

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB –BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention
du diplôme de Master II en sciences de la nature et de la vie
Spécialité: Biologie des interactions plantes-microorganismes

Thème

**Détection d'*Erwinia amylovora* responsable du feu
bactérien chez diverses *Rosacée*, caractérisation
des souches isolées dans la région de Mitidja .**

Présenté par :

ELOUCHEFOUNE Imane

Devant le jury composé de :

Mme. KRIMI. Z.	Professeur	USD-Blida	Présidente
Melle. TAFIFET. L.	Doctorante	USD-Blida	Promotrice
Mme. Mohamed Mahmoud. F.	MAA	USD-Blida	Examinatrice
Mme. BOUDJEMIA.H.	MAA	USD-Blida	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2014 / 2015

REMERCIEMENT

J'exprime d'abord mes profonds remerciements à mon Dieu qui m'a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à ma promotrice **Melle .Tafiffet.I** pour son encadrement scientifique et sa disponibilité sa direction judicieuse a permis de focaliser et de guider mon efforts dans un itinéraire précis afin d'aboutir aux objectifs recherchés.*

*J'exprime mes profonds remerciements à **Mme.Krimi.Z** pour nous avoir acceptés d'assurer la présidence du jury.*

*Je remercie vivement **Mme.Mehamed Mahmoud .F** et **Mme BOUJMIA. H** qui me font l'honneur d'accepter juger mon travail.*

*Un grand merci à l'ingenieur de laboratoire **Mme. AMMAA .S.***

*Mais remercies vont également à mais collègues **Hassne** et **Iman.***

*Et en fin je n'ai pas clôturé cette page sans de dire un grand merci à mon meilleur ami et le frère **Mahfoud.***

IMANE

DEDICACE

Je dédie ce travail :

*A mes chers parents qui m'ont été éclairé le chemin de la vie
par leur soutien et leur encouragements.*

*A mes chers frères : Moufida, Amal, Amina et Issam
A toute ma famille et surtout mes grands parents et mes
oncles, Tante et mes cousins.*

*A tous mes chers amies : Mahfoud, Abire, yasmin, Hakima,
Aicha, Hadjer, Kawetar et tous mais amies a l'option de
biologie des interactions plantes microorganismes.*

*A tous mes amis(es) de laboratoire de bactériologie :
Hassan, Imane, Fatima et meriem.*

Détection d'*Erwinia amylovora* responsable du feu bactérien chez diverses Rosacées, caractérisation des souches isolées.

Résumé

Le feu bactérien est une maladie de quarantaine, très redoutable provoquée par la bactérie *Erwinia amylovora*. Cette maladie détruit à grande échelle les arbres fruitiers à pépins dans des nombreux pays du monde. Le feu bactérien a été déclaré en 2011 en Algérie, et provoque une perte du rendement sur les cultures de poirier (*Pyrus communis*), de pommier (*Malus domestica*) et cognassier (*Cydonia*).

Cette étude a été effectuée afin de détecter et d'identifier l'agent causal de la maladie du feu bactérien dans la région de la Mitidja dans plusieurs communes (El hamedania, Ouzera, Hattatba, Sidi Rached et Mouzaia) au niveau des vergers de poirier, pommier et cognassier.

A partir du matériel végétal symptomatique (des chancres, bouquets floraux, jeunes rameaux, exsudats...) des 09 échantillons provenant à cinq régions (El hamdania, Ouzra, Hattatba, Sidi Rached et Mouzaia) des parcelles prospectées, nous avons isolé et caractérisé l'agent responsable de la bactériose au laboratoire par une série de tests biochimiques et un test biologique.

La réalisation des tests d'identification a révélé la présence de 24 souches étant ceux d'*Erwinia amylovora-like*.

Les résultats obtenus indiquent la présence du feu bactérien dans la région d'étude Mitidja centre en Algérie jusqu'à en 2015.

Mots clés : *Erwinia amylovora*, feu bactérien, poirier, pommier, cognassier, Mitidja.

Detection of *Erwinia amylovora* responsible for fire blight various *Rosaceae*, characterization of isolates.

Abstract

Fire blight is a quarantine disease, caused by the bacterium *Erwinia amylovora*. This disease present in many countries in the world. Fire blight was reported in 2011 in Algeria, causing a loss of return on crops pear (*Pyrus communis*), apple (*Malus domestica*) and quince (*cyndia*).

