hypersensibilité sur tabac	44
C-Test sérologique (Immunofluorescence (IF))	44
Chapitre IV : Résultats et discussions	
IV-1-Résultats de l'isolement	45
IV-2-Résultat et discussion des tests.	46
IV-2-1-Tests biochimiques.	1.0
	46
A-Test de KOH 3% (détermination de Gram)	
A-Test de KOH 3% (détermination de Gram)  B-Test oxydase	46
	46 47
B-Test oxydase	46 47
B-Test oxydase  C-Test de la catalase	46 47 48

Conclusion et perspectives Références bibliographiques Annexes

#### Liste des abréviations :

PNDA: Programme National du Développement Agricole.

ITAF : Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière.

GSPG: Groupe Semences Plants et Géniteurs, ex GDSP.

FNDIA : Fond National du Développement de l'Investissement Agricole.

ONM : Office National de la Météorologie.

DSA: Direction des Services Agricoles.

INPV: Institut National de la Protection des Végétaux.

LPGA: Levane, Peptone, Glucose, Agar.

NAS: Nutrient Agar, Saccarose.

H &L: Hugh et Leifson.

CCT : Cristal de violet, Cycloximide, Thallium nitrate ;

P.B.S: Phosphate Buffered Saline (Tampon phosphate salin).

KB :Milieu King B (Protéase peptone, Glycérine bi destilé, Sulfate de magnesium, Phosphate dibasilique, Agar, Eau destillée).

#### LISTE DES TABLEAUX

Tableaux Pages
<b>Tableau I</b> : Principales maladies du pommier (HOHN, et al., 2011)
Tableau II : Principaux ravageurs (HOHN et al., 2011).    11
Tableau III: Principales maladies du poirier (HOHN et al., 2011).    18
Tableau IV : Les principaux ravageurs du poirier (HOHN et al., 2011).    19
Tableau V : Principales plantes hôtes de la bactérie agent causal du feu bactérien         (MADR, 2011)
Tableau VI: Sensibilité des variétés de pommier et poirier au feu bactérien (MILAGROS LOPEZ ,2013).       27
<b>Tableau VII</b> : Températures mensuelles minimales, maximales et moyennes dans la wilaya de Tizi-Ouzou entre le 01 Juillet 2015 jusqu'au 30Juin 2016 (O.N.M.Tizi-Ouzou, 2016)31
Tableau VIII : Valeurs moyennes des précipitations mensuelles en mm durant la période         allant de Juillet 2015 à Juin 2016 (O.N.M.Tizi-Ouzou, 2016)
Tableau IX: Humidité moyenne (en %) de Juillet 2015 à Juin 2016 (O.N.M.Tizi-Ouzou, 2016)
Tableau VII : Tableau des résultats des tests réalisés    53
<b>Tableau VIII :</b> Spectre de réponse des bactéries phytopathogènes (INPV, 2016)53

#### LISTE DES FIGURES

Figures	Titres			
Figure 1	Evolution de la production de pommes en Algérie durant la période 2006- 2015			
	(MADR, 2015)			
Figure 2	Evolution de la production de pommes durant la période (2006,2015) dans la	4		
	wilaya de Tizi-Ouzou (DSA Tizi-Ouzou, 2015)			
Figure 3	Répartition de la culture du pommier dans la wilaya de Tizi-Ouzou campagne	5		
	2014/2015 (DSA Tizi-Ouzou, 2016)			
Figure 4	Arbre de pommier (photo originale, 2016)	6		
Figure 5	Feuilles, fleurs et fruits de pommier (photos originales, 2016)	7		
Figure 6	Les stades phrénologiques repères du pommier (BLOESCH et VIRET, 2013).	8		
Figure 7	Evolution de la production de poires en Algérie durant la période 2006- 2015	10		
	(MADR, 2015).			
Figure 8	Evolution de la production de poires durant la période (2006,2015) dans la	12		
	wilaya de Tizi-Ouzou (DSA Tizi-Ouzou, 2016)			
Figure 9	Répartition de la culture du poirier dans la wilaya de Tizi-Ouzou durant la	13		
	campagne 2014-2015 (DSA Tizi-Ouzou, 2015)			
Figure 10	Arbre de poirier (photo originale, 2016)	15		
Figure 11	Feuilles, fleurs et fruits de poirier (photos originales, 2016)	15		
Figure12	Stades repères du poirier (FLECKENGER (INRA) in MAURIN, 1999)	16		
Figure 13	Cycle d'Erwinia amylovora (INPV, 2013)	23		
Figure 14	Symptôme du feu bactérien sur rameau (Photos originale, 2016)	25		
Figure 15	Symptômes du feu bactérien sur poirier (DSA, 2011)	25		
Figure 16	Chancres du Feu bactérien sur poirier (Photos originales, 2015)	26		
Figure 17	Sécrétion d'exsudat du feu bactérien sur poirier (BUNTER, 2003)	26		
Figure 18	Présentation de la région de Draa Ben Khedda (DSA, 2016)	28		
Figure 19	Localisation géographique de la zone d'étude (Anonyme, 2016)	29		
Figure 20	Vue générale du verger de pommier (Photo originale, 2016)	29		
Figure 21	Vue générale du verger de poirier (Photo originale, 2016)	30		
Figure 22	Les infestations observées sur le verger de poirier (Photos originales, 2016)	33		
Figure 23	Schéma de l'échantillonnage au niveau du verger de pommier	35		
Figure 24	Prélèvement d'échantillon de pommier (Photos originales, 2016)	35		
Figure 25	Prélèvement d'échantillon de poirier (Photos originales, 2016)	26		

Figure 26	Organigramme des étapes de préparation des milieux LPGA et NAS			
Figure 27	Organigramme des étapes de préparation du milieu CCT			
Figure 28	Organigramme des étapes de préparation du milieu H& L			
Figure 29	Opération de prélèvement des échantillons au laboratoire			
Figure 30	Etalement par épuisement sectoriel dans les milieux de cultures (Photo	41		
	originale, 2016)			
Figure31	Emulsion de la crème bactérienne avec le KOH 3% (Photo originale, 2016)	42		
Figure 32	Emulsion de la crème bactérienne sur la goutte du réactif (Photo originale,	43		
	2016)			
Figure 33	Test Hugh et Leifson (Photo originale, 2016)	44		
Figure 34	Test sérologique (Photo originale, 2016)			
Figure 35	Résultat d'isolement sectoriel après 48 heurs d'incubation sur les trois milieux			
	de cultures (Echantillon de pommier)			
Figure 36	Résultat de l'isolement sectoriel après 48 heurs d'incubation sur les trois	47		
	milieux de cultures (Echantillon de poirier)			
Figure 37	Résultat de l'isolement sectoriel après 48 heurs d'incubation sur le milieu			
	spécifique (CCT)			
Figure 38	Résultat du test KOH 3 % positif (photo original, 2016)	49		
Figure 39	Résultat du test d'oxydase (photo original, 2016)			
Figure 40	Résultat du test de la catalase (photo original, 2016)			
Figure 41	Résultat du testd'Hugh et Leifson (H&L) (Photos originales, 2016)			
Figure 42	Nécrose due à l'inoculation sur feuille de plant de tabac (Photos	53		
	originales, 2016)			
Figure 43	Observation des cellules bacteriennes sous microscope photonique à fluorescence (IF) (original, 2016)	55		
I				

La production fruitière fait partie intégrante de la vie économique et sociale de tous les pays du monde. Le pommier (*Malus domestica* ) est l'espèce fruitière la plus cultivée dans le monde en zone tempérée (CHOUINARD et *al.*, 2000) .

Selon GUIHENEUF(1998) ce type de climat convient aussi à la culture du poirier (*Pyrus communis*) qui appartient à la même famille que le pommier.

Si la culture de la pomme et de la poire, sont prédominantes dans les pays à climat tempéré, l'Algérie et depuis l'indépendance déploie de grands efforts pour mettre fin à l'importation de ces fruits par la bonne conduite du verger, l'amélioration de la production et l'élévation des rendements (SOLTANI et *al* ., 1986).

Depuis le lancement du programme National du Développement Agricole (P.N.D.A), les superficies plantées en pommier et poirier en Algérie ont connu une augmentation considérable, elles sont passées de 28 658 ha en 2006 à 41 011 ha en 2015 pour le pommier et de 20 102 ha en 2006 à 25 059 ha en 2015 pour le poirier. Toutefois, les rendements restent toujours faible et irréguliers, elles sont de l'ordre de 60 à 100 qx/ ha en moyenne (DSA, 2016) par rapport aux normes européennes et par conséquent n'arrivent pas encore à répondre à la demande du consommateur.

Des superficies considérables sont réservées à ces cultures dans la région Tizi-Ouzou, occupées majoritairement par les secteurs privés, notamment dans la région de Draa Ben Khedda, où elles constituent une activité lucrative intéressante.

Les arbres fruitiers forment comme toute espèce végétale un milieu favorable à la propagation des ravageurs et maladies infectieuses (BELHASSAINE, 2014).

Cependant, l'extension de ces spéculations a permit l'installation de certain ravageurs et maladies (champignons, virus et bactéries) spécifiques, diminuant ainsi les rendements et les qualités des fruits produits, notamment les maladies bactériennes.

Parmi les maladies les plus redoutables pour ces cultures, Le feu bactérien qui est une maladie bactérienne hautement contagieuse et extrêmement dangereuse, elle infeste les arbres fruitiers à pépins (pommiers, poiriers, cognassiers) ainsi que diverses plantes sauvages ou d'ornement. Il s'agit d'un organisme nuisible pour lequel la lutte est obligatoire en tout temps et tout lieu.

L'Algérie, a été longtemps épargnée par le feu bactérien, mais des symptômes similaires à cette maladie ont été détectés dans plusieurs vergers du pays, la présence de la bactérie a été confirmée en 2011 (INPV, 2011).

Le feu bactérien n'est pas aisément identifiable. D'autres maladies bactériennes, des champignons, des insectes ou des atteintes mécaniques peuvent entraîner des symptômes similaires, mais parfois aussi très distincts. Une appréciation précise des symptômes permet d'éviter des dépenses et charges inutiles. C'est du mois de mai au mois de septembre qu'il est judicieux d'examiner les plantes-hôtes du feu bactérien (ARENENBERG UML. et *al*, 2006).

Des études ont été menées en Algérie dans le but d'isoler des bactéries du genre *Erwinia* à partir de différentes espèces végétales, on peut citer celles réalisées par LELAALHE (2009) et AOUINA et *al* (2011). D'autres sur l'isolement d'*Erwinia amylovora* à partir du poirier (RAFED, 2015) dans la région de Blida et celui de RHENNAI H. et RHENNAI K.(2016) dans la région de Boumerdes.

Dans ce contexte, et suite à ces études réalisées dans differentes régions de notre pays, nous allons mener une étude au niveau de la région de Draa Ben Khedda de la wilaya de Tizi-Ouzou, dont l'objectif est l'isolement et l'identification d'*Erwinia amylovora* agent du feu bactérien à travers des tests biochimiques et sérologique, sur des échantillons issues de deux vergers de Rosacées à pépins (pommier - poirier).

# Synthèse bibliographique

#### I-1- Généralités sur le pommier

#### I-1-1- Historique et origine du pommier

Le pommier est une espèce fruitière cultivée sur tous les continents du monde. Des études paléontologiques ont révélées la présence du genre *Malus* à l'ère tertiaire. Il serait originaire du Caucase et d'Asie Mineure, Par la suite, le pommier domestiqué a été introduit en Europe et en Afrique du Nord par les Romains et les Grecs (GIRAUD et *al.*, 2014).

Au Moyen âge, le pommier est déjà l'arbre fruitier le plus répandu en France et en Angleterre, particulièrement en Normandie, où seront embarqués les premiers plants à destination de l'Acadie et de la Nouvelle-France (MARTIN, 2008).

Deux types génétiques sont certainement à l'origine de toutes nos variétés : *Malus communis Lamarck* commune dans toute l'Europe et la Russie et *Malus pumila* Miller sa patrie est le Caucase, le proche- Orient et la Russie méridionale (BRETAUDEAU et FAURE, 1991).

#### I-1-2- Importance économique

#### I-1-2-1- Dans le monde

La production de la pomme est la troisième production fruitière en quantité après les agrumes et les bananes avec 76 millions de tonnes (FAO, 2013).

Selon les estimations de la FAO (2013), la Chine est devenue le premier pays producteur de pommes avec environ 37 millions de tonnes, viennent ensuite l'Union Européenne avec 10,3 millions de tonnes, l'Iran avec 4,1 millions de tonnes et la Turquie avec 2,9 millions de tonnes.

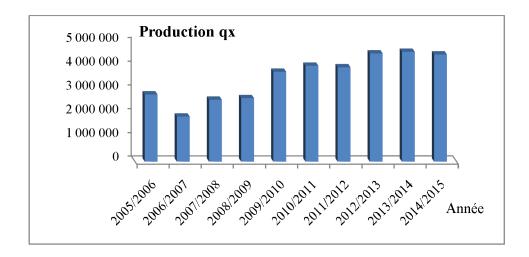
Au Maghreb, le Maroc occupe la première place tant pour la production que le rendement qui reste supérieur à 100 qx / ha et conserve cette place depuis une dizaine d'années (OUKABLI, 2004).

#### I-1-2-2- En Algérie

La production de pommes en Algérie est loin d'atteindre celles enregistrées dans les pays développés. Cette faiblesse de production peut être attribuée à plusieurs facteurs dont:

- la non assimilation des techniques modernes à l'arboriculture par les agriculteurs algériens ;
- l'utilisation anarchique des portes greffes et variétés ;
- la méconnaissance des techniques de production appliquées (Fertilisation, Entretien du sol, traitements phytosanitaires...).

L'évolution de la production de pommes en Algérie est représentée dans la figure 1 :



**Figure 1:** Evolution de la production de pommes en Algérie durant la période 2006- 2015 (MADR, 2015).

La figure ci-dessus nous renseigne sur l'évolution de la production durant la période qui s'étale de 2006 jusqu'à 2015. La production de pommes est en augmentation d'une année à une autre, elle atteint les 4 514 717 qx durant la campagne 2014/2015.La production a presque triplée et la superficie aussi (annexe I).

#### I-1-2-3-Dans la wilaya de Tizi-Ouzou

Selon la Direction des Services Agricoles (statistiques, 2015), la culture du pommier dans la wilaya occupe une superficie de 714,17 ha avec une production de 112 108 qx et un rendement de 157 (qx /ha) (annexe II).

L'évolution de la production de pommes dans la wilaya de Tizi-Ouzou est représentée dans la figure 2

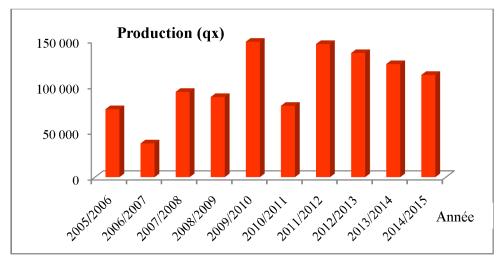
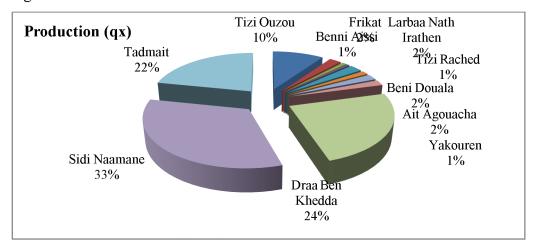


Figure 2 : Evolution de la production de pommes durant la période

(2006, 2015) dans la wilaya de Tizi Ouzou (DSA Tizi Ouzou, 2015)

L'histogramme ci dessus montre que la production de pommes dans la wilaya de Tizi-Ouzou durant la période 2006-2015 présente des fluctuations importantes. La production la plus basse est enregistrée en 2007 avec une valeur de 37 022 qx, la plus élevée est enregistrée en 2010 avec une valeur de 148 535qx.

La répartition de la culture du pommier dans la willaya de Tizi-Ouzou est représentée dans la figure 3.



**Figure 3:** Répartition de la culture du pommier dans la wilaya de Tizi-Ouzou campagne 2014/2015 (DSA Tizi-Ouzou, 2015)

La figure ci dessus montre les zones potentielles en culture de pommier dans la wilaya de Tizi-Ouzou. La commune de Sidi Naamane est classée en première position avec une production de 32 094 qx (annexe IV) l'équivalent de 33 % de la production nationale, suivi de Draa Ben Khedda en deuxième position avec 23 700 qx et un taux de 24 % de la production totale. La commune de Tadmait est classée en troisième position avec une production de 21 160 qx équivalent à un taux de 22 %.

En terme de superficie cultivée en pommier les premières communes sont classées comme suit : Sidi Naamane, Tadmait et Draa Ben Khedda avec des superficies de 106,98 ha, 92 ha et 79 ha respectivement (annexe IV).

#### I-1-3- Position systématique

Pendant longtemps, les botanistes ont considéré que le pommier constituait le sous genre *Malus* au sein du genre *Pyrus*. L'appellation du pommier était alors *Pyrus malus*. Le pommier est actuellement classé dans le genre *Malus* qui selon CHEVREAU et MORISOT (1985) est bien distinct du genre *Pyrus*.

D'après GAUTIER (2001), la majorité des pommiers actuellement cultivés dans le monde appartiennent à l'espèce *Malus pumila*.

Selon GUIHENEUF (1998), le pommier est classé comme suit :

Embranchement : Spermaphytes

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Rosales

Sous Classe : Dialypétales

Famille : Rosacées

Sous Famille : Maloïdeae

Genre : Malus

Espèce : Malus domestica

Malus pumila

Malus communis

#### I-1-4-Morphologie du pommier

Les pommiers sont hermaphrodites (organe male et femelle sur la même fleur) et peuvent mesurer jusqu'à douze mètres de haut, ils possèdent des rameaux à écorce brune, lisse, à nombreux lenticelles, devenant rugueuses sur le vieux bois et portent des bourgeons qui peuvent être végétatifs ou inflorescences. Le volume des arbres, ainsi que leur longévité, dépendent à la fois du génotype du greffon et de celui du porte-greffe (PRATT, 1990).