This study was performed to detect and identify the causative agent of fire blight disease in the region of Mitidja in several municipalities (El hamedania, Ouzera, Hattatba, Sidi Rached et Mouzaia) the level of pear, apple and quince orchards.

From the symptomatic plant material (cankers, floral bouquets, young stems, exudates ...) of 09 samples from the surveyed plots, we have isolated and characterized the causative agent of bacterial wilt in the laboratory by a series of biochemical tests and a biological test.

According identification tests revealed the presence of 24 strains we have obtained 30 isolates those of *Erwinia amylovora-like*.

The results indicate the presence of fire blight in Algeria up in 2015 and reached the most variety is called Santa Maria pear.

Keywords: *Erwinia amylovora*, Fire blight, pear, apple, quince, Mitidja.

ملخص

اللفحة النارية هي مرض خطير تسببه البكتيريا *Erwinia amylovora* الذي يصيب بعض أصناف الفصيلة الوردية كالأجاص والتفاح والسفرجل عرف هذا المرض انتشارا كبيرا في العديد من دول العالم الذي أدى الى تدمير الكثير من بساتين الورديات وقد ظهرت هذه الآفة سنة 2011 في الجزائر تسببت في فقدان محاصيل الاجاص, التفاح و الاسفرجل.

الهدف من هذه الدراسة هو إثبات وجود اللفحة النارية في حقول التفاح, الاجاص و السفرجل لمنطقة متيجة في عدة ولايات وذلك بالاعتماد على عضيات مصابة(الزهور, الاغصان, الصمغ), الماخودة من 09 عينات من بساتين الاحاص, التفاح والسفرجل وإخضاعها لسلسلة من الاختبارات البيوكيميائية والاختبار البيولوجي في المختبر.

بالاختبار البيوكيميائي و البيولوجي تمكنا من تنقية 24 *Erwinia amylovora* مستأصلة من ولايتي تبازة و البلدية من منطقة متيجة, وللتأكد من وجود البكتيريا *Erwinia amylovora* المسؤولة عن مرض اللفحة النارية علينا استعمال وسائل متطورة و اكثر دقة .

كلمة المفتاح : *Erwinia amylovora*, اللفحة النارية, الاجاص, السفرجل, متيجة .

Table des matières

Résumé.....	1
Introduction.....	2
Chapitre I : Données Bibliographique	
1- Agent causal " Erwinia amylovora".....	4
1.1- Systématique.....	4
1.2- Les caractéristiques cellulaires.....	5
1.3- Composants cellulaires de la bactérie.....	5
1.3.1-Flagelle.....	5
1.3.2-La Capsule.....	5
1.3.3-Lipopolysaccharides (LPS).....	6
1.4- plasmide.....	6
1.5- Les facteurs du pouvoir pathogène.....	7
1.5.1- Le système d'acquisition du fer.....	8
1.5.2- Les exopolysaccharides (EPS).....	8
1.5.3- Le système de sécrétion de type III.....	9
1.6- Plantes hôtes.....	10
2- Généralités sur la maladie du feu bactérien.....	11
2.1- Distribution géographique dans le monde.....	11
2.2- Symptomatologie.....	12
2.2.1- Brûlures des fleurs.....	13
2.2.2- Brûlures des pousses.....	13
2.2.3- Symptômes sur fruits.....	13
2.2.4- Symptômes tronc.....	14
2.3- Epidémiologie de la maladie.....	16
2.3.1- La source d'inoculum.....	16
2.3.2- La sensibilité variétale.....	17
2.3.3- Les facteurs climatiques.....	17
2.3.4- Dissémination de la bactérie.....	18
2.3.5- Cycle de la maladie du feu bactérien.....	18

2.4- Impact économique.....	19
2.5- Lutte contre le feu bactérien.....	20
2.5.1- La lutte chimique.....	20
2.5.2- Lutte biologique.....	21
2.5.3- lutte génétique.....	22
2.5.4 -.Lutte Culturelle.....	22