Selon (DELAHAYE et VIN, 1997), Le pommier peut vivre jusqu'à deux cent cinquante ans.



Figure 4: Arbre de pommier (photos originale, 2016)

#### I-1-4-1-Système racinaire

La partie centrale du système racinaire du pommier « le pivot » se double de ramifications successives. Les plus fines racines « les radicelles » forment le chevelu (DELAHAYE et VIN, 1997).

#### I-1-4-2-Système aérien

La tige est la partie principale qui porte les autres parties de la plante et qui fait circuler la nourriture.

Les feuilles sont caduques, alternes, simples, entières et dentées sur les bords. Elles portent deux stipules foliacées à la base du pétiole (PRATT, 1990). Ces dernières possèdent un pétiole plus court que chez les autres cultures tel que le poirier. Ce pétiole est accompagné à sa base de deux stipules foliacées (ZIADI, 2001).

La fleur est de couleur blanche ou rosée, elle est composée de cinq sépales, cinq pétales, vingt étamines, et un gynécée comportant cinq styles soudés à leur base (GUIHENEUF, 1998).

Selon ABBOTT (1984), l'inflorescence du pommier constitue un corymbe à floraison centrifuge et sont généralement au nombre de six. Une grande variabilité de taille, du nombre et de couleur des pétales a également été observée (MORGAN, 2002).

La pomme est une drupe à mésocarpe charnu entourant cinq loges cartilagineuses qui renferment les grains ou les pépins, de couleur et de goût variable suivant les variétés, (BRETEADEAU et FAURE, 1991).







Figure 5 : Feuilles, fleurs et fruits de pommier (photos originales, 2016)

#### I-1-5-Stades phénologique du pommier

D'après BLOESCH et VIRET (2013), plusieurs étapes se succèdent lors de la croissance de la plante et la mise en place du fruit (figure 6).

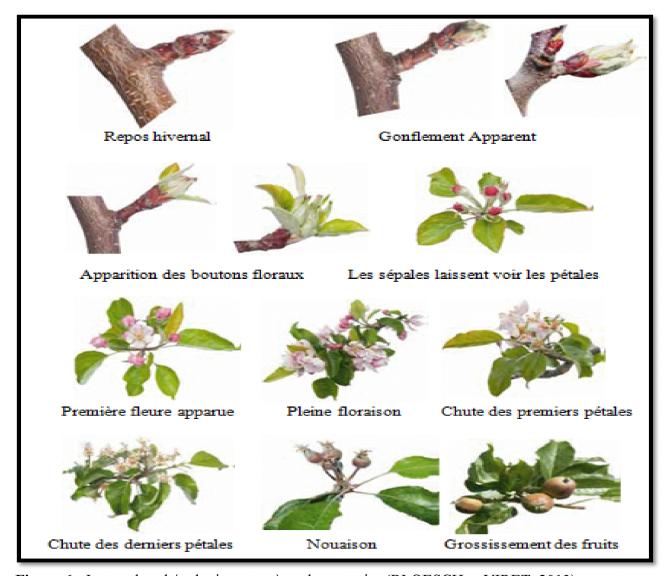


Figure 6 : Les stades phénologiques repères du pommier (BLOESCH et VIRET, 2013)

#### I-1-6-Exigences pédoclimatiques

Selon GUIHENEUF (1998), la culture du pommier s'étend dans toutes les zones tempérées de l'hémisphère Nord (30° à 60° de latitude Nord) et de l'hémisphère Sud (30° à 40° de latitude) jusqu'à une altitude de 800 m. C'est l'arbre type des climats doux où les écarts de températures entre les mois d'hiver et la saison d'été sont relativement peu importants.

#### I-1-6-1- Exigences climatiques

Le pommier ne soufre pas des basses températures d'hiver que si elles sont importantes (-20 °C à -25 °C). A partir de la chute totale des feuilles, la plupart des variétés du pommier ont des besoins en froid hivernal pour lever la dormance des bourgeons.

Les températures moyennes de 15°C suffisent pour beaucoup de variétés pour mener à terme leur floraison et leur fructification (GAUTIER, 2001).

#### I-1-6-2-Exigences hydriques

Les besoins en eau varient selon le volume de l'arbre, les situations climatiques et les objectifs particuliers de productions fruitières. En générale, la pluviométrie favorable à la culture des pommiers est en moyenne de 600 à 700 mm d'eau par an (GUIHENEUF, 1998).

#### I-1-6-3-Exigences pédologiques

Le pommier apparait comme une espèce plastique vis –a vis des conditions du milieu, il est capable de croitre et produire des fruits dans une gamme de sols aux caractéristiques physiques et chimiques très variables. Le pommier préfère toutefois les sols limoneux fertiles et suffisamment drainés, ainsi que les sols silico-argileux, argilo- sableux et profonds, avec un sous sol perméable, en conséquence les sols trop siliceux sont déconseillés (BRETAUDEAU et FAURE, 1991)

#### I-1-7-Principales variétés du pommier

Il existe une gamme assez large de variétés susceptibles de convenir à des plantations commerciales (GAUTIER, 2001) (annexe V).

Les variétés du pommier cultivées en Algérie sont réduite à six : Liorca, Hanna, Dorset golden, Golden, Reine des reinettes et Star krimson (CHAOUIA et *al.*, 2003).

#### I-1-8-Valeur nutritionnelle du fruit

La pomme est un fruit de composition variée et équilibrée. Elle est particulièrement riche en fibres alimentaires avec une teneur moyenne de 2,4 g/100g. Cette teneur la positionne devant la banane (2,0 g/100g) et l'orange (1,8g/100g) (KEBE, 2014).

Cette richesse en fibres s'accompagne par ailleurs d'une teneur intéressante en polyphénols qui sont la principale source du fort potentiel antioxydant de ce fruit (D'EBERHARDT et *al.* 2000).

Ainsi qu'une importante gamme de vitamines du groupe B et vitamines A, la provitamine A et surtout la vitamine C. Elle est également riche en eau, en minéraux (potassium, phosphore....) et en oligo- éléments (Zn, Cu, Mn,.....) (FOOD-ALLERGENS, 2012).

#### I-9-Contraintes de la culture

La culture de pommier est sujete à plusieurs contraintes abiotiques liées aux conditions du milieu, et biotiques liées aux attaques par les maladies et les ravageurs.

#### I-9-1-Contraintes abiotiques

D'aprés GUIHENEUF (1998), les plus importantes contraintes abiotiques apparentes sur pommier sont :

- noircissement estival du aux accidents physiologiques liés aux conditions climatiques ;
- dessèchement brusque sur les bouquets de feuilles, une partie de la nervure reste verte, les feuilles atteintes restent sur l'arbre et les fruits ne grossissent plus.

#### **I-9-2-Contraintes biotiques**

Plusieurs ravageurs et maladies peuvent attaquer la culture du pommier et les principaux sont présentés dans les tableaux I et II.

**Tableau I**: Principales maladies du pommier (HOHN et al., 2011).

Nom commun	Nom scientifique	Symptômes
Tavelure	Venturia inaequalis	Taches translucides sur feuilles et fruits puis deviennent
		olivâtres sur la face supérieure. Les feuilles se
		déforment et prennent un aspect velouté.
Moniliose	<i>Monilia laxa</i> et	Desséchement des bouquets floraux et des rameaux.
	Monilia	Brunissement et momification des fruits, selon le
	fructigena	champignon, ils sont recouverts de sporulations
		circulaires bruâtres (M. fructigena) ou grises (M. laxa).
Phytophtora	Phytophtora	Rougissement du feuillage, rameaux courts, feuillage
	cactorum	chétif et chlorotique, dépérissement d'une ou plusieurs
		charpentières, dépérissement de l'arbre.
Oidium	Podosphaera	Les tiges et les feuilles des pousses atteintes se
	leucotricha	recouvrent d'un feutrage mycélien gris blanchâtre.
Feu bactérien	Erwinia	Nécroses et noircissement des organes atteints : fleurs,
	amylovora	bouquets floraux, fruits, pousses, branches. Ils restent
		fixés sur l'arbre.

Tableau II: Principaux ravageurs (HOHN et al., 2011).

Nom commun	Nom scientifique	Symptômes
Carpocapse	Cydia pomonella	Formation de galeries en spirale sous l'épiderme et
		consommation de la zone autour des pépins. Les
		galeries sont encombrées d'excréments.
La cécidomyie	Dasyneura mali	Déformation et enroulement des jeunes feuilles qui se
des feuilles	Kieffer	colorent en rouge, puis en noir.
Le puceron	Eriosoma	Revêtement floconneux blanc engendrant des tumeurs
lanigère	lanigerum	chancreuses sur les rameaux, les branches et parfois les
	Hausman	racines.
Hoplocampe	Hoplocampa	Galeries traçantes superficielles sur les fruits qui
	testudinea Klug	deviennent véreux présentant un trou de pénétration
		arrondi.
Anthonomes	Anthonomus	Destruction des fleurs et des fruits par les larves. Les
	pomorum L.	fruits prennent une forme d'entonnoir peu après la
		ponte.
Cochenille	Lepidosaphes	Encroutement des branches et dépérissement des
virgule	ulmi	rameaux sous l'action des piqures des insectes.

#### I-2-Généralités sur le poirier

#### I-2-1-Historique et origine du poirier

Les diverses espèces de poirier sont originaires de l'ancien monde au climat tempéré, entre le 38 ème et le 60 eme degré de latitude nord. On les trouve depuis la pointe du Finistère en France jusqu'aux confins de la frontière sibéro-chinoise (SCRIBE, 1999).

Trois variétés semblent être plus particulièrement les ancêtres de nos espèces cultivées : *Pyrus communis L., Pyrus nivalis Jacquin* et *Pyrus serotina Rehder* ou *Pyrus sinensis* (BRETAUDEAU et FAURE, 1991) .

Le même auteur ajoute qu'avant J-C, les grecs cultivaient le poirier sous le nom de « Achras » avec quartes variétés (*Lamyrrbe*, la *Nardinon*, l'*Onyx* et la *Talentiaion*). Ce sont les Romains, qui ont assurés sa diffusion en Europe.

#### I-2-2-Importance économique

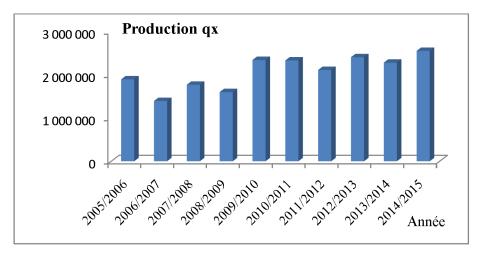
#### I-2-2-1-Dans le monde

Actuellement, 22,7 millions de tonnes de poires sont produites chaque année, dont 15,2 millions de tonnes par la Chine qui est le premier pays producteur mondial, suivie par les Etats-Unis avec 738 000 tonnes et par l'Italie avec 737 000 de tonnes (FAO, 2015).

La France est le troisième pays européen producteur de poires avec 174 000 tonnes produites chaque année, derrière l'Italie (737 000 tonnes) et l'Espagne (473 000 tonnes).

#### I-2-2-2-En Algérie

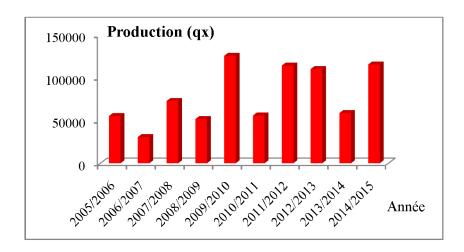
La production est en augmentation d'une année à une autre durant la période qui s'étale de 2006 jusqu'à 2015, elle atteint 2 553 438 qx durant la campagne (2014/2015) (figure 7), alors que la superficie présente une légère évolution (annexe I).



**Figure 7:** Evolution de la production de poires en Algérie durant la période 2006- 2015 (MADR, 2015).

#### I-2-2-3-Dans la wilaya de Tizi-Ouzou

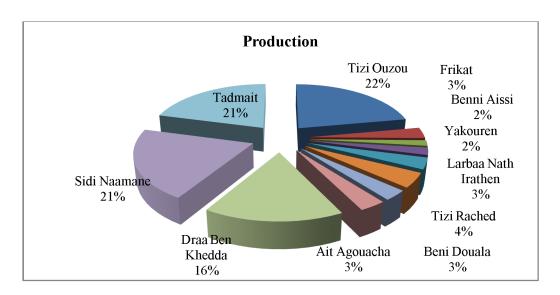
Selon la Direction des Services Agricoles (statistiques, 2015), la culture du poirier dans la wilaya occupe une superficie de 698,98 ha avec une production de 115 607qx et un rendement de 165,4 (qx /ha) (annexe III).



**Figure 8 :** Evolution de la production de poires durant la période (2006, 2015) dans la wilaya de Tizi Ouzou (DSA Tizi Ouzou, 2015)

L'histogramme ci dessus montre que la production de poires dans la wilaya de Tizi-Ouzou durant la période 2006-2015 présente des fluctuations importantes, la production la plus basse est enregistrée avec une valeur de moins de 30 678 qx en 2007, la plus élevée est enregistrée en 2015 à une valeur de 115 607qx.

La répartition de la culture de poirier dans la willaya de Tizi-Ouzou est présentée dans la figure 9.



**Figure 9 :** Répartition de la culture du poirier dans la wilaya de Tizi-Ouzou durant la campagne 2014-2015 (DSA Tizi-Ouzou, 2015)

Le figure ci dessus montre que la commune de Tizi Ouzou est classée en première position avec une production de 21 140 qx (annexe IV) représentant un taux de 22 %

de la production nationale, suivi de Tadmait et Sidi Naamane en deuxième position avec des productions de  $19\,959~\rm qx$  et  $19\,600~\rm qx$  respectivement avec un taux de  $21\,\%$  de la production nationale et Draa Ben Khedda en troisième position avec un taux de 16% et une production de  $15\,400~\rm qx$ .

En terme de superficie cultivée en poirier les premières communes sont classées comme suit : Tizi-Ouzou, Tadmait, Sidi Naamane, et Draa Ben Khedda avec des superficies de 75,5 ha, 57 ha, 55,5 ha et 44 ha respectivement (annexe IV)

#### I-2-3-Position systématique

Le poirier est un arbre fruitier appartenant à la famille des Rosacées, tribu des Pyrées. Son nom latin de « Pyra » est apparu en France au 12 <sup>eme</sup> siècle, le nom de pyrus viendrait de la forme de son fruit comparable à celle d'une flamme (pyromane) et on peut aussi admettre que ce fruit était dédié à PYRRUS, introducteur de cet arbre en Italie (BRETAUDEAU et FAURE, 1991).

Selon GUIHENEUF (1998), le poirier est classé comme suit :

Embranchement : Spermaphytes

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Rosales

Sous Classe : Dialypétales

Famille : Rosacées

Sous Famille : Pomoïdées

Genre : Pyrus

Nom binominal : Pyrus communis

#### I-2-4-Morphologie du poirier

Le poirier est un arbre de taille moyenne cultivé pour son fruit. Il peut vivre jusqu'à 200 ans. Il est cultivé et naturalisé dans tous les continents. Les variétés de cette espèce sont souvent greffées sur franc ou cognassier.



Figure 10 : Arbre de poirier (photos originale, 2016)

#### I-2-4-1-Système racinaire

Le poirier franc à un système radiculaire très pivotant (profondeur 1,20 à 1,80 mètre) selon les sols et celui du cognassier est de type traçant (profondeur 1 à 1,50 mètre) (ITAF, 2010).

#### I-2-4-2-Partie aérienne

Le développement des variétés greffées est plus limité 2,5 à 7-8 mètres selon les portes greffes. L'époque moyenne de floraison est du fin mars à mi-avril (GIRAUD et al, 1996).

Les feuilles sont alternes, caduques, simples, accompagnées de deux stipules latérales. Chaque feuille est placée à l'aisselle d'une bractée, à sommet étroit.

Les fleurs sont petites, hermaphrodites, blanches ou rosés aux étamines rouges, réunies en grappes corymbiformes, elles s'épanouissent d'avril à mai.

Le fruit est surmonté d'une dépression dite œil c'est une drupe à mésocarpe charnu, et dont l'endocarpe est formé de deux à trois noyaux, séparés par des travées de chair succulente.

Le fruit est pyriforme, parfois globuleux ou cydoniforme. Des cellules pierreuses (cristaux d'oxalate de calcium) peuvent être présentes sous l'épiderme et autour des loges carpellaires (GUIHENEUF, 1998).







Figure 11 : Feuilles, fleurs et fruits de poirier (photos originales, 2016)

#### I-2-5- Stades végétatifs

D'après FLECKENGER (INRA) in MAURIN, 1999, les stades repères du poirier sont illustrés dans la figure 12 :

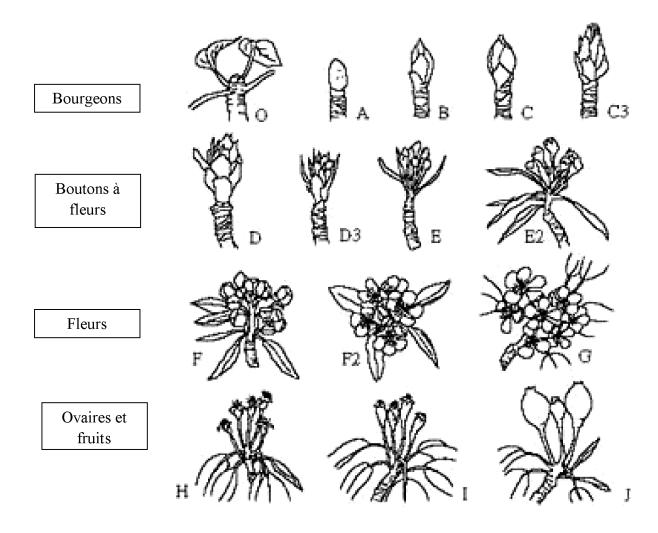


Figure 12: Stades repères du poirier (FLECKENGER (INRA) in MAURIN, 1999)

0 et A: Bourgeons d'hiver Fet F2: Premières fleurs B: Début gonflement G: Pleins floraison

C et C3 : Gonflement apparent H : Chute des derniers pétales

D et D3 : Apparition des boutons floraux I : Nouaison

E et E2 : Les sépales laissant voir les pétales J : Grossissement des fruits

#### I-2-6-Exigences pédoclimatiques de la culture

#### I-2-6-1-Exigences climatiques

Selon GUIHENEUF (1998), le climat tempéré chaud des régions élevées convient à la culture du poirier, cependant c'est entre 600 et 1000 mètres que devraient être effectuées les

plantations. Les besoins en froid maximum 660 à 1 100 heures (t°< +7°C). La température moyenne nécessaire durant la période de végétation est entre 11°C et 19°C selon les variétés.