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1- Présentation de la Mitidja.....	24
2- Présentation des régions d'étude.....	25
3- Etude climatique de la Mitidja.....	28
3.1-Diagramme ombrothèrmique Gaussen.....	28
3.2-Climagramme d'Emberger.....	30
4- Echantillonnage.....	31
5- Isolement.....	32
5.1-A partir du fragment malade.....	33
5.2- A partir des exsudats.....	33
6- Purification.....	33
7- Caractéristiques et identification de l'agent pathogène.....	34
7.1- Les tests biochimiques.....	34
7.1.1- Test de Gram.....	34
7.1.2- Test de fluorescence sur King B.....	35
7.1.3- Test d'activité levane sucrose.....	35
7.1.4- Test catalase.....	35
7.1.5- Test d'activité cytochrome oxydase.....	35
7.1.6- Métabolisme du glucose (oxydation /fermentation).....	36
7.1.7- Test de transformation du sucrose.....	36
7.1.8- Test de production d'indole.....	36
7.1.9- Test d'utilisation du citrate.....	37
7.1.10- Test de croissance à 39°C.....	37
7.1.11- Test de liquéfaction de la gélatine.....	37
7.2- Test biologique.....	37
7.2.1- Test hypersensibilité sur tabac.....	37

Chapitre III : Résultats et Discussion

1- Caractéristiques des symptômes obtenus sur terrain.....	39
2- Résultats du diagnostic au laboratoire.....	40
2.1- Isolement et obtention des isolats bactériens.....	40
2.2- Caractères morphologiques des isolats obtenus.....	41
2.3- Tests Biochimiques.....	42
2.4- Hypersensibilité sur tabac.....	48
Discussion.....	49
Conclusion.....	54
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des figures

Figure 1 : Cellule virulente d' <i>Erwinia amylovora</i> vu au microscope	5
Figure 02 : Schéma de la structure de la paroi de la cellule.....	6
Figure 03 : Structure du plasmide d' <i>Erwinia amylovora</i> pEA29.....	7
Figure04 : Structure des gènes <i>hrp</i> d' <i>Erwinia amylovora</i>	10
Figure 05 : Symptômes du feu bactérien sur les fleurs, pousses.....	15
Figure 06 : Symptômes du feu bactérien sur le tronc.....	16
Figure 07 : Cycle biologique de la maladie du feu bactérie.....	19
Figure 08 : Limite géographique de la Mitidja.....	24
Figure 09 :Image satellite du verger de cognassier à El hamdania de.....	25
Figure 10 : Image satellite du verger de pommier à Ouzera.....	26
Figure 11 : Image satellite du verger de poirier à Hattatba 1.....	26
Figure 12 : Image satellite du verger de poirier à Hattatba 2.....	27
Figure 13 : Image satellite du verger de poirier à Sidi Rached.....	27
Figure 14 : Image satellite du verger de poirier à Mouzaia.....	28
Figure 15 : Diagramme ombrothèrmique de Gausson de la Mitidja.....	29
Figure 16 : Place de la Mitidja dans le climagramme d'Emberger.....	30
Figure 17 : Chancre déterminés sur les troncs et rameaux du poirier.....	39
Figure 18 : Brulûre et dessèchement les bouquets floraux,.....	40
Figure 19 : La structure des colonies isolées sur les milieux.....	42
Figure 20 : Résultat du test coloration de Gram.....	45
Figure 21 : Résultat de fluorescence sur King B.....	45
Figure 22 : Croissance sur le milieu de levane	45
Figure 23 : Résultat d'activité cytochrome oxydase.....	45
Figure 24 : Résultat Du test catalase.....	46
Figure 25 : Résultat du test de production d'indole.....	46
Figure 26 : Résultat d'oxydation/ fermentation.....	46
Figure 27 : Résultat de liquéfaction de gélatine.....	47
Figure 28 : Résultat de transformation de sucrose.....	47
Figure 29 : Résultat d'utilisation de Citrate.....	47
Figure 30 : Résultat de croissance à 39°C.....	47
Figure 31 : Résultat d'hyprsensibilité sur tabac.....	48

Liste des tableaux

Tableau 1 : la gamme des plantes hôtes du feu bactérien.....	11
Tableau 2 : Matériel végétal prélevé.....	32
Tableau 3 : Résultat des tests d'identification (biochimiques et	43