#### I-2-6-2-Exigences édaphiques

Le poirier n'est pas exigent sur la nature du sol lorsqu'il se trouve sur ses propres racines, il en est tout autrement lorsqu'il est greffé sur cognassier. Le poirier greffé sur francs est plus résistant (BERGER, 2008)

Les sols limoneux ou silico-argileux profonds, sains, aérés, neutres ou légèrement acides (pH 6,5-7,5) sont favorables. Greffé sur cognassier le poirier est peut sensible à l'asphyxie radiculaire mais très sensible à la chlorose ferrique (ITAF, 2010).

#### I-2-6-3-Exigences hydriques

Les besoins annuelles en eau sont de 700 à 800 mm en moyenne et le nombre des irrigations augmente avec la tardivité de la variété. Pour celle de l'arrière saison, il faut compléter trois à cinq irrigations dans l'année (BERGER, 2008)

#### I-2-7-Principales varietés

D'après VAYSSE et *al.* (2000), il existe une gamme assez large de variétés et sont réparties en trois catégories selon la période de maturité du fruit (annexe VI).

Les variétés cultivées en Algérie sont : Wilder, Docteur jules guyot, Santa maria, William's miningot, William's rouge, Beurre Hardy, Packam's triumph, Doyenne de comce (GSPG, 2010).

#### **I-2-8-Importance nutritionnel**

La poire est un fruit rafraîchissant et désaltérant, possède une composition très équilibrée, elle renferme une large gamme de vitamines (vitamine C, vitamines B, provitamine A, vitamine E), de nombreux minéraux et oligo-éléments dissous dans son eau de constitution ainsi que des fibres bien tolérées dans les variétés à chair fondante (FAO ,2008).

Grâce à ses taux important en vitamines E et B9, la poire constitue un bon antioxydant, qui protège la peau et les cellules du vieillissement. Riche en fibres, très utile pour transit intestinal, également riche en potassium, la poire évite naturellement l'apparition d'arthrite et des rhumatismes. La teneur en acide folique est indispensable au bon fonctionnement neuromusculaire. Dotée de sorbitol, la poire tonifie les dents. De plus, sa contenance importante en calcium en fait un des fruits les plus conseillés pour les enfants et adolescents. La plupart des substances nutritives se trouvant dans la peau (FAO ,2008).

#### I-2-9- Contraintes de la cultures

La culture de poirier est sujete à plusieurs contraintes abiotiques liées aux conditions du milieu et biotiques liées aux attaques par les maladies et les ravageurs (MAURIN,1999).

#### **I-2-9-1-Contraintes abiotiques**

Selon SIMON et al.,(1996), les mémes contraintes abiotiques peuvent touchés le poirier comme le pommier et font apparaître les mèmes symptomes.

#### I-2-9-2-Contraintes biotiques

Plusieurs ravageurs et maladies peuvent s'attaquer à la culture du poirier comme le cas du pommier et les principaux sont présentés dans les tableaux III et IV.

**Tableau III**: Principales maladies du poirier (HOHN et *al.*, 2011).

Nom commun	Nom scientifique	Symptômes
Tavelure	Venturia pirina	Taches brunes olivâtres d'aspect velouté, se
		développant surtout à la face inférieure des limbes
		des feuilles et brunissement des organes floraux qui
		provoque la chute des fleurs.
Moniliose	Monilia	Pourriture de fruits en portant des coussinets beiges
	fructigena	disposés parfois en cercles concentriques.
		De fortes attaques entrainent la formation de
		chancres avec sécrétion de gommes.
Rouille	Gymnosporangium	Coloration orangée puis rougeâtre sur la face
grillagée	sabinae	supérieure des feuilles, sur la face inferieur se
		forment des boursouflures ou tumeurs dont
		l'extrémité est constituée d'un réseau de filament.
Bactériose	Pseudomonas	Dessèchement des bourgeons floraux et des pousses,
	syringa	défoliation des rameaux, noircissement progressif
	pv.syringae	des fleurs débutant par le pédoncule.
Feu bactérien	Erwinia	Noircissement et dessèchement sur place des
	amylovora	bouquets floraux ou des pousses tendres. Les feuilles
		des parties atteintes semblent brulées par le feu à la
		base des parties nécrosées.

**Tableau IV:** Les principaux ravageurs du poirier (HOHN et *al.*, 2011).

Nom commun	Nom scientifique	Symptômes
Cèphe	Janus compressus	Blessures longitudinales disposées en spirale, Les
		jeunes feuilles se recroquevillent et noircissent.
Psylle commun	Psylla piri	Affaiblissement de l'arbre, sécrétion du miellat et
		développement des fumagines.
Pou de san José	Diaspidiotus	Dépérissement progressif des branches et de l'arbre.
	perniciosus	Les piqures sur fruits sont auréolées de rouge
		violacé sur l'épiderme.
Cecidomie des	Dasineura pyri	Enroulement et dessèchement des feuilles.
feuilles		
Cécidomie des	Contarinia	Déformation des ovaires, certains jeunes fruits se
poirettes	pyrivora	développent plus rapidement, se déforment puis
		noircissent et tombent.
Hoplocampe	Hoplocampa brevis	A l'intérieur des jeune fruits se trouve des galeries
		qui dégageant une odeur de punaise. Ils deviennent
		noires puis tombent au sol .

# Chapitre II Erwinia amylovora et Le feu bactérien

#### II-1- Généralités

Le feu bactérien appelé brûlure bactérienne est une maladie provoquée par une bactérie phytopathogène *Erwinia amylovora*. Elle s'attaque à une gamme assez large de plantes hôtes de la famille des rosacées à pépins, dont toutes les espèces de la sous famille des Maloidée et Pomoidée, comprenant le pommier et le poirier, avec différentes sévérités de symptômes (MOMOL et ALDWINCKLE, 2000). C'est l'une des plus dangereuses maladies, étant donné les risques considérables qu'elle présente, elle est capable dans les cas extrêmes de toucher l'arbre de façon mortelle.

#### II-2-Historique et origine du feu bacterien

Le feu bacterien (ou Fire Blight) des pomoidées fruitières et ornementales, a été décrit pour la première fois au 18<sup>eme</sup> siècle en Amérique du Nord (1778). Cette maladie était à l'époque complètement inconnue sur les autres continents. La bactérie causale a été mise en évidence en 1878 par BURRILL, presque 100 ans après sa première observation.

La maladie est apparue en Europe en 1957 sur le territoire de la Grande-Bretagne, ensuite les Pays-Bas et la Pologne en 1966 puis le Danemark en 1968. Sa première détection en France est enregistré en 1972 dans la région de Dunkerque, et en 1978 deux foyers importants ont été repérés dans le sud-ouest. En PACA, la présence de la bactérie n'a été décelée et confirmée qu'en 1999 dans les vergers des fruits à pépins du Vaucluse (BRUN, 2013).

Le feu bactérien est parvenu en Europe et en Afrique du Nord par l'intermédiaire du matériel végétal contaminé (SAOUD et MNIAI ,2013)

#### II-3- Le feu bactérien dans le monde

Erwinia amylovora est considérée comme un parasite de quarantaine pour les pays de la communauté Européenne. De ce fait, ils ont créé des zones protégées indemnes de cette maladie au niveau desquelles, l'introduction et la circulation des plantes - hôtes ne peut se faire que si les végétaux sont issus d'une pépinière détenant le passeport phytosanitaire avec le statut «Zone Protégée» ou ZPb2 (zone de sécurité) (BRUN, 2013).

La production et la mise en circulation de végétaux du genre Cotoneaster et du genre Stranvaesia (*Photinia davidiana* et *Photinia mussia*) est interdite depuis le mois de Mai 2002. Certains cantons ont étendu l'interdiction à toutes les plantes-hôtes du feu bactérien (HOHN, 2013).

Cette maladie a ravagé entre 5 000 et 6 000 hectares sur un total de 8 400 hectares de terrains consacrés à la culture du poirier au Maroc, soit 50 à 70% en mois de Mai 2013, (SAOUD et MNIAI ,2013)

#### II-4-Le feu bactérien en Algérie

Presque inconnue dans notre pays, la première apparition du feu bactérien remonte au mois d'avril 2010. La première identification de la bactérie a été faite sur poirier (variété Santa Maria) au niveau de la commune de Kolea en Juillet 2010, elle a infecté plusieurs hectares d'arbres fruitiers à pépins dans la zone comprise entre Attatba et Koléa.

Selon des responsables des services agricoles, deux alertes avaient été déjà enregistrées, la première en 2006, dans un verger à Khemis- Miliana, dans la wilaya d'Aïn Defla, et la seconde en 2008, lorsque les services chargés du contrôle aux frontières des produits destinés à l'agriculture ont découvert que des plants de poiriers importés de Syrie et destinés à un arboriculteur de la wilaya de Blida étaient infectés.

En 2010 et 2011, plusieurs régions arboricoles du pays et notamment les wilayas de Tipaza, Boumerdes, Alger, Blida et Maskara ont subi des dégâts très importants (INPV, 2011).

Cette bactérie a déjà contaminé, dans la wilaya de Tipasa, 1 000 ha de poiriers, 900 ha de pommiers et 500 ha de néfliers. Le poirier santa maria qui est la variété la plus sensible à cette maladie, a été détruit à 80% (DSA Tipaza, 2015).

#### II-5-Description de la bactérie Erwinia amylovora

Selon BAILLY et *al.*(1990), *Erwinia* est un genre hétérogène caractérisé par des germes en forme de batonnet se présentant isolement par deux ou en courte chaine. Par rapport aux autres bactéries phytopathogènes, *Erwinia* a la faculté de pouvoir se développer en présence ou en absence d'oxygène. Les espèces de ce genre peuvent etre divisées en trois groupes (*herbivora*, *carotovora et amylovora*).

Selon VAN DER ZWET et *al.* (2012), *Erwinia amylovora* mesure environ 1,6 µm de longueur pour 0,8 µm de largeur. C'est une bactérie anaérobie facultative, elle est mobile au moyen de plusieurs flagelles péritriches.

#### II-6-Position systématique

D'après BURRILL (1882), WINSLOW et *al.* (1920) in BAILLY et *al.* (1998), l'agent causal du feu bactérien est classé comme suit:

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : Erwinia

Nom binominal : Erwinia amylovora

# II-7- Cycle biologique

A l'approche de l'hiver, la nécrose provoquée par le feu bactérien cesse de progresser et des chancres se forment sur les branches, les charpentières et le tronc (BENNAI et HAMADACHE, 2012).

La bactérie se conserve pendant l'hiver dans les chancres souvent issues des contaminations tardives et difficiles à repérer (SILVESTRIL et *al.*)

Au printemps, l'agent pathogène se multiplie lorsque les conditions climatiques sont favorables (température entre 21 et 30 °C et humidité dépassant les 70 %) (INPV, 2012)

Ces bactéries issues de la multiplication s'écoulent des tissus infectés sous forme de gouttelettes d'exsudat de couleur blanchâtre à rouge.

La pénétration de cette bactérie (infection primaire) se fait soit lors de la floraison ou à la chute des pétales (voies naturelles), soit après une chute de grêle ou autres accidents climatiques (voies artificielles) (GIRAUD et *al.*, 1996)

Après l'infection, les premiers symptômes sur fleurs apparaissent deux à trois semaines plus tard et deux à six semaines sur jeunes pousses.

D'après ces auteurs le cycle de cette bactérie passe par deux étapes :

### • Infection

Lorsque l'infection a eu lieu, la bactérie gagne les espaces intercellulaires des parenchymes situés autour des vaisseaux conducteurs. L'infection se traduit par la nécrose des tissus dans lesquels évolue la bactérie. Celle-ci progresse ensuite par les tiges.

#### • Dissémination

Elle s'effectue par l'écoulement des gouttelettes visqueuses, cette sécrétion, source d'inoculum secondaire contribuera à propager la bactérie en été pour infecter des nouvelles pousses.

Le cycle biologique de la bactérie *Erwinia amylovora* est récapitulé dans la figure 13:

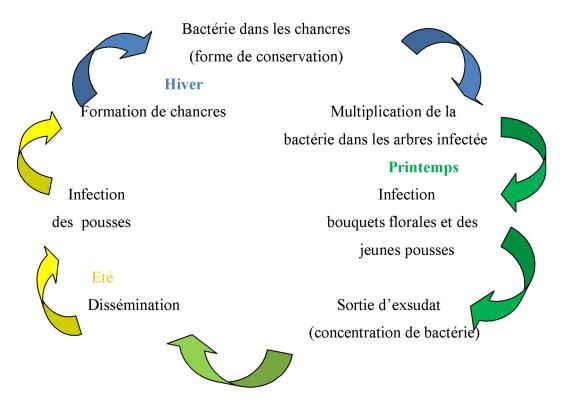


Figure 13 : Cycle d'*Erwinia amylovora* (INPV, 2012)

### • Propagation de la maladie

Le feu bactérien est une maladie infectieuse, elle se propage dans un même verger ou d'un verger contaminé à une autre sain par :

- -l'activité des insectes y compris les pollinisateurs (abeilles) ;
- -la pluie et le vent ;
- -l'excès d'humidité par l'irrigation excessive et le mauvais drainage des sols ;
- -les rejets de portes greffes qui permettent un accès rapide aux racines ;
- -l'homme par : l'arrosage par aspersion, l'excès d'azote, la taille sévère, les outils de travail, le transport du matériel végétal y compris les greffons, les débris végétaux accompagnant les fruits récoltés.

### II-9- Plantes hôtes

Erwinia amylovora est capable d'infecter plus de 140 espèces végétales appartenant à 39 genres de familles des rosacées (MOMOL et ALDWINCKLE, 2000).

Les principales plantes hôtes d'Erwinia amylovora sont représentées dans le tableau V :

**Tableau V**: Principales plantes hôtes de la bactérie agent causal du feu bactérien (MADRP, 2011).

Nom commun	Nom scientifique
Aubépine	Crateaegus oxyacantha
Buisson ardent	Pyracantha coccinea
Chaenomeles	Chaenomeles japonica
Cognassier	Cydunia vulgaris
Cotonéaster	Cotoneaster horizontalis
Néflier	Mespilus germanica
Néflier de japon	Eriobotyra japonica
Pommier	Malus communis
Poirier	Pyrus communis
Sorbier	Sorbus domestica(à l'exception de S.intermedia)
Stanvésia	Stranvaesia (Photinia davidiana et Photinia mussia)

### II-10- Eléments de reconnaissance du feu bactérien

L'action d'Erwinia amylovora provoque l'arrêt de la sève brute du point d'introduction ou d'hivernage vers les parties hautes de la plante. Le résultat visible se traduit par le dessèchement progressif des parties aériennes vers les parties plus basses (HEIM (2000).

D'après GIRAUD et al. (1996), les symptômes peuvent se reconnaître comme suit :

- ✓ nécroses et noircissement des organes atteints : fleurs, bouquets floraux, fruits, pousses et branches ;
- ✓ flétrissement et dessèchement des jeunes pousses avec un éventuel recourbement en crosse (symptôme caractéristique) ;
- ✓ momification des jeunes fruits ;
- ✓ production d'exsudat riche en bactéries et polysaccharides sur les pédoncules floraux ;
- ✓ les fruits et les rameaux atteints présentent des gouttelettes d'un liquide blanc ou jaunâtre puis ambré et collant ;
- ✓ coloration rouge brun des tissus situés immédiatement sous l'écorce de la zone proche de la nécrose ;
- ✓ Progression de la nécrose vers des organes âgés et formation de chancres de la périphérie vers la base de la plante, plus rapide chez le poirier que chez le pommier.

# II-11-Description des symptômes sur rameau

Selon DAAMI (2014), l'infestation par le feu bactérien sur rameau se présente ainsi :

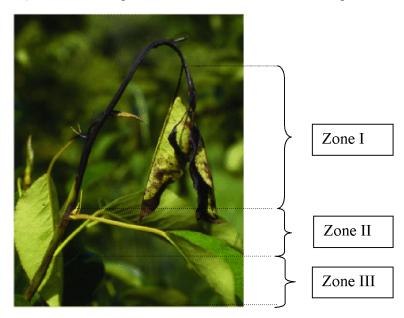


Figure 14 : Symptôme du feu bactérien sur rameau (Photo originale, 2016)

-Zone I : Zone nécrosée, toute la section du rameau est morte.

-Zone II : Zone intermédiaire d'une coloration olivâtre à l'extérieur, à nuance vitreuse, les tissus situés sous l'écorce sont souvent rougeâtres.

-Zone III : Zone d'apparence saine, la bactérie est déjà présente mais les symptômes n'apparaissent pas encore.

D'après BENNAI et HAMADACHE (2012), la maladie progresse sur l'arbre d'une manière basipète et gagne successivement les rameaux, les branches fruitières, les charpentières et le tronc. L'écorce s'affaisse aux emplacements atteints, d'où s'écoulent des gouttelettes d'exsudat. Les organes herbacés et les jeunes fruits qui se momifient ne tombent pas, ils restent sur l'arbre constituant ainsi un autre symptôme caractéristique.

A la différence des autres maladies, les organes infectés et desséchés dégagent une odeur de rancissement (MADR ,2011).



Figure 15 : Symptômes du feu bactérien sur poirier (DSA, 2011)

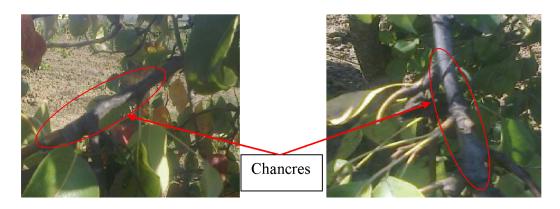


Figure 16: Chancres du Feu bactérien sur poirier (Photos originales, 2015)

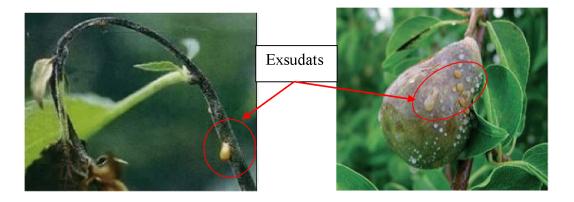


Figure 17: Sécrétion d'exsudat du feu bactérien sur poirier (BUNTER, 2003)

# II-12-Moyens de Lutte

Aucun traitement curatif n'est à l'heure actuelle, efficace contre le feu bactérien. Certains produits à base de cuivre et des stimulateurs de défense naturelle des plantes tels le Fosetyl d'aluminium (Aliette flash), Acebenzolar-S-Methyl (Bion), Prohexadion calcium (Regalis) et produits à base de laminarine permettent uniquement de freiner la maladie (BENNAI et HAMADACHE, 2012).

Aux Etats-Unis et dans certains pays de l'hémisphère Sud, un traitement antibiotique (streptomycine) est autorisé dans les vergers. En France, cet antibiotique y est interdit, pour des raisons de santé publique (BRUN, 2013).

Selon le même auteur, seule la lutte prophylactique est efficace contre cette maladie, elle consiste à :

- ✓ supprimer tous les organes (branches, rameaux et fruits) atteints en les coupant à environ 1m en dessous des symptômes apparents, ces derniers doivent êtres brûlés sur place ;
- ✓ incinérer le bois de taille ;
- ✓ protéger les plaies de taille par un mastic à base de cuivre ;
- ✓ désinfecter les mains, les vêtements et les outils de taille après chaque coupe à la javel ;
- ✓ réduire les apports en fémur azoté ;
- ✓ éviter les irrigations par aspersion qui favorise la dissémination de l'inoculum ;
- ✓ surveiller la seconde floraison des arbres atteints et la détruire avant l'ouverture des boutons floraux ;
- ✓ traitement au pré-débourrement avec des produits à base de cuivre ;
- ✓ traitement en végétation avec des produits à base de phosethyl aluminium (Aliette) pour améliorer la résistance de l'arbre ;
- ✓ ramasser les fruits non récoltés pour éviter d'attirer les oiseaux ;
- ✓ arracher les plants fortement atteints et les brûler sur place ;
- ✓ interdire la circulation de plants d'une zone infestée vers une zone saine ;
- ✓ interdire l'utilisation du matériel végétal issu des plants atteints par cette maladie (greffon);
- ✓ contrôler rigoureusement les pépinières productrices de rosacées à pépins ;
- ✓ choisir des variétés résistantes et des zones indemnes, en cas de nouvelle plantation.

### II-13-Sensibilité au feu bactérien de quelques variétés de pommier et poirier

D'après MILAGROS LOPEZ (2013), la sensibilité des variétés de rosacées à pépins peut augmenter ou diminuer selon les situations. Le tableau suivant montre la sensibilité de quelques variétés vis-à-vis du feu bactérien.

Tableau VI: Sensibilité des variétés de pommier et poirier au feu bactérien

Espèces Sensibilité	Pommier	Poirier			
Très peu sensible	Reinette Clochard, Perpetu Evereste	Magness			
Peu sensible	Cox's orange Pippin, Granny Smith, Storking Delicious, Prima,Libertty Belle de Boskoop	US 309			
Sensibilité	Jonathan, Golden Delicious, Querina	Woliams, Morettini, Down, Moc,			
moyenne	Florina, Reinette Blanche du Canada	Montecoso, Clairgeau			
Assez sensible	Idared, Reine de Reinettes, Melrose	_			
	Gloster, Royal Gala, Matsu				
Sensible	_	Limonera, Doyenne du Comice,Sainte			
		Marie, General Leclerc, Pierre Corneille			
Très sensible	_	Passe Crassane, Beurré Hardy,			
		Conference, Spor, Alexandrine			
		Douillard, Precoce de Trevoux, Fleur			
		d'hover			

# III-1-Présentation de la région d'étude Draa Ben Khedda

Nous avons choisi la commune de Draa Ben Khedda pour son importance dans la production de pommes et de poires, elle se situe à l'ouest de la wilaya de Tizi-Ouzou. L'échantillonnage a été effectué au niveau de deux sites différents.



Figure 18: Présentation de la région de Draa Ben Khedda (DSA, 2015)

### III-1-1-Localisation des sites d'étude

Les deux sites sont occupés par des plantations d'espèces de rosacées à pépins (pommier et poirier), ces vergers appartiennent à l'exploitation agricole collective (EAC N° 04 Ex DAS RAHLI), plantés dans le cadre des subventions de l'état à travers le Fond National du Développement de l'Investissement Agricole (FNDIA) en 2002 (figure 19).

➤ Verger de pommier : Conduit en intensif, implanté sur une plaine avec une superficie de 1,5 hectare, variété Hanna et planté en rangées d'une manière régulière avec une distance de 3m× 2 m (figure 20).

➤ Verger de poirier : Conduit en intensif, implanté sur une pente de 30 % avec une superficie de 5 hectares, variété Santa maria et planté en rangées d'une manière régulière avec une distance de plantation de 3m × 2m (figure 21).



Figure 19: Localisation géographique de la zone d'étude (Google Earth, 2016)

- A : verger de pommier

- B : verger de poirier



Figure 20: Vue générale du verger de pommier (Photo originale, 2016)



Figure 21 : Vue générale du verger de poirier (Photo originale, 2016)

### III-1-2-Caractéristiques climatiques de la région d'étude

La connaissance du climat est d'une importance cruciale dans la conduite d'un verger arboricole puisqu'il intervient dans les différents processus relatifs à la culture des espèces fruitières et sur la manifestation et le développement des maladies et des ravageurs.

Pour ces raisons, l'étude et la connaissance des variations climatiques s'avèrent indispensables pour la prévision de toute attaque d'insectes, champignons, bactéries et virus.

La région de notre étude est caractérisée par un climat méditerranéen, doux et pluvieux, printemps précoce, un été chaud et sec et un automne peu humide.

D'après RAMADE (1984), les facteurs climatiques importants à prendre en considération sont la température et la pluviométrie.

Pour notre étude, les données climatiques (la température, la pluviométrie et l'humidité relative) de la période qui s'étale du mois de Juillet 2015 à Juin 2016 de la région de Tizi-Ouzou sont récupérées au prés de l'Office Nationale de la Météorologie (O.N.M) à la station de Boukhalfa.

### III-1-2-1-Température

D'après RAMADE (1994), la température représente un facteur limitant important, car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques, de ce fait, elle conditionne la répartition des êtres vivants dans la biosphère.

Les températures mensuelles minimales, maximales et moyennes enregistrées dans la wilaya de Tizi-Ouzou durant la période comprise entre le 01 Juillet 2015 jusqu'au 30 Juin 2016 sont illustrés dans le tableau (VII):

Chapitre III	Matériels et méthodes
--------------	-----------------------

**Tableau VII**: Températures mensuelles minimales, maximales et moyennes dans la wilaya de Tizi-Ouzou entre le 01 Juillet 2015 et 30Juin 2016 (O.N.M.Tizi-Ouzou, 2016).

Mois	2015							2016					
IVIOIS	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	
T. max (°C)	38,4	35,8	30,5	26,2	21,0	19,3	18,4	18,0	17,6	22,1	25	32	
T. min (°C)	22,2	23,2	19,7	16,0	10,8	7,2	8,6	8,5	7,8	11,2	13,6	17,4	
T. moy (°C)	29,7	28,8	24,4	20,2	14,9	12,2	12,8	12,6	12,5	16,1	19	24,3	

L'analyse des données climatiques de cette région pour la période juillet 2015-juin 2016 montre que la température moyenne la plus élevée est enregistrée au mois de Juillet 2015 avec 29,7 °C, alors que la plus basse est enregistrée au mois de décembre 2015 avec 12,2 °C.

### III-1-2-2-Pluviométrie

L'eau est un facteur déterminant de la production fruitière, elle est considérée comme un facteur limitant vu son importance dans l'adaptation des espèces arboricoles.

La pluviométrie en Algérie est sous l'influence des facteurs géographiques : l'altitude, la latitude, la longitude et l'exposition. L'augmentation de la pluviométrie est observée avec chaque élévation de l'altitude; la diminution par contre est sensible dans les dépressions de Tizi-Ouzou (vallée du moyen Sébaou).

Les quantités de pluies enregistrées durant l'année 2015-2016 sont présentées dans le tableau (VIII).

**Tableau VIII :** Valeurs moyennes des précipitations mensuelles (en mm) durant la période allant de Juillet 2015 à Juin 2016 (O.N.M.Tizi-Ouzou, 2016).

Mois	10is 2015							2016				
111010	Juill	Aou	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui
P. mens (mm)	4,1	2,6	41,1	81,7	102,7	0,0	59,9	96,2	185,3	61,8	68,4	5,9

P mens : Pluviométrie mensuelle.

A partir du tableau VIII, on constate que la quantité enregistrée pendant la période de Juillet 2015 au mois Juin 2016 est de l'ordre de 709,7 mm.

Les précipitations mensuelles les plus élevées dans la région de Tizi-Ouzou durant la période de notre étude sont enregistrées en mois mars 2016 avec une quantité de 185,3 mm, et le plus sec est le mois décembre avec une valeur nulle.

#### III-1-2-3-Humidité relative

L'humidité est la quantité de vapeur d'eau qui se trouve dans l'air. L'humidité relative moyenne (en %) enregistrées durant la période d'étude sont représentées dans le tableau (IX).

Tableau IX: Humidité moyenne (en %) de Juillet 2015 à Juin 2016 (O.N.M. Tizi-Ouzou, 2016).

Mois	2015								2	016		
141015	Juill	Aou	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui
Hr (%)	51	59	65	72	80	75	76	73	76	75	71	59

Le tableau ci-dessus montre que le mois de novembre est le plus humide avec un taux de 80 %, par contre le taux d'humidité le plus faible est noté durant le mois de juillet avec 51 %.

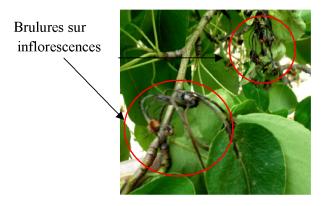
Les facteurs cités ci-dessus (température, pluviométrie et humidité) ont une influence directe sur l'activité des bactéries phytopathogènes entre autre *Erwinia amylovora*, et conditionnent ainsi l'apparition des symptômes sur les sujets porteurs de l'agent pathogène et la contamination de ceux qui sont au stade opportun pour la contamination.

### III-2-Matériels et méthodes

L'objectif de notre travail est la mise en évidence de la bactérie phytopathogène (*Erwinia amylovora*) agent causal du feu bactérien dans deux vergers de rosacées à pépins au niveau de la région de Draa Ben Khedda.

Nous avons effectué une prospection sur le verger de poirier en mois d'avril 2016 et nous avons constaté des brulures au niveau des inflorescences.

Une deuxième sortie sur le même site a été effectuée en mois de mai où nous avons remarqué que les parties apicales des nouvelles pousses sont courbées en forme de crosse et de couleur noir, donc la maladie s'est propagée à partir des inflorescences. Nous avons secoué les branches mais les feuilles touchées restent toujours fixées sur l'arbre (figure 21)



Brulures sur Jeunes pousses



Infestation en mois d'Avril

Infestation en mois de Mai

Figure 22 : Les infestations observées sur le verger de poirier (Photos originales, 2016)

Les symptômes observés sont typique à ceux de la maladie du feu bactérien, provoquée par *Erwinia amylovora* qui s'attaque aux rosacées à pépins. Ce constat nous a poussé à faire une recherche approfondie sur cette maladie et réaliser un diagnostic au laboratoire pour identification de l'agent phytopathogène à travers des tests biochimiques et sérologiques.

En étudiant les données climatiques de la région de Draa Ben Khedda, nous avons remarqué qu'avant le mois d'avril, les conditions climatiques n'étaient pas favorables pour l'apparition de la maladie.

A partir de ce mois les conditions d'apparition du feu bactérien étaient réunies, à savoir, une température de 22°C et une humidité de 75 % ainsi que le stade végétatif de la culture du poirier (floraison) était favorable, donc les symptômes de brulure sur les bouquets floraux (figure 22) peuvent êtres du à cette maladie. Cette dernière s'est propagée vers les jeunes pousses qui étaient tendres en moi de mai où les conditions climatiques étaient toujours favorables.

A cet effet, nous avons réalisé un échantillonnage au niveau de ce verger pour les analyser au laboratoire et identifier l'espèce causale.

Un autre échantillonnage a été effectué sur un deuxième verger qui se situe à quelques mètres du verger de poirier, c'est une culture de pommier qui ne présente aucun symptôme de maladie. Le but est de vérifier s'il est porteur de la bactérie.

L'opération d'échantillonnage à été réalisée en mois de mai 2016.

Notre étude a été menée grâce à la contribution des institutions suivantes :

- -Institut National de la Protection des Végétaux (INPV);
- -Station Régional de la Protection des Végétaux de Draa Ben Khedda (SRPV);
- -Direction des Services Agricoles (DSA);
- -Subdivision Agricole de Draa Ben Khedda.

# • Choix des deux vergers

Le choix de ces vergers repose sur les critères suivants :

- -présence de symptômes de brulures sur les plants de poirier ;
- accessibilité au terrain.
- coopération des agriculteurs.
- sécurité.

### III-2-1-Echantillonnage sur le terrain

#### III-2-1-1-Matériels

### Matériel végétal

Notre étude est portée sur la partie aérienne des arbres fruitiers (tiges, feuilles et fruits) des deux vergers (pommier asymptomatique-poirier symptomatique).

# • Matériels d'échantillonnage

Le matériel nécessaire sur le terrain pour effectuer notre échantillonnage, comprend :

- un récipient contenant de l'eau mélangée à la javel ;
- deux sécateurs ;
- des sachets en papier ;
- deux glacières;
- des gants

# III-2-1-2-Méthodes d'échantillonnage

Selon les laboratoires de l'Institut National de la Protection des Végétaux, les méthodes d'échantillonnages utilisées dans le cadre du dépistage des maladies bactériennes sur arbres fruitiers à pépins différent selon l'état phytosanitaire des vergers.

# • Verger asymptomatique (pommier)

Nous avons effectué l'échantillonnage en prenant cinq points de repère selon le schéma suivant :

Point d'échantillonnage (Cinq arbres)

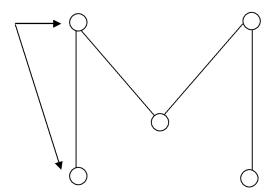


Figure 23 : Schéma de l'échantillonnage au niveau du verger de pommier

Sur chaque point d'échantillonnage, nous avons choisis cinq arbres au hasard soit vingt cinq arbres au total, et nous avons prélevé vingt cinq tiges sur chaque arbre à l'aide d'un sécateur. Ce dernier est désinfecté en passant d'un arbre à un autre.

L'échantillon est constitué de tiges d'environ 30 cm de longueur, de feuilles et de fruits, chaque échantillon prélevé sur un même arbre est mis dans un sac en papier (figure 24).





Figure 24 : Prélèvement d'échantillon de pommier (Photos originales, 2016)

# • Verger de poirier (symptomatique)

Nous avons effectué un échantillonnage aléatoire, vingt cinq arbres ont été choisis au hasard en évitant celles des bordures.

L'échantillon prélevé au niveau de ce verger contient des tiges aves des feuilles et des fruits (figure 25).





Figure 25 : Prélèvement d'échantillon de poirier (Photos originales, 2016)

Les échantillons de pommier et de poirier ont été transportés dans des glacières et sont préservés dans un réfrigérateur à 5°C, puis acheminés vers le laboratoire de bactériologie de l'INPV d'Alger pour analyse.

### III-2-2-Diagnostic au laboratoire

### III-2-2-1-Matériels et réactifs utilisés au laboratoire (voir annexe VII)

# III-2-2-2-Méthodes de diagnostic

La méthode décrite dans ce travail est extraite du protocole du diagnostic pour les organismes réglementés de l'Institut National de la Protection des Végétaux.

Les différentes étapes de la mise en culture et de l'identification de la bactérie sont les suivants :

- préparation des milieux et réactifs nécessaire;
- préparation de l'échantillon asymptomatique et symptomatique (Tiges, feuilles et fruits);
- isolement sur des milieux de culture ;
- réalisation des tests : tests d'orientation ou tests biochimiques ;
  - test d'hypersensibilité sur tabac;
  - test sérologique (immunofluorescence).

# III-2-2-2-1-Préparation des milieux de culture et des réactifs (voir l'illustration en annexe IX et X)

Les milieux nécessaires pour notre étude sont les suivants :

- ✓ milieu LPGA (milieu standard) : c'est une gélose qui sert à isoler les bactéries ;
- ✓ milieu Levane (NAS) : milieu demi sélectif ;
- ✓ milieu CCT : milieu sélectif pour *Erwinia amylovora* ;
- ✓ milieu Hugh et Leifson (H et L);
- ✓ milieu PBS (tampon phosphate salin).

Les milieux nutritifs standard et semis sélectif favorisent le développement des bactéries en général et le milieu sélectif limite la croissance des autres bactéries habituellement présentes sur les végétaux sauf *Erwinia amylovora*.