Sommaire

Résumé.....	1
Introduction.....	3
Chapitre I : Analyse bibliographiques	
1- Agent causal « <i>Erwinia amylovora</i> ».....	4
2- Généralités sur la maladie du feu bactérien	11
Chapitre II : Matériel et Méthodes	
1- Présentation de la Mitidja	24
2- Présentation des régions d'étude	25
3-Etude climatique de la Mitidja.....	28
4-Echantillonnage	31
5-Isolement	32
6-Purification.....	33
7-Caractéristiques et identification de l'agent pathogène.....	34
Chapitre III : Résultats et Discussion	
1- Caractéristiques des symptômes obtenus sur terrain	39
2- Résultats du diagnostic au laboratoire.....	40
Discussion.....	49
Conclusion.....	54
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

OEPP : Organisation Européenne de la Protection des Plantes

FoxR: Récepteur de fer

LPS: Lipopolysaccharides

EPS : Exopolysaccharides

USA : United stage Amérique

ams: amylovorane *synthesis*

hrp: Hypersensitive response and pathogenicity

PCR : Réaction Polymérase en Chaîne

UV : ultra-violet

H₂O₂ : le peroxyde d'oxygène

D.O : densité optique

Cfu : unité de colonie formée

Liste des annexes

Annexe 1: Les températures mensuelles et la pluviométrie dans la Mitidja durant la période 2000-2015(**Anonyme d, 2015**).

Annexe2: Composition de milieu King B pour formuler 1 L d'eau distillée.

Annexe3 : Composition de milieu levane pour formuler 1L d'eau distillée.

Annexe 4: Composition de milieu Hugh et Leifson pour formuler 1 L d'eau distillée.

Annexe 5 : Composition de milieu liquide RS pour formuler 1L d'eau distillée

Annexe 6 : Composition du réactif de BENEDICT (réactif ajouté pour la réduction du sucre).

Annexe 7 : Composition du milieu Indole pour formuler 1L d'eau distillée.

Annexe 8: Composition de milieu de l'hydrolyse de gélatine pour formuler 1 L d'eau distillée.

Annexe 9: Composition de milieu citrate de Simmons pour formuler 1 L d'eau distillée.

Annexe 10: Composition de milieu liquide 523 pour formuler 1 L d'eau distillée.

Introduction

Le feu bactérien (ou *Fire Blight*) est une maladie grave et très redoutable observée pour la première fois en 1780 aux Etats-Unis et introduite par la suite en Europe en 1958 (**Gautier et al., 1988**). Cette maladie a été décelée en Afrique dans les années 60 (**Bonn et Van Der Zwet, 2000**).

Cette bactériose affecte les plantes de la famille des *Rosaceae*, sous famille des *Pomoïdeae* telles que pommier, poirier, cognassier, néflier,...etc. Elle atteint aussi les plantes sauvages comme les arbustes d'ornement tels que *carataegus* sp, *sorbus* sp, *Pyracantha* sp, et *cotoneasters*. Parmi ces plantes hôtes le poirier, est l'hôte principal très sensible à cette maladie (**Balduque et al., 1996; OEPP, 2013**).

Le pathogène responsable de la maladie du feu bactérien est appelé *Erwinia amylovora* (**Burrill, 1883 ; Winslow et al., 1920**), est une bactérie à Gram négatif provoquant des grandes pertes économiques dans plusieurs pays du monde.

La bactérie *Erwinia amylovora* est classée parmi les organismes nuisibles de quarantaine dans l'Union Européenne qui se trouve dans la liste A2, pour laquelle il existe une législation spécifique sur les mesures préventives contre l'introduction et la diffusion de la maladie, ainsi qu'un programme national d'éradication et de contrôle (**OEPP, 2012**).

Des symptômes semblables à ceux du feu bactérien ont été signalés en 2011 en Algérie dans plusieurs régions du nord surtout dans les wilayas du centre comme Alger, Boumerdès, Tipaza et Blida (**OEPP, 2011**).

Les plantes les plus touchées au feu bactérien dans ces wilayas sont le poirier, pommier et cognassier. Il a été estimé que 60 vergers de poirier et pommier sont touchés dans la wilaya de Blida (**Nouni, 2013**) et 32 ha de poirier, 49,5 ha de pommier et 1 ha de cognassier à Médéa résultat des phytosanitaires Chambre d'agriculture de médéa, Direction des services agricoles de Médéa en 2015.

Le but de ce travail consiste la recherche de la maladie du feu bactérien dans la région de Mitidja centre dans trois wilayas: Tipaza, Blida et Médéa.