# A-Préparation des milieux LPGA et NAS

La méthode de préparation des milieux LPGA et NAS se traduit dans l'organigramme suivant :

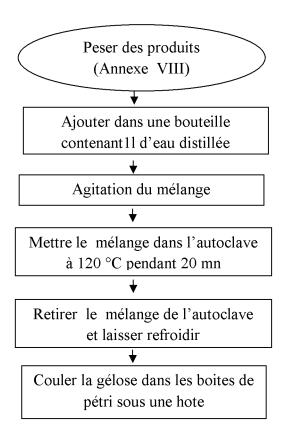


Figure 26 : Organigramme des étapes de préparation des milieux LPGA et NA

# B-Préparation du milieu sélectif CCT

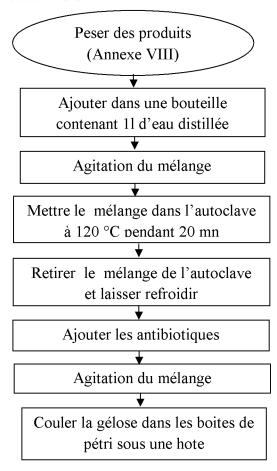


Figure 27: Organigramme des étapes de préparation du milieu CCT

# C-Préparation du milieu Hugh et Leifson

Le diagramme ci-dessous résume les étapes de préparation du milieu H & L :

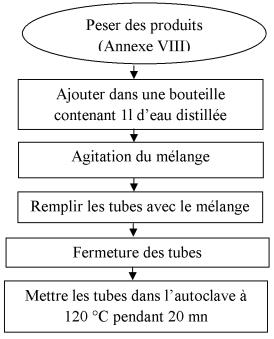


Figure 28 : Organigramme des étapes de préparation du milieu H& L

Les milieux de cultures sont stérilisés à une chaleur humide 120 °C pendant 20 mn pour détruire toute forme végétative et sporulée de bactéries.

# III-2-2-2-Préparation des échantillons asymptomatiques et symptomatiques (voir illustration en annexe XI)

Pour éviter tout risque de contamination, nous avons procédé à la préparation de l'échantillon asymptomatique en premier lieu selon les étapes suivantes :

- désinfection des mains avec de l'alcool (éthanol à 70 %);
- désinfection des sécateurs avec du coton imbibé d'alcool;
- essuyage de la paillasse avec du coton imbibé d'alcool.

Cette démarche permet de manipuler dans des conditions d'asepsie rigoureuses.

# A-Echantillon asymptomatique

- ✓ prendre trente tiges de l'échantillon de pommier au hasard et les coupés à partir de l'apex en petits morceaux ;
- ✓ faire un échantillonnage au hasard sur les morceaux mélangés ;
- ✓ mettre les l'échantillon dans des boites de pétri stériles.

### **B-Echantillon symptomatique**

- ✓ Choisir trente tiges infestées de l'échantillon de poirier et les coupés en boutures au niveau des bordures des lésions provoqués par la maladie (à quatre centimètres de part et d'autre de la lésion) ;
- ✓ mettre les l'échantillon dans des boites de pétri stériles.



**Figure 29**: Opération de prélèvement des échantillons au laboratoire (Photo originale, 2016)

La préparation des échantillons (annexe XIII) se résume dans les étapes suivantes :

- découpage des tiges en petites boutures;
- ➤ désinfection superficielle des boutures à l'aide du coton imbibé d'alcool (éthanol à70%);
- découpage des boutures en très petits morceaux;
- ➤ désinfection des petits morceaux par passage rapide sur une flamme;
- Mettre les morceaux dans des boites de pétries en verre stériles.

Nous avons procédé de la même façon pour les deux échantillons, pommier et poirier.

# C- Prélèvement d'exsudat sur l'échantillon symptomatique (voir illustration en annexe XII)

Nous avons prélevé des gouttelettes d'exsudat à l'aide d'une pipette pasteur et sont mise dans un tube Eppendorf.

### III-2-2-2-3-Extraction

- > ajouter du PBS dans les boites de pétries contenant les morceaux découpés;
- dilacérer finement les morceaux à l'aide d'un scalpel;
- laisser macérer environ 30 mn à une température ambiante ;

Pour ce qui est de l'échantillon d'exsudat, le procédé d'extraction est le suivant :

- > ajouter 3ml de PBS dans le tube Eppendorf;
- > agiter le mélange au vortex ;
- > laisser macérer pendant 10 mn.

# III-2-2-4-Isolement sur les différents milieux de culture (LPGA, NAS et CCT) (voir illustration en annexe XIII)

Après macération, un prélèvement est pratiqué sur boites de pétri contenant les milieux de cultures.

L'isolement sur trois milieux de cultures est conseillé pour une récupération maximale de bactéries (INPV, 2015).

Après 30 mn de macération pour les échantillons de pommier et poirier et 10 mn pour l'exsudat, nous avons procédé à l'isolement comme suit :

- > prendre une goutte de liquide de macération avec l'anse ou pipette pasteur stérile;
- réaliser un étalement par épuisement en trois secteurs dans les trois milieux de cultures afin d'obtenir des colonies isolées :
- If lamber à la flamme l'anse entre chaque utilisation.

Chaque milieu est divisé en trois secteurs:

• 1 ère zone : stries très serrées ;

• 2<sup>eme</sup> zone : stries plus au moins serrées ;

• 3<sup>eme</sup> zone : stries très espacées pour individualiser les colonies.

Le travail s'est effectué dans une zone stérile (entre deux becs Bunsen).

### III-2-2-2-5-Incubation

Les boites de pétris préparées avec l'ensemencement bactérien sur les milieux de culture ont été misent dans l'incubateur à  $25^{\circ}$ C + ou  $-3^{\circ}$ C et l'observation a été faite après 48 heures.

### III-2-2-2-6-Purification

En dépit des précautions prises, il est rare que l'on observe une culture pure. La notation des colonies se porte sur la couleur, la forme, l'aspect et la dimension (INPV, 2015).

Les colonies ainsi individualisées après incubation, sont repiquées séctoriellement sur le milieu de culture standard (LPGA) (figure 30) et sont misent en incubation pour confirmer les caractéristiques cités plus haut et réaliser les tests d'identification.



Figure 30 : Etalement par épuisement sectoriel dans le milieu LPGA (Photo originale, 2016)

### III-2-2-7-Identification

Après extraction, isolement et purification des colonies, nous avons procédé à la réalisation des tests d'identification (biochimiques, hypersensibilité sur plant de tabac et sérologique).

### A-Tests d'orientation ou test biochimiques

Lors de la détermination d'une espèce bactérienne, certains critères permettent d'orienter le diagnostic de façon précise. Les tests à effectuer pour identifier le genre bactérien sont les suivants :

- ✓ test de KOH 3% (détermination de Gram);
- ✓ test oxydase (recherche du cytochrome c-oxydase);
- ✓ test catalase;
- ✓ test d'Hugh et Leifson (détermination des voies de dégradation du glucose).

# • Test de KOH 3%(détermination de Gram)

Ce test permet de déterminer la nature de la paroi de la cellule bactérienne, il consiste à :

- déposer une goutte d'une solution aqueuse KOH 3% sur une lame en verre propre ;
- > prendre une goutte de la colonie bactérienne et l'émulsionner sur la goutte du KOH 3% (figure 31) avec une pipette pendant 5 à 10 secondes.

Pour la fiabilité des résultats, le test est réalisé en trois répétitions.



**Figure 31**: Emulsion la goute de la colonie bactérienne avec le KOH 3% (Photos originale, 2016).

# • Test oxydase

La recherche de l'oxydase est un des critères le plus employé pour l'identification des bactéries. Il consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée, à oxyder la forme réduite incolore de dérivés N-N diméthyle du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée de couleur bleu violacée.

Les étapes du test sont comme suit :

➤ imbiber le papier filtre stérile avec une goutte du réactif (N.N-diméthyl-p-phénylène diamine dihydrochloride);

→ émulsionner la goutte de la colonie bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur sur la goutte du réactif (figure 32) et l'étaler sur le papier filtre.



**Figure 32 :** Emulsion de la crème bactérienne sur la goutte du réactif (Photos originale, 2016).

La lecture se fait après 10 à 30 secondes et les résultats peuvent êtres :

✓ Positive : apparition d'une coloration bleu violette ;

✓ Négative : absence de coloration.

### • Test catalase

La catalase est une enzyme importante qui joue un rôle majeur dans l'élimination du peroxyde d'hydrogène.

Pour la réalisation de ce test, nous avons pris une lame en verre, sur laquelle nous avons déposé une goutte de peroxyde d'hydrogène 3% et rajouté la crème bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur.

Le résultat attendu est soit :

- ✓ l'apparition des bulles (effervescence) révélant le dégagement d'oxygène (réaction positive);
- ✓ l'absence des bulles (réaction négative).

# • Test d'Hugh et Leifson (H&L) (voir illustration en annexe XIV)

C'est un test de mise en évidence du métabolisme oxydatif ou fermentatif du glucose, son principe est de :

- rendre deux tubes à essai (A) et (B) contenant le milieu H & L (figure 33);
- > ensemencer une goutte de la colonie bactérienne dans les deux tubes ;
- > agiter les deux mélanges au vortex pour avoir un milieu homogène;
- recouvrir le tube (A) avec l'huile de vaseline ;
- ➤ laisser incuber à 27 °C pendant 24 à 48 h.

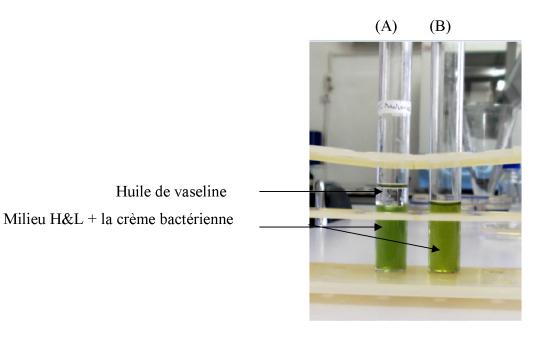


Figure 33: Test Hugh et Leifson (Photo originale, 2016)

- A : tube à essai contenant le milieu H&L ensemencé avec la crème bactérienne et couvert de vaseline (milieu anaérobie)
- B : tube à essai contenant le milieu H&L ensemencé avec la crème bactérienne (milieu aérobie)

# L'observation se fait après incubation :

- ✓ Si les deux tubes sont jaunes : la bactérie est fermentative ;
- ✓ Absence de modification dans les deux tubes : la bactérie est inactive ;
- ✓ Seul le tube en aérobiose vire au jaune : la bactérie est oxydative.

# B-Test d'hypersensibilité sur tabac (voir illustration en annexe XV)

Le test du pouvoir d'hypersensibilité d'une bactérie se pratique généralement sur plant de tabac, ce test consiste à :

- ➤ préparer une suspension bactérienne par agitation d'un mélange de crème bactérienne avec 2 ml d'H<sub>2</sub>O stérile dans un tube à essai ;
- inoculer la feuille de tabac sur la face inférieure en injectant la suspension dans la nervure centrale ;
- be observation des résultats après 24 à 48 h.

# C-Test sérologique (Immunofluorescence) (voir illustration en annexe XVII)

Le principe de ce test est l'utilisation d'un anticorps spécifique à la bactérie (antisérum). La visualisation des cellules bactériennes sous microscope est rendue possible grâce à l'anticorps (IgG) marqué à la fluorescéine

Pour réaliser ce test, nous avons utilisé un kit spécifique à la bactérie Erwinia amylovora, ce dernier est composé de :

- témoin positif;
- sérum ;
- conjugué.

Les étapes de réalisation de ce test sont les suivants :

- > prélever la crème bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur et la mettre dans un tube à essai contenant du PBS;
- mettre le tube dans une centrifugeuse pendant 12 mn;
- renouveler le PBS (opération est répétée 3 fois pour purification de la souche).

Ces opérations nous ont permis d'avoir un culot, c'est une concentration de bactéries au fond du tube.

A partir de cette solution mère, nous avons réalisé des dilutions (1/10,1/100) dans des tubes à essais et nous avons procédé comme suit :

- > agiter les dilutions au vortex ;
- ▶ prendre une lame multi-puits (IF) et déposer 20µl des suspensions (solution mère, solutions diluées, témoin positif, témoin négatif) avec une micro pipette dans des puits différents (figure 34);
- incuber à 50°c pendant 30 mn sur une plaque chauffante;
- ➤ fixer à l'alcool;

- > sécher à l'air libre;
- déposer 20μl d'antisérum dans les puits ;
- incuber pendant 30 mn à température ambiante (à l'obscurité);
- > laver avec du PBS;
- > sécher la lame à l'air libre;
- appliquer 20μl de conjugué (IgG) ;
- incuber pendant 30 mn à température ambiante (à l'obscurité);
- > laver avec du PBS;
- > sécher la lame à l'air libre ;
- ➤ observation au microscope photonique à fluorescence à un grossissement (100 X) dans une chambre noire.

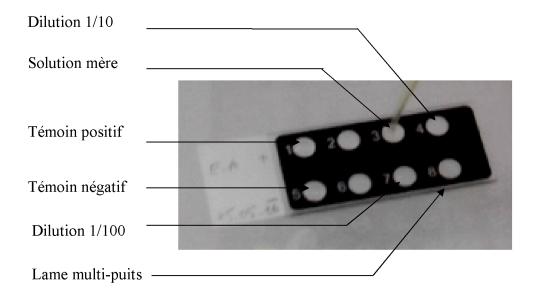


Figure 34 : test sérologique (Photo originale, 2016)

Pour mieux visualiser les cellules bactériennes, nous avons rajouté l'huile d'émersion dans les puits.

# Chapitre IV Résultats et Discussions

### IV-1-Résultats de l'isolement

Les résultats de l'isolement ont montrés la présence de colonies bactériennes dans les trois milieux de cultures (LPGA, NAS et CCT) et sur les deux échantillons provenant des deux vergers (pommier asymptomatique et poirier symptomatique)

Les caractéristiques des colonies observées sur chaque milieu correspondent à celles d'*Erwinia amylovora*: couleur blanchâtre, forme circulaire bombée tendant à s'étaler, lisse et muqueuse (figure 35 et figure 36). Ces caractéristiques ont été confirmées après purification.

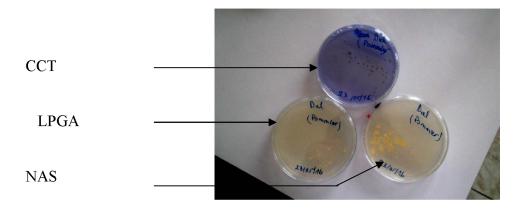
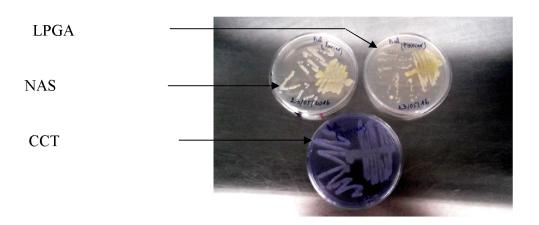


Figure 35 : Résultat d'isolement sectoriel après 48 heures d'incubation sur les trois milieux de cultures (Echantillon de pommier)

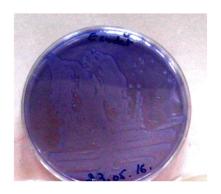


**Figure 36** : Résultat de l'isolement sectoriel après 48 heures d'incubation sur les trois milieux de cultures (Echantillon de poirier)

Chapitre IV Résultats et discussions







Echantillon de pommier

Echantillon de poirier

Exsudat sur poirier

**Figure 37** : Résultat de l'isolement sectoriel après 48 heures d'incubation sur le milieu spécifique (CCT)

Pour identifier la bactérie proliférée sur les milieux de cultures (figures 35-36) et dans le but de connaître ses caractères bactériologiques, des tests biochimiques, sérologiques et d'hypersensibilité sont réalisés.

### IV-2-Résultat et discussion des tests

# IV-2-1-Tests biochimiques

Les tests biochimiques constituent une approche classique pour l'identification bacterienne, donc ils sont utiles pour la determination de certaines espèces et sous espèces de bacteries phytopathogènes. Grace à ces tests, il est possible de connaitre certaines caracteristiques du métabolisme des bacteriesisolées (oxydase, catalase, ......)

# A-Test de KOH 3% (détermination de Gram)

Généralement l'identification du type de Gram de la bacterie est faite par la méthode de la coloration de Gram qui permet d'observer au microscope photonique des cellules colorées en rose ou en violet, ces résultats montrent que la bacterie est de Gram négatif, comme il est posssible de connaître le type de Gram de la bacterie en utilisant le test de KOH 3% qui permet d'observer à l'œil nu :

- ✓ Soit la formation d'un filament visqueux (agglutination) qui indique que la bactérie est Gram négatif.
- ✓ Soit l'absence de filament, indiquant que la bactérie est Gram positif.

Dans le cas des bactéries Gram négatif, la solution de KOH 3 % passe plus facilement à travers la paroi cellulaire, il y a formation d'un complexe ADN+KOH qui se manifeste par l'apparition d'un filament visible à l'œil nu en soulevant l'anse (GARDAN et LUISETTI, 1991).

Le test réalisé au laboratoire a fait apparaître comme résultat, la formation d'un filament visqueux (agglutination) indiquant que la bactérie testée est Gram négatif (figure 38). Ceci concorde avec les résultats obtenus par AOUINA, MALEK et TAOUCHE (2011) en étudiant les caractéristiques de la bactérie qui provoque la jambe noir sur tubercules de pomme de terre. Ils ont constaté qu'elle est du type Gram négatif, et cela apres observation du filament en réalisant le test KOH 3 %. cette bacterie est une espèce appartennant au même genre que *Erwinia amylovora*.

Nos resultats rejoignent aussi ceux obtenus par HADJOU (2013) qui a travaillé sur le feu bactérien, il a detecter la présence de la bacterie *Erwinia amylovora* sur treize echantillons de pommier et de poirier parmi dix neuf testés, la réalisation du test KOH 3% sur des colonies bacteriennes isolées dans des milieux de cultures (LPGA et KB) a fait apparaître le filament visqueux .



Figure 38 : Résultat du test KOH 3 % positif (photos original, 2016)

# **B-Test oxydase**

Le test oxydase est basé sur la production d'une enzyme oxydase intracellulaire par la bactérie en présence d'oxygène atmospherique, donc la capacité de celle-ci a oxyder la forme réduite incolore de dérivés N-N diméthyle du paraphénylène diamine, en leurs formes oxydées.

L'émulsion de la crème bactérienne sur le papier filtre imbibé du réactif, a fait ressortir un résultat négatif qui s'est traduit par l'absence de couleur quelques secondes après à l'endroit où nous avons déposé la colonie, nous l'avons confirmée après 30 secondes donc la bactérie est dépourvue du Cytochrome C-oxydase (oxydase négative)(figure 39).

Nos résultats correspondent à ceux obtenus par RAFED (2015) qui a travaillé sur la bactérie *Erwinia amylovora* isolée à partir d'échantillons issues d'un verger de poirier situé dans la région de Mitidja Larbaa (Blida), il a constaté que cette bactérie n'est pas capable de produire une enzyme oxydase, car il n y'a pas eu changement de couleur vers le bleu violacé à l'endroit où il a émulsionné la crème bactérienne sur le papier filtre.



Figure 39 : Résultat du test d'oxydase (photos original, 2016)

#### C-Test de la catalase

La réoxydation chimique des coenzymes flaviniques FAD et FMN produit du perhydrol ou eau oxygénée, celle-ci est décomposée par l'intermédiaire d'une catalase car il est toxique pour la cellule à cause de l'oxydation des groupes SH libres des enzymes (GARDAN et LUISETTI, 1991)

$$FADH_2+O_2$$
  $\longrightarrow$   $FAD+H_2O_2$ 

Le résultat obtenu lors de la réalisation de ce test, est le dégagement d'oxygène qui s'est traduit par l'apparition de bulles (réaction d'effervescence).

$$H_2O_2$$
 catalase  $H_2O$  +  $\frac{1}{2}O_2$ 

L'enzyme catalase est produit en abondance par les bacteries ayant un métabolisme respiratoire qui détruit les péroxydes et libère de l'oxygène.

Apres trois repetitions le résultat a été confirmé, le dégagement d'oxygène s'est traduit par l'apparition des bulles d'air (figure 40), ce qui indique que la bacterie a décomposé l'eau oxygéné en dégageant de l'oxygène (bulles), ces résultats sont identiques a ceux obtenus par AOUINA ,MALEK et TAOUCHE (2011) lors de la réalisation de ce test sur l'agent phytopathogène *Erwinia carotovora*, les bules d'air sont apparues en réalisant ce test sur une colonie bacterienne obtenus à partir d'echantillons de tubecules présentant des symptomes de pourritures molles.



**Figure 40:**Résultat du test de la catalase (photos original, 2016)

# D-Test d'Hugh et Leifson (H&L)

Le test Hugh et Leifson permet de vérifier l'utilisation du glucose par voie oxydative ou fermentative qui est considéré comme un caractère taxonomique important des bactéries phytopatogènes(ANKI,1990).

A l'aide d'un milieu à faible teneur en peptone et à forte concentration en glucose, nous detectons l'acide formé soit par l'oxydation, soit par la fermentation du glucose.

Selon CAMARA et NIGNAN (2007) in RAFED(2015), la degradation du glucose s'accompagne généralement d'une acidification du milieu H&L contenant un indicateur de pH (bleu de bromothymol).

Daprés LACROIX (2009), L'acidification du milieu fait changer la couleur de l'indicateur coloré du vert au jaune. Une réaction positive suite à la fermentation du glucose en condition anaérobique indique que la bacterie est fermentative. Ce-ci correspond aux résultats que nous avons obtenus lors de la réalisation de ce test, le changement de couleur du contenus des deux tubes a été observé après incubation à 25 °C,

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par HADJOU(2013) en recherchant l'agent causal du feu bacteriensur treize echantilons de pommier et de poirier, qui en réalisant le test H&L, il a remarqué le changement de la couleur du bleu de bromothymol du vert au jaune orange et il a conclus que la bactérie qui a causé la maladie du feu bactérien peu dégrader le glucose dans les deux milieux aérobie et anaérobie.

Nos résultats correspondent aussi avec ceux obtenus par les deux RHENNAI (2015) qui ont travaillé sur l'étude de l'activité anti bactérienne des extraits végétaux d'une gamme de plantes contre l'agent phytopathogène *Erwinia amylovora*après isolement et identification de cette bactérie sur plants de poirier issues de la région de Boumerdes, le changement de couleur a été observé après 48 heures d'incubation à 25°C.

A cet effet il est à signaler que cette bactérie utilise le glucose (dégradation) dans les deux milieux anaérobie et aérobie donc la bactérie est fermentative facultative (Figure 41)

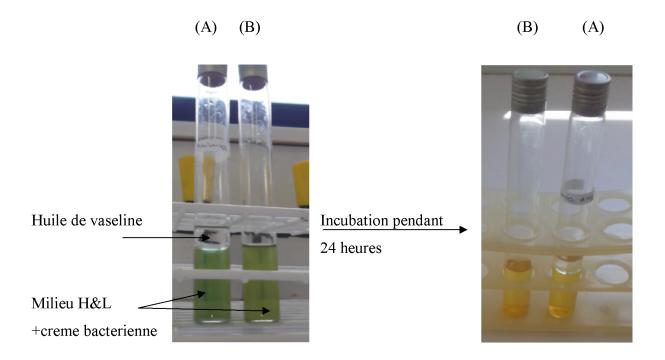


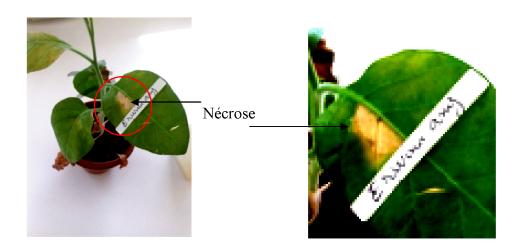
Figure 41: Résultat du testd'Hugh et Leifson (H&L) (Photos originales, 2016).

### IV-2-2-Test d'hypersensibilité sur tabac

Le test d'hypersensibilité (HR) est reconnue comme étant une réaction de défense général de la plante vis-à-vis des pathogènes incompatibles.

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie par le desséchement de la zone d'inoculation sur feuilles de tabac. Elle vise donc à distinguer les bactéries pathogènes des bactéries saprophytes. Il s'agit en fait de la reproducion des symptomes en injectant lateralement la suspension bacterienne à l'aide d'une seringue dans la nervure principale de la face inferieure de la feuille de tabac (GARDAN et LUISETTI, 1991).

Les résultats que nous avons obtenus après 48 heures d'inoculation ont montrés l'apparition de symptomes de réaction d'hypersensibilité. Le jaunissement au niveau de la zone infiltrée evolue en nécrose puis elle s'étale progresssivement sur toute la feuille de tabac, c'est une réaction positive, caracteristique des souches phytopathogènes (figure 42).



**Figure 42**: Nécrose due à l'inoculation sur feuille de plant de tabac (Photos originales, 2016)

Les résultats des tests que nous avons réalisés pour l'identification de la bactérie sont résumés dans le tableau X :

**Tableau X:** Tableau des résultats des tests réalisés.

Tests	Résultats
Test de KOH 3% (détermination de Gram)	-
Test oxydase	-
Test de la catalase	+
Test d'Hugh et Leifson	Fermentative
Test d'hypersensibilité sur tabac	+

**Tableau XI :** Spectre de réponse des bactéries phytopathogènes (INPV, 2016)

Bactéries Phytopathogènes	HR	Gram	H&L	C.O	catalase
Erwinia	+	-	F	-	+
Pseudomonas	+	-	О	+/-	+
Ralstonia	+	-	О	+	+
Clavibacter	+	+	I	-	/
Xanthomonas	+	-	О	-	+
Agrobacterium	+	-	О	+/-	/

HR : Test d'hypersensibilité sur tabac.

Gram : Test KOH, détermination du type de Gram.

H&L : Test Hugh et Leifson.

C.O : Cytochrome oxydase, test oxydase.

Catalase: Test de la catalase.

En comparant nos résultats (tableau X) à ceux illustrés dans le tableau XI du spectre de reponse des bacteries phytopathogènes, nous avons pu classer la bacterie recherchée dans le genre *Erwinia* présentant des caracteristiques spécifiques qui le differencie des autres genres phytopathogènes, les bacteries appartenant à ce dernier sont fermentatives facultatives de type Gram négatif, ayant une réaction positive vis-à-vis des tests de la catalase et d'ypersensibilité sur tabac et négative au test d'oxydase.

Après la réalisation des tests d'orientation qui nous ont permis de déduire que la bactérie recherchée appartient au genre *Erwinia*, reste à identifier l'espèce responsable des brulures sur les plants du poirier, et cela en réalisant le test sérologique.

### IV-2-3-Test sérologique

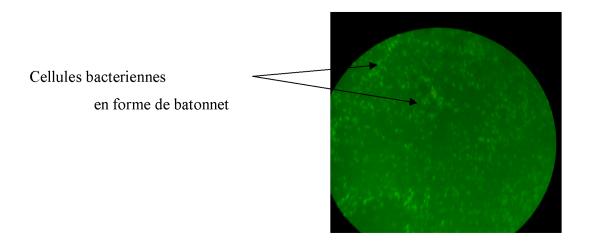
Le test sérologique est utilisé pour détecter une bactérie directement dans les tissus végétaux ou pour identifier une espèce bactérienne isolée sur milieu de culture gélosé.

L'utilisation d'anticorps pour le diagnostic des maladies bactériennes représente une méthode spécifique et rapide. Le sérum spécifique d'une espèce peut reconnaitre toutes les souches de cette espèce (GARDAN et LUISETTI, 1991).

Selon les mêmes auteurs le sérum est utilisé avec un minimum de risques d'erreurs pour le diagnostic de plusieurs espèces bactériennes dont *Erwinia amylovora*. Le sérum se fixe à l'emplacement de l'antigène de la bactérie reconnue.

Le conjugué utilisé dans ce test permet de se fixer sur le sérum spécifique, ce qui provoque une inflorescence qui permet de mieux voir les cellules bactériennes sous le microscope (IF).

L'observation sous microscope photonique à fluorescence (IF) des puits contenant les solutions, nous a permis de visualiser les cellules bactériennes fluorescentes en forme de bâtonnet (Figure 43).



**Figure 43**: Observation des cellules bacteriennes sous microscope photonique à fluorescence (IF) (original, 2016)

Nous avons réalisé ces tests sur les deux colonies bactériennes issues des échantillons de pommier et poirier (figure 37) et les résultats étaient les mêmes.

La réalisation du test sérologique nous a permis d'identifier la bacterie Erwinia amylovora agent causal des brulures apicales dans le verger de poirier et aussi de detecter sa présence dans le verger de pommier asymptomatique.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par l'INPV en 2011 (présence de la bacterie *Erwinia amylovora*) en analysant les echantillons issues des vergers où nous avons fait notre étude et qui étaient transmit par l'Inspection Phytosanitaire sous une demande d'analyse et une fiche de prospection des deux vergers. Les tests utilisés etaient : les tests bilochimiques et sérologiques et des bulletins d'analyses ont été établis (annexes XVIII et XIX).

Chapitre IV Résultats et discussions

Au laboratoire de diagnostic des bactéries phytopathogènes, les tests biochimiques et sérologiques sont suffisants pour l'identification des espèces bactériennes isolées sur des milieux de culture (INPV, 2011).

Ces tests ont été utilisés durant la période 2011-2015 pour l'identification de la bactérie *Erwinia amylovora* qui a infestée plusieurs vergers au niveau national (DSA, 2015).

La culture du pommier poirier est sensible aux attaques d'une gamme importante de ravageurs (HADBI M.,2015) et de maladies cryptogamique, virales et bactérienne.

Notre étude peut être considérée comme une initiation pour un long travail de recherche dans le domaine de la bactériologie au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou.

La première étape de notre travail consiste à isoler l'agent pathogène à partir du matériel végétal suspect (poirier symptomatique et pommier asymptomatique).

L'utilisation de trois milieux de culture (LPGA,NAS et CCT) au laboratoire nous a permis de récupéré le maximum de colonies bactériennes,le milieu sélectifcontenant des antibiotiques(Thallium nitrateet Cycloximide) a permit l'inhibition de la croissance de la flore accompagnatrice.

Les résultats de l'isolement ont montrés la présence de colonies bactériennes de caractéristiques (forme, couleur) typiques à celles d'*Erwinia*.

Les tests réalisés sur les colonies pour l'identification de la bactérie ont montré qu'elle présente une structure pariétale de type Gram négatif(test de KOH 3% positif) et d'un métabolisme respiratoire de type anaérobie facultatif (le test d'Hugt et Leifson) donc la bactérie est fermentative, d'un système enzymatique particulier (test d'oxydase négative et test de la catalase positif) et d'un pouvoir pathogène sur plant de tabac (test d'hypersensibilité positif). Ces tests nous ont orientés vers le genre *Erwinia*.

Le test sérologique nous a permis de conclure que les deux échantillons prélevés dans les deux vergers sont infestés par le feu bactérien.

Ce qui nous permet de déduire que des vergers peuvent êtres des foyers de la maladie sans extériorisation de symptômes.

Il convient de rappeler que le feu bactérien est la plus dangereuse maladie bactérienne des arbres fruitiers à pépins. La bactérie responsable de l'infection, *Erwinia amylovora*, est un parasite réglementé contre lequel la lutte est obligatoire et permanente dans plusieurs pays.

En Algérie, ce n'est qu'après confirmation de la présence de cas du feu bactérien qu'une décision a été signée par le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural sous le N° 403 du 14 /06 /2011 pour rendre obligatoire la lutte contre cette maladie. Suite à cette décision, Il a été procédé à l'élaboration des arrêtés fixant les conditions et les modalités d'arrachage des arbres contaminés au niveau des wilayas touchées par le feu bactérien.

Durant notre travail, nous avons constaté que plusieurs vergers de la wilaya de Tizi-Ouzou ont déjà été échantillonnés et analysés au laboratoire de l'INPV pour détecter la présence ou l'absence de la bactérie. Le but était pour lutter, empêcher sa propagation vers les vergers sains et enfin, déterminer les taux d'infestation (annexes VXI et VXII).

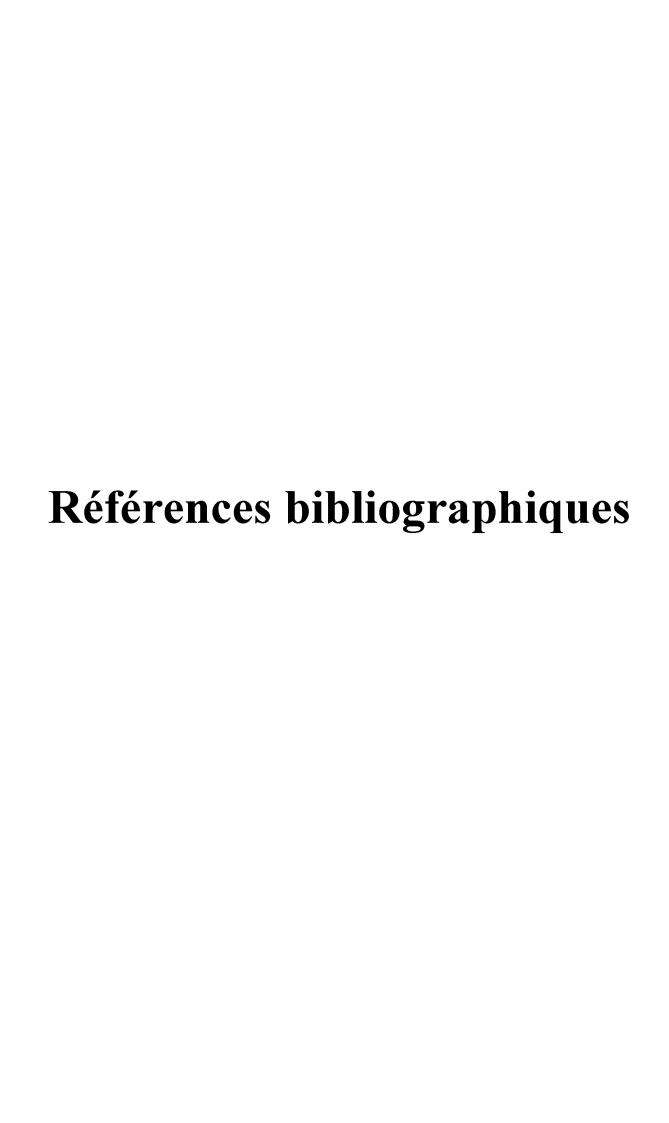
Les résultats de ces analyses ont pu classer la wilaya de Tizi-Ouzou parmi celles touchées par le feu bactérien avec des superficies de 192,7 ha et 240 plants de pommier et 243,85 ha et 1076 plants de poirier infestés par la maladie du feu bactérien.

L'arrachage constitue une forme radicale de lutte contre la propagation de cette bactérie tueuse, alors que certains auteurs, rejettent carrément cette méthode en déclarant qu'il existe des pratiques de lutte plus souples contre cette bactérie sur arbres infestés.

A cet effet des études pourront être faites sur l'activité anti bactérienne des extraits végétaux d'une gamme de plantes caractérisées d'activité biocide dans la protection des plantes contre l'agent phytopathogène *Erwinia amylovora* et de recommander l'utilisation des huiles essentielles dans le cadre d'une lutte intégrée.

#### Conclusion

Le feu bactérien est inoffensif pour l'homme et les fruits provenant des arbres contaminés sont tout a fait propre à la consommation(INPV,2011)



- 1-ABBOTT D. L. (1984). The apple tree: physiology and management. Grower Books, London, 90 p.
- 2- ANKI N. (1990). Recherche du feu bactérien du à *Erwinia amylovora* sur Poirier dans l'Algérois, Thèse d'ingéniorat. INA Elharrach.61 p.
- 3-AOUINA A "MALEK D.et TAOUCHE R. (2011) .Etude caracteristique de la maladie de la jambe noire de la pomme de terre, mémoire de Master académique en biologie, Biotechnologie microbiène. Université Mohamed Bougara de Boumerdes 80p.
- 4-ARENENBERG Urs Müller LBBZ, Fachstelle Pflanzenschutz und Ökologie, 8268 Salenstein "Eduard Holliger, Jakob Vogelsanger, Agroscope Changins-Wädenswil (ACW), 8820 Wäd (2006). Feu bactérien, Risques de confusion avec d'autres dégâts causés aux arbres fruitiers à pépins et autres plantes hôtes du feu bactérien. Editeur: Office fédéral de l'agriculture (OFAG).
- 5- BAILLY R., ROBBE-DURANT P., FOUGEROUX A. et BEYT N. (1990). Guide pratique de défense des cultures, 4<sup>eme</sup> édition ACTA .Paris.557 p.
- 6- BELHASSAINE M. (2014). Etude des porte-greffes de quelques rosacées à pépins et à noyaux dans la pépinière de l'état de la wilaya de Tlemcen saf-saf. Mémoire Master. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. 107 p.
- 7-BENNAI M. et HAMADACHE A. (2012). Protection phytosanitaire des arbres fruitiers et de la vigne ,1ére édition, SYNGENTA. 152 P.
- 8-BERGER M.N. (2008). Poire de bouche, Fiche technique, production développement en anguedoc-Roussillon. Filière arboriculture (Chambre d'agriculture du Gard).9 p.
- 9-BLOESCH B. et VIRET O. (2013). Stades phrénologiques repères des fruits a pépins. Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture. Vol., 45 (3): 197, 2013.
- 10-BRETAUDEAU J. et FAURE Y. (1991). Atlas d'arboriculture. Vol 2. Edition Lavoisier. Paris. 66p.
- 11-BRUN M. J., 2013. Expérience de la France dans la gestion du Feu bactérien, conférence du 3 et 4 septembre 2013. Tunis.

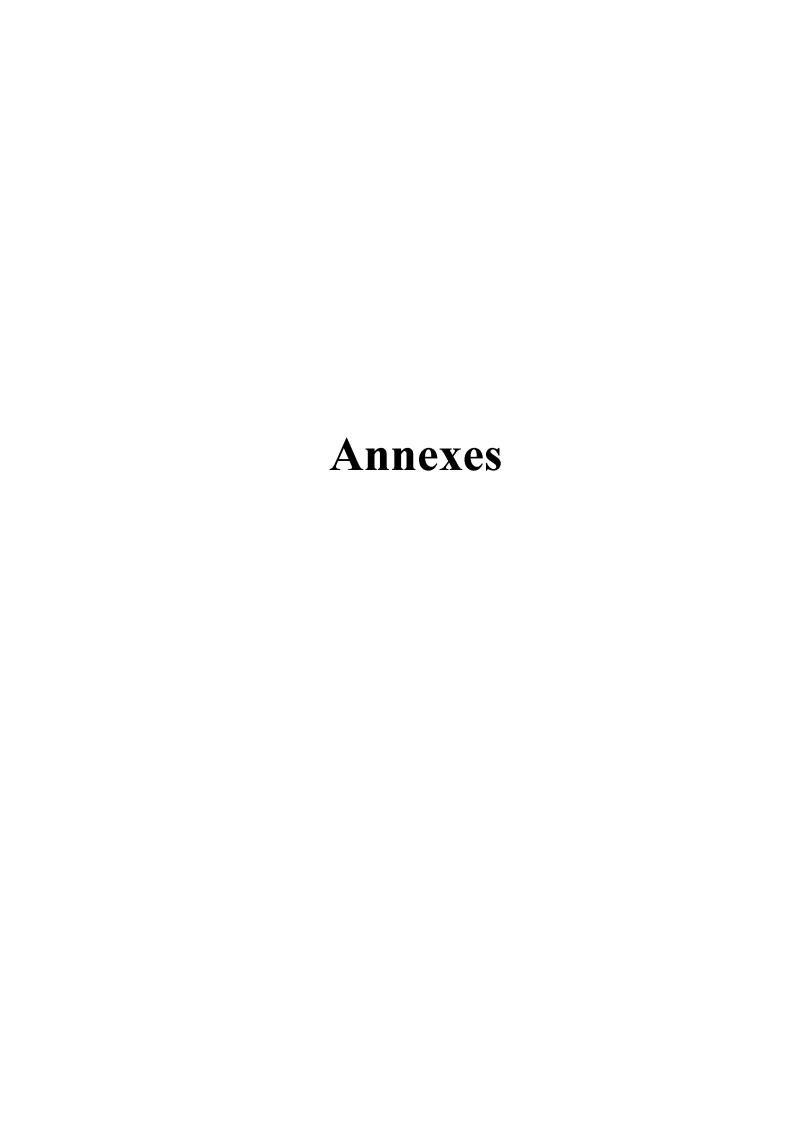
- 12-BUNTER M., POPOW G., STRICKHOF, LINDAU ZH., HOLLIGER E., VOGELSANGER J.et SCHOCH B. (2003). Feu bactérien: contrôlez vos arbres. Station fédérale de recherches de Wädenswil (FAW). Edition 2003. Editeur, Office fédéral de l'agriculture (OFAG).
- 13- CHAOUIA CH., MIMOUNI N., TRABELSI S., BENREBIHA F.Z., BOUTEKRABT T.F.et BOUCHENAK F. (2003). Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture en Algérie. Alger: les espèces fruitières, viticoles et phoenicicoles. Recueil des communications atelier n°3 «Biodiversité importante pour l'agriculture» MATE- GEF / PNUD. Projet ALG/ 97/ G 31: 19- 28.
- 14- CHEVREAU E.et MORISOT D. (1985). Variabilité génétique d'une collection d'espèces des genres *Malus* et *Pyrus*, Analyse botanique et enzymatique. D.E.A. INRA. Station d'arboriculture fruitière 1-8.
- 15- CHOUINARD G. FIRLE J. A. VANOOSTHUYSE F.et VINCENT C. (2000). Guide d'identification des ravageurs des pommiers et leurs ennemis naturels. IRDA et Saint-Laurent. Québec, 69 p.
- 16- DAAMI M. (2014). Feu Bactérien: Risques de Confusion des Symptômes et Gestion Intégrée CRRHAB73 327 543 .Journée de formation du au à- septembre 2011
- 17- DELAHAYE T. et VIN P. (1997). Le pommier. 1<sup>ere</sup> Edition ACTES SUD. Paris. 88p.
- 18-DSA de Tizi-Ouzou(2015). Statistiques agricoles services des statistiques et des enquêtes économiques
- 19- DSA Tipaza (2015). Inspection Phytosanitaire services des statistiques et des enquêtes économiques
- 20- F.A.O (2013). Production agricole, cultures primaires, Banque de données statistiques. F.A.O.Stat (Site Internet: http://www.FAO-org. Com).
- 21- F.A.O. (2015). Production agricole, cultures primaires, Banque de données statistiques. F.A.O.Stat (Site Internet: http://www.FAO- org. Com).

- 22- FOOD-ALLERGENS, 2012. Site Internet du symposium sur les allergènes alimentaires. Espace « Allergen Data Collections », fiche: Apple (*Malus domestica*), chapitre 5: Composition of Apple. http://www.food-allergens.de/.
- 23- GARDAN L. et LUISETTI L. (1991). Méthodes d'isolement et d'identification des bactéries phytopathogènes. Station de pathologie Végétale et Phytobactériologie. INRA. BEAUCOUZE- 49000 ANGERS. 36p.
- 24-GAUTIER M. (2001). La culture fruitière. Les productions fruitières. Vol 2. Ed. Tec et Doc, Paris, 665 p.
- 25-GDSA. (2010). Fiche techniques des variétés de Rosacées à pépins. Ex GDSP.
- 26-GIRAUD M., BAUDRY O., ORTS R. et GENDRIER J.P. (1996). Protection intégrée Pommier-Poirier, Edition CTIFL.227 p.
- 27-GIRAUD H., CORNILLE A. et GIRAUD T. (2014). Les pérégrinations du pommier domestique. N° 439 Mai 2014. 36-41.
- 28- GUIHENEUF Y. (1998). Production fruitière. Edition synthèse Agricole. Bordeaux. Rance. 276 p.
- 29- HADBI M. (2015). Inventaire qualitatif et quantitatif et le suivi de la dynamique du carpocapse (*Cydia pomonella* L.) dans une parcelle du pommier écologique *Red delicious* dans la région de Sidi Naamane. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Agronomiques (T-O). 72p.
- 30-HADJOU B.(2013). Le feu bactérien (*Erwinia amylovora*). Rapport de stage, licence 3 en protection des végétaux .Université M'HAMED BOUGARRA, Boumerdes ,15p.
- 31- HÖHN H., DELABAYS N., DUBUIS P.H., GOLLES M., HOLLIGER E., KEHRLI P., LINDER Ch., NAEFA., SCHAUB L., VIRET O., WIDMER A., WIRTH J (2011). Guide phytosanitaire pour l'arboriculture fruitière. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. Département fédéral de recherche DFE, Station de recherche Agroscope Changins- Wadenswil ACW. Vol 42 (1): 18 31.
- 32- INPV (2011). Cours de bactériologie pour l'habilitation des stations régionales au diagnostic. Service de bactériologie. Mars 2011.10 p.

- 33- INPV(2011).Une nouvelle maladie bacterienne menace les Rosacées à pépins. Infos phyto, bulletin d'information phytosanitaire N° 23, Juin 2011.ISSN 1112-2536
- 34- INPV (2011). Résultats d'analyses bactériologiques sur *Erwinia amylovora* (2011).
- 35- INPV(2012). Le feu bacterien *Erwinia amylovora* (Burril ) Winslow et *al.* Fiche téchniques,2012.
- 36-ITAF(2010) .Fiche tecnique ,conduite de la culture du poirier et du pommier,2010.
- 37-LACROIX M. 2009. Tests biochimiques classiques pour l'dentification des Pectobacterium (Erwinia pectinolytiques) et des Pseudomonas fluorescents . Laboratoir de diagnostic en phytoprotection p 3, 4, 5.
- 38- MADRP. (2011). Décision N°403 du 14 juin 2011 fixant les mesures de surveillance et de lutte obligatoire contre la maladie du feu bactérien. Direction de la Protection des Végétaux et du Control Technique (DPVCT) Ministère de l'Agriculture et de la Pèche.
- 39- MADRP. (2015). Statistiques agricoles, Direction de la régulation et du Développement de la Production Agricole (DRDPA) .Ministère de l'Agriculture et de la Pèche.
- 40- MARTIN J. (2008). Une approche intégrée et éco systémique de la gestion normative des risques sur l'environnement et la santé, liés à l'utilisation de pesticides en agriculture: le cas de la pomiculture au Québec. Mémoire de Doctorat. Université du Québec, Montréal. 107 p.
- 41- MAURIN G., PATERNELLE M-C. et CLUSEAU S. (1999). Guide pratique de défense des cultures, reconnaissance des ennemis, notions de protection des cultures, 5<sup>eme</sup> édition. ACTA, Paris.375 p.
- 42-MILAGOS LOPEZ M. (2013). Expérience espagnole dans la gestion du feu bactérien en Suisse (journée de formation). Septembre. 2013.
- 43-MOMOL, M.T. et ALDWNCKLE, H. S. (2000). Genetic diversity and host range of *Erwinia amylovora* (pp.55-72). Wallingford, UK: CABI Publishing.
- 44- MORGAN J. (2002). The New Book of Apples: The Definitive Guide to Over 2000 Varieties. London: Ebury Press.

- 45- O.N.M. T.O (2016). Relevés météorologiques de l'année 2016. Office National de Météorologie,
- 46 OUKABLI A. (2004). Le pommier, une culture de terroir en zones d'altitude. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. Meknès, Rabat, (115) .4p.
- 47- PRATT C. (1990). Apple trees: morphology and anatomy. Horticultural Reviews 12, 265-305.
- 48- RAFED F. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de l'origan vulgaire *Origanum vulgare* L. ssp Glandulosum (Lamiaceae) et étude de leur effet biocide vis- à-vis du phytopathogène *Erwinia amylovora*. Mémoire de Master academique. Unversité M'HAMED BOUGARA Boumerdes, 73 p.
- 49- RAMADE F. (1994). Eléments d'écologie. Ecologie fondamentale. 2eme Edition Ediscience international. Paris. P 579.
- 50-RAMADE F. (1984). Eléments d'écologie. Ecologie fondamentale. Ed. Mc Graw-Hill, Paris, 397p.
- 51- REBOUR H. (1968).Fruits méditerranéens autres que les agrumes.6<sup>eme</sup> édition. Paris, 330 p.
- 52- RHENNAI H. et RHENNAI K.(2016). Identification et étude de l'activité anti bactérienne des extraits végétaux d'une gamme de plantes contre l'agent phytopathogène *Erwinia amylovora* 72 p
- 53- SAOUD H.et MNIAI D.(2013) .Gestion de la crise feu bactérien au Maroc. Drection regionale de l'ONSSA ,région de Meknès. SIAM : journée sécurité sanitaire des produits alimentaires. Meknès , 30 /04/2013.
- 54- SCRIBE C. (1999). Le poirier, illustré par Thierry Desailly (Actes Sud), 1<sup>ere</sup> édition France. 91 p.
- 55- SILVESTRIL G., EGGER B., HUNZIKER K., FELDER B.et SZALATNAY D. (2011). Feu bactérien, sensibilité des fruits à pépin. Revue suisse. Station de recherche Agroscope Changins Wadenswil ACW.Vol 41: 17-18.

- 56- SIMON H., RICHARD F., BELLANGER M., DEMINAL D., GOUBERT C. et JEUFFRAULT E.(1996).La protection des cultures.Agriculture d'aulourd'hui sciences, techniques, applications. Edition Lavoisier .Paris. 351 P.
- 57- SOLTANI N. SEMIR H. et DJEBBAR M.R. (1986). Contribution à l'étude de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera : Tortricidae), essai comparatif des pièges et cycle évolutif à Annaba. Annales de l'I.N.A. 10 (1) : 206 p.
- 58- VAN DER ZWET T., OROLAZA-HALBRENDT N. and ZELLER W. (2012). Fire Blight, History, Biology, and Management. Journal of Phytopathology 460 p, pp. 83-91.
- 59- VAYSSE P., SCANDELLA D., MASSERON A., MATHIEU V., TRILOT M., MASSON M.(2000). Reconnaitre les variétés de pommes et poires .CTIFL. Edition, Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, décembre 2000 ,118 p.
- 60- ZIADI S. (2001). Les génies PR -10 du pommier (*Malus domestica*) .Identification c aractérisation et analyse de l'expression spatio-temporelle en réponse à une induction par l'acibenzolar S-methyl (ASM), un analogue fonctionnel de l'acide salicyclique. Thèse de Doctorat. Université Rennes1. 182p.



**Annexe I :** Evolution de la superficie et la production de pommes et poires en Algérie durant la période 2006-2015 (DRDPA, MADR ,2015)

Espèces		Pommier		Poirier			
	Superficies	Production	Rendement	Superficies	Production	Rendement	
Années	(ha)	(Qx)	(Qx/ha)	(ha)	(Qx)	(Qx/ha)	
2005/2006	28 658	2 832 420	98,8	20 102	1 894 298	94,2	
2006/2007	31 904	1 900 095	59,6	22 128	1 393 533	63,0	
2007/2008	33 206	2 609 672	78,6	22 718	1 769 570	77,9	
2008/2009	36 616	2 674 691	73,0	23 417	1 599 970	68,3	
2009/2010	39 852	3 786 367	95,0	24 649	2 342 736	95,0	
2010/2011	40 978	4 041 050	98,6	25 743	2 331 465	90,6	
2011/2012	40 858	3 975 290	97,3	25 057	2 111 906	84,3	
2012/2013	41 030	4 559 372	111,1	25 272	2 407 088	95,2	
2013/2014	40 418	4 628 154	114,5	25 264	2 281 142	90,3	
2014/2015	41 011	4 514 717	110,1	25 059	2 553 438	101,9	

Les données de la campagne 2014/2015 sont provisoires.

**Annexe II :** Evolution de la superficie et de la production de pommes durant la période 2006-2015 dans la wilaya de Tizi-Ouzou (DSA, 2015)

Campagnes	Superficie (ha)	Production (qx)	Rendement (qx /ha)
2005/2006	717	74532	103,9
2006/2007	763	37022	48,5
2007/2008	781,7	93551	119,7
2008/2009	788	87949,5	111,6
2009/2010	817	148535	181,8
2010/2011	827,76	78282	94,6
2011/2012	822	146007	177,6
2012/2013	810,99	136136	167,9
2013/2014	720	124040	172,3
2014/2015	714,17	112 108	157,0

Annexe III : Evolution de la superficie et de la production de poires durant la période 2006-2015 dans la wilaya de Tizi-Ouzou (DSA, 2015)

Campagnes	Superficie (ha)	Production (qx)	Rendement (qx /ha)
2005/2006	728	55 346	76
2006/2007	757	30 678	40,5
2007/2008	759,11	72 837	96
2008/2009	752,27	51 720,75	68,75
2009/2010	767,62	125 787	163,86
2010/2011	770,77	55 986	72,64
2011/2012	768	114 337	148,87
2012/2013	770,37	110 214	143,5
2013/2014	701,46	58 792	83,81
2014/2015	698,98	115 607	165,4

**Annexe IV :** Evolution des superficies et production en pomme et poires au niveau des communes de la wilaya de Tizi-Ouzou (DSA ,2016)

	Pommier		Po	irier
Communes	Superficie (ha)	Production (qx)	Superficie (ha)	Production (qx)
Tizi Ouzou	27,5	9350	75,5	21140
Ain El Hammam	3,25	85	9,5	305
Akbil	1,7	56	2,5	103
Freha	1	15	1	50
Souama	0	0	0,25	18
Mechtras	1	90	6	382
Irdjen	9,5	570	12	1200
Timizart	0	0	3	240
Makouda	1,5	30	4,5	225
Draa El Mizan	5	450	2,05	200
Tizi Ghnif	12	1440	4,5	720
Bounouh	0	0	9	450
Ait Chffaa	1	58	1	56
Frikat	34	2210	30	3060
Benni Aissi	14,25	855	19,75	1580
Benni zmznzer	7	245	10	750
Iferhounen	2,75	94	3	102
Azazga	4	210	11,5	1130
Illoula Oumalou	9	315	14,5	420
Yakouren	27,18	500	34,8	2040
Larbaa N. Irathen	21	2340	24	3150
Tizi Rached	17,75	1243	33,75	4050
Zekri	15,45	500	9,35	678
Ouaguenoun	1	120	2,5	300
Ain Zaouia	3	270	3	240
Mkira	6,5	715	11,96	1800
Ait yahia	4,5	180	3,5	155
Ait Mahmoud	8,5	383	10,25	513
Maatkas	7	420	20	600
Ait Boumahdi	4	20	1	14
Abi youcef	3,25	125	3	108
Beni Douala	31,5	1890	34,75	2780
Illilten	3	178	4	178
Bouzeguene	3	105	7	245
Ait Agouacha	14	1820	22	3000
Ouadhias	2,5	100	5,75	202
Azeffoun	2	64	3	96

Tigzirt	15	1125	5	300
Ait Aissa mimoun	0	0	2	240
Boghni	2	180	8	425
Ifigha	2	70	6	175
Ait oumalou	18	1625	11,75	1763
Tirmitine	14	280	10	700
Akerrou	34,83	700	17,42	828
Yatafen	1,5	75	1,19	60
Beni ziki	2,25	72	3	96
Draa Ben Khedda	79	23700	45	15400
Ouacif	0	0	0	0
Idjeur	2	66	2	66
Mekla	5	160	6	140
Tizi Ntlatha	12	350	15	350
Benni yenni	0	0	0,5	18
Aghrib	2	100	4,25	193
Iflissen	30	1050	15	300
Boudjima	1	80	0	0
Ait Yahia moussa	6,5	540	6,4	600
Souk El Tenine	7	245	4	300
Ait Khelili	1,5	40	4	105
Sidi Naamane	106,98	32094	77	19600
Iboudrarene	0	0	0,89	45
Agouni gueghrane	2	80	1,25	50
Mizrana	6	450	2,5	150
Imsouhal	3,15	142	5,4	243
Tadmait	92	21160	59	19950
Ait Bouadou	12,5	438	9	360
Assi Youcef	1	90	10	630
Ait Toudert	6	19	3	120

Annexe V: Principales variétés du pommier et groupe du pommier (GAUTIER, 2001).

Туре	Varietes	Origine	Couleur	Caracteristiques et productivité
Variétés	Hanna	Palestine	Rouge	Fruit de forme Hétérogène, allongée moyenne Productivité
	Reine des reinettes	France ou Holande	bicolore, rouge orangé sur fond jaune doré	Fruit de forme ronde aplatie, texture granuleux, juteux, sucré, acidulé, très aromatique .Bonne productivité
précoce	Akane	Japon	rouge	Fruit de orme arrondie aplatie, texture fine, croquante, sucré, acidulé, très aromatique. Moyenne productivité.
	Delbarestivale	France	Bicolore	Forme tronconique élevée régulière, texture croquante, juteuse, légèrement sucré acidulé et aromatique.
	Gala	Nouvelle Zelande	rouge orangé striée	Fruit de forme tronconique très régulière, croquant, très juteuse, très bonne productivité.
Variatas	Elstar	Pays bas	rouge orangé à rouge vif foncé	Forme aplatie, demi -élevée, régulière, très sucrée, très acidulé, très aromatique texture croquante juteuse. Bonne productivité.
Varietes de saison	Golden delicious	USA	jaune vert à jaune doré avec des faces rosées	Forme arrondie à tronconique, sucrée légèrement, texture croquante, juteuse et acidulé. Forte à très forte productivité.
	Red delicious	USA	rouge moyen à très foncé	Fruit de forme tronconique, demi – élevée, saveur neutre, texture croquante juteuse. Moyenne à forte productivité.

	Reinette de	France	jaune vert	Fruit gros souvent asymétrique et aplatis,
	Canada			saveur sucrée, acidulé, texture granuleuses, parfois farineuses .bonne productivité.
	Fuji	Japon	Bicolore	Fruit arrondie à cylindrique demi élevée,
		oup on	2.00.0.0	très sucrée, texture croquante, très juteuse .Forte productivité
	Cox's orange	Angleterre	rouge clair à	Fruit sphérique régulière, légèrement
	Pippin		très foncé	aplatie, sucrée, acidulée, très aromatique,
Variétés				texture ferme fine, très juteuse .Moyenne productivité
demis	Idared	USA	Bicolore	Fruit sphérique légèrement aplatie
tardives				saveur neutre, texture, fine et juteuse, forte productivité.
	Garny Smith	Australie	vert vif,	Fruit arrondie à tronconique élevée,
	1		grosses	acidulée, texture ferme très croquante,
			lenticelles	très juteuse. Forte productivité.
			blanches	
	Braeburn	Nouvelle	rouge brique	Fruit de forme élevée irrégulière, sucrée
		Zelande	à rouge foncé	acidulée, équilibrée, aromatique, texture croquante très juteuse. Très forte Productivité.

**Annexe VI**: Principales variétés du poirier cultivées à travers le monde (GUIHENEUF Y, 1998 ; VAYSSE et *al.*, 2000 et BERGER, 2008)

Type	Varietes	Origine	Couleur	Caracteristiques et productivité
	Docteur	France	Vert clair	Chair rafraîchissante, peu parfumée.
	Jules Guyot		devenant jaune à	Floraison moyenne.
			maturité	Moyenne productivité.
Poires	Williams	Angle-	Vert, jaune à	Fruit moyen à gros, chair fine et fondante,
d'été		terre	maturité avec	sucrée, juteuse et musquée.
			roussissures	Floraison moyenne. Forte productivité.
			marquées	
	Santa maria	Italie	Vert jaune, vire	Fruit juteux et croquant, de calibre moyen,
			vers le rouge	Forte productivité.
	Beurré	France	Vert jaune	Fruit moyen à gros, court, épiderme épais,
	Hardy		partiellement	chair fine, tendre, juteuse, parfumée et
			jaune bronzée	légèrement acidulée.
			cuivrée	Floraison moyenne
				Forte productivité
Poires	Conférence	Grande	Vert jaune avec	Fruit très allongé épiderme épais, chair assez
d'auto-		Bretagne	roussissures	fine, juteuse et parfumée, légèrement sucrée
mne				acidulée .Peu sensible à la tavelure.
				Floraison demi tardive.
				Très forte productivité.
	Abbé Fetel	France	Bronzée	Gros fruit, forme très allongée et chair
			partiellement,	blanche, fondante et juteuse, saveur douce et
	Q Property		face parfois	sucrée.
			cuivrée ou rosée	Floraison précoce.
				Moyenne productivité

	Doyenné du	France	Vert jaune doré,	Gros fruit de forme arrondie et volumineuse
	Comice		parfois face	à épiderme lisse et fin, Chair d'excellente
			rosées	qualité gustative, très fine, fondante, juteuse
				et sucrée.
				Floraison tardive.
				Moyenne productivité.
	Packham's	Australie	Vert, jaune à	Fruit assez gros ou gros, ventru, irrégulier,
	Triumph		maturité avec	bosselé en son pourtour, mamelonné à la
			taches de	base. épiderme vert foncé passant au jaune
	Be		roussissures	palle.
				Floraison demis précoce.
				Forte productivité.
	Passe	France	Jaune vert	Fruit arrondie, aplatie, texture granuleuse
	Crassane		largement couvert	très juteuse, sucrée, très aromatique.Très
Poires			de roussissures	sensible au feu bactérien
d'hivers				Floraison demis précoce.
				Forte productivité

#### Annexe VII: Matériels et réactifs utilisés

Matériels	Réactifs
Autoclave.	Huile de vaseline.
Etuve réglable.	Huile d'émersion.
Microscope à fluorescence	Solution KOH 3%
Centrifugeuse	Alcool 90°.
Balance de précision	Ethanol 70°
Micropipettes de 1000,50, 20 et 10μl	Eau oxygénée
Lames pour IF	N, N Diméthyle paraphénylène
Agitateur à tube.	diamine dihydrochloride
Agitateur magnétique.	
Plaque chauffante	
Anse de platine.	
Bec bunsen.	
Pinces.	
Scalpel	
Portoir.	
Flacons (pour la préparation des	
milieux).	
Boites de Pétri stériles en verre.	
Boites de Pétri en plastique	
Tubes à essai à visse.	
Tubes pour centrifugeuse.	
Eppindorf	
Barreau magnétique.	
Coton	
Papier Wattman.	
Plant de tabac	

Le matériel et la verrerie (tubes, pipettes) sont décontaminés dans un four à une chaleur de 170  $^{\circ}\mathrm{C}$  et pendant 30 mn à 60

# Annexe VIII : Composition des milieux cultures

1-Milieux L.P.G.A. (Levure-Peptone-Glucose-Agar)
- Extrait de levure       05 g         - Peptone       05 g         - Gélose       15 g         - Glucose       10 g         - Eau distillée       01 l
1-Milieu de Hugh et Leifson (H & L)
$ \begin{array}{lll} \text{- Bacto peptone.} & 02g \\ \text{- NaCL.} & 05g \\ \text{- KH}_2\text{PO}_4 & 0,3 \text{ g} \\ \text{- Glucose.} & 10 \text{ g} \\ \text{- Bleu de Bromothymol (B.B.M)} & 0,03 \text{ g} \\ \text{- Eau distillée.} & 011 \end{array} $
3-Milieu Levane (N.A.S):
- Agar nutritive
- Saccarose
6-P.B.S: Phosphate Buffered Saline (Tampon phosphate salin)
$\begin{array}{lll} \text{- Na CL} & 08g \\ \text{- KH}_2\text{PO}_4 & 0,2g \\ \text{- Na}_2\text{HPO}_4 & 1,15 g \\ \text{- KCL} & 0,2 g \\ \text{- Na}_2\text{HPO}_4, 12\text{H}_2\text{O} & 03 g \\ \text{- Eau distillée} & 011 \end{array}$

<sup>\*</sup>Les milieux sont stérilisés à l'autoclave (120 $^{\circ}$  pendant 20mn)

Annexe IX: Préparation des milieux de cultures (Photos originales, 2016).



La pesée des produits





Agitation du mélange des produits dans 11itre d'eau distillée





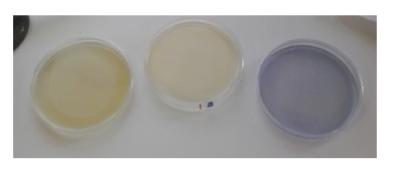
Mise des mélanges dans l'autoclave à 120 °C

Annexe X : Les milieux de cultures (Photos originales, 2016).





Coulement des milieux nutritifs dans des boites de pétri sous la haute



LPGA

NAS

CCT

Les milieux de cultures prêts à êtres utilisés pour le diagnostic

Annexe XI: Les étapes de préparation des deux échantillons asymptomatique et symptomatiques (Photos originales, 2016).



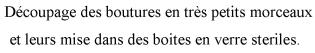
Découpage des tiges en boutures et leurs mise dans des boites de pétri stériles.







Désinfection superficielle des boutures de pommier et poirier à l'aide du coton imbibé d'alcool (éthanol à 70 %).

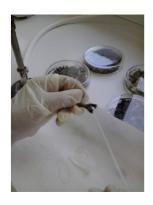




Désinfection des petits morceaux par passage rapide sur la flamme.

Macération pendant 30 mn à une température ambiante dans des boites de pétri en verre stériles.

Annexe XII : Les étapes de prélèvement de l'exsudat de l'échantillon symptomatique (Photos originales, 2016)



Prélèvement de l'exsudat



mise de la goutte d'exsudat dans le PBS



Agitation du mélange (exsudat+ PBS) au vortex

**Annexe XIII**: Les étapes de l'isolement sectoriel sur les milieux de cultures (LPGA, NAS et CCT) (Photos originales, 2016).



Prélèvement de gouttes du liquide de macération a l'aide d'une anse stérile







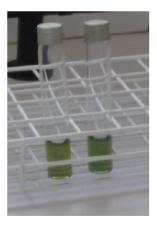
Etalement sectoriel du liquide de macération sur les milieux de culture (originale, 2016)

## Annexe XIV: Test Hugh et Leifson (Photos originales, 2016)



Recouvrir l'un des 2 tubes

avec l'huile de vaseline



Incubation

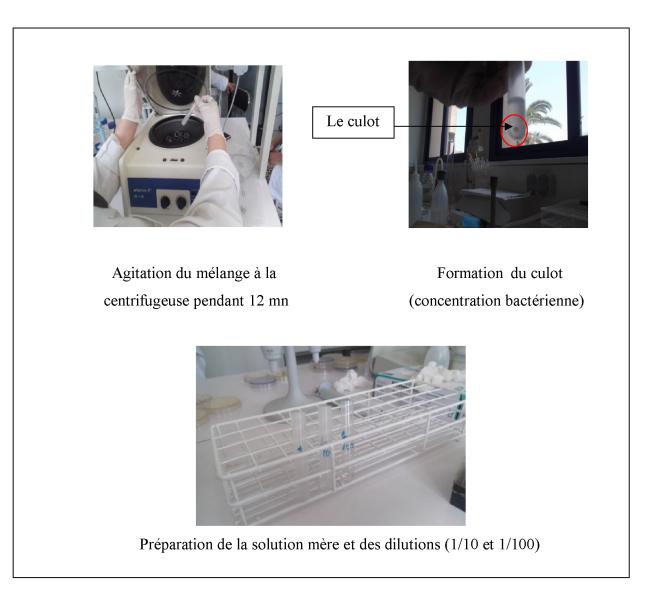
Annexe XV: Test d'hypersensibilité sur plant de tabac (Photos originales, 2016).





Injection de la suspension bactérienne dans la nervure centrale de la feuille de tabac

Annexe XVI: Formation du culot et préparation des dilutions (Photos originales, 2016).



## Annexe XVII: Test sérologique (Photos originales, 2016).



Dépôt des suspensions



Incubation à 50 °C pendant 30 mn



Séchage à l'air libre



Application de l'antisérum



Lavage au PBS



Application du conjugué



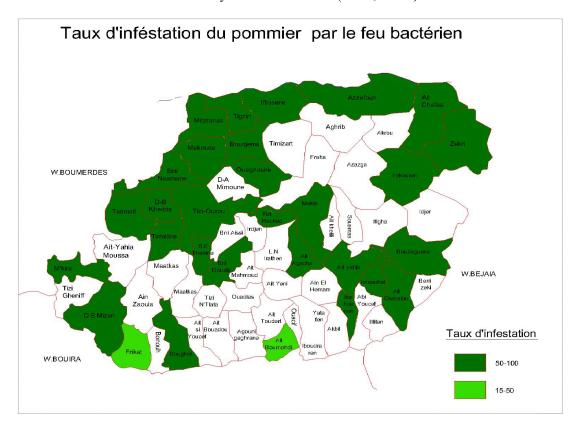
Observation au microscope immunofluorescent (IF)

**Annexe XX :** Superficies infestées par le feu bactérien par daïras dans la wilaya de Tizi-Ouzou (DSA, 2015)

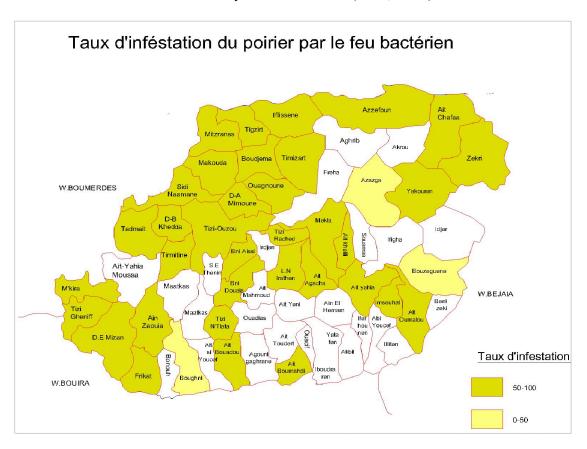
	Pom	ımier	Poir	Poirier		
Daïras	Superficie prospectée	Superficie contaminée	Superficie prospectée	Superficie contaminée.		
AEH	1,75	1,5	1,15	0,9		
Azazga	2,25+30 pts	2+30 pts	5+15 pts	1,25		
Azefoun	6,25+20 pts	6+20 pts	1,25+105 pts	1,25+105 pts		
Boghni	20 pts	20 pts	1,376+ 261 pts	0,75+196 pts		
Bouzeguen	0,25	0,25	1,8+ 155 pts	0,55+ 30 pts		
DBK	153,1+35 pts	149,6+35pts	155,7+35 pts	155,7+35 pts		
DEM	6,25	2,25	6,1	5,6		
Freha	1,2	0	2	2		
Irdjen	4+60 pts	1,25+60 pts	5,5 +400 pts	5,5+ 400 pts		
Maatkas	1,75	1,75	1,2	1,2		
Mekla	8	6	7	3,5		
Ouacif	3,3	0,2	1	1		
Ben yeni	0	0	0	0		
Ouadhias	0,6	0	1,5	1,5		
Ouaguenoun	1	1	4,15	4,15		
Tigzirt	18+50 pts	17+50 pts	7,7 + 100 pts	6,35 + 70 pts		
Tizi ghenif	3,5	1,5	23,7	21		
Tizi ouzou	2	2	28,4	28,4		
Total	213,2 + 310 pts	192,7 + 240pts	2540,52 + 1326 pts	243,85+ 1076 pts		

Pts : Plants

**Annexe VXI:** Taux d'infestations du pommier par le feu bactérien au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou (DSA, 2015)



**Annexe XXII:** Taux d'infestations du poirier par le feu bactérien au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou (DSA, 2015)



#### Résumé

Le feu bactérien, causé par *Erwiniaamylovora*, est probablement la maladie bactérienne la plus redoutable et la plus dévastatrice pour les vergers de pommiers et de poiriers de part le monde et peut provoquer des dégâts économiques importants dans les cultures fruitières et les pépinières.

Des symptômes typiques à ceux du feu bactérien ont été observés au niveau de plusieurs vergers de la wilaya de Tizi-Ouzou, ce qui nous a poussé aréalisé le présent travail qui vise à isoler et à identifier cette bactérie à partir d'échantillons provenant de deux vergers différents de rosacées à pépins, pommier variété Hanna asymptomatique et poirier variété Santa maria symptomatique situés dans la même zone agricole (Draa Ben Khedda).

L'étude réalisée s'est basée sur certains tests classiques à savoir : les tests Biochimiques et l'hypersensibilité sur Tabac.

Les résultats obtenus ont révélés la présence de la bactérie du genre *Erwinia* dans les deux vergers d'étude. Le test sérologique a confirmé que la bactérie recherchée est bien *Erwinia amylovora*.

Les symptômes observés au niveau des deux vergers sont dus à l'infestation par cette maladie dangereuse notamment « le feu bactérien ».