Il s'agit de réaliser un diagnostic sur terrain pour rechercher dans les foyers éventuels de l'expansion de la maladie du feu bactérien suivi de l'identification au laboratoire de l'agent causal.

CHAPITRE I : Données bibliographiques sur *Erwinia amylovora* agent causal de la maladie du feu bactérien

1-Agent causal « *Erwinia amylovora* »

Erwinia amylovora est une bactérie Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, elle est anaérobie facultative non sporulée (Winslow et al., 1920 ; Paulin, 2000).

C'est la première bactérie identifiée comme un pathogène des plantes (Burrill, 1883).

1.1-Systématique (Brenner, 1984)

Règne	<i>Eubacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Entrobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Erwinia</i>
Espèce	<i>Erwinia amylovora</i>

Synonymes : *Micrococcus amylovorus* (Burrill ,1882).

Bacillus amylovorus (Trevisan, 1889).

Baterium amylovorus (Chester, 1897).

Bacterium amylovorum (serbinov, 1915).

Erwinia amylovora (winslow et al., 1920).

(Van Der Zwet et Keil, 1979; Hauben et Swings, 1999;Garrity et al., 2003).

Nom commun:

Feu bactérien (Français)

Fire blight (Anglais)

(العربية) اللفحة النارية

1.2-Les caractéristiques cellulaires

La cellule de la bactérie *Erwinia amylovora* est un bâtonnet droit de 1.0-3.0 μm de longueur et de 0.5-1.0 μm de largeur, mobile par deux à sept flagelles péritriches par cellule (**Hauben et Swings, 1999; Paulin, 2000**) (figure 01).

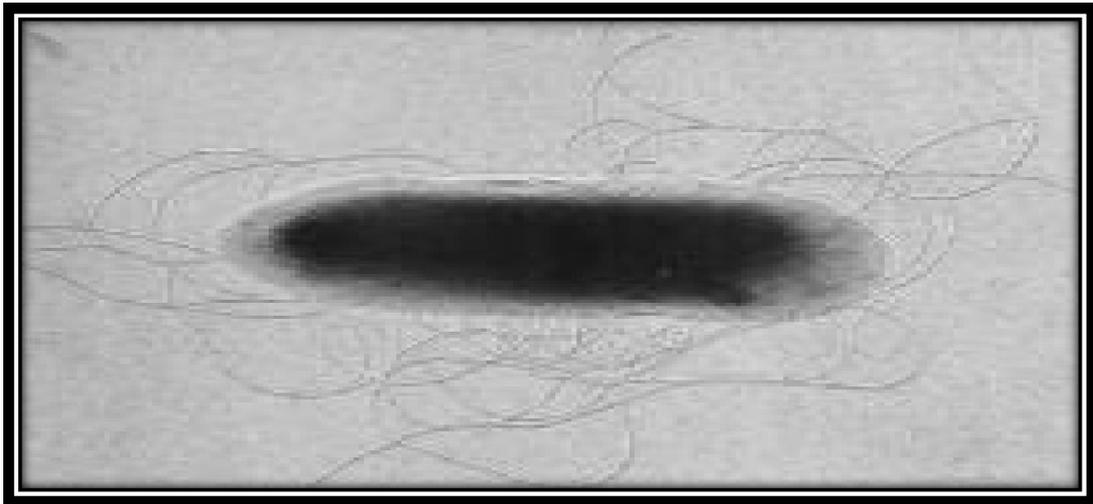


Figure 01 : Cellule virulente d'*Erwinia. amylovora* vu au microscope électronique **GX 1 8.000**(**Van der Zwet et al., 2012**).

1.3-Les composants cellulaires de la bactérie

1.3.1-Flagelle

Les cils ou flagelles, ce sont des appendices filamenteux qui constituent une structure protéique appelée flagelline, ils jouent un rôle très important dans la mobilité et le déplacement de la bactérie *Erwinia amylovora* (**Raymundo et Ries, 1980 ; Blair, 1995**).

1.3.2-La Capsule

La bactérie est protégée par une capsule, formée par des exopolysaccharides qui sont constitués principalement par deux types de polysaccharides ; l'amylovorane et le levane.

L'amylovorane est un hétéropolymère composé de galactose, glucose, mannose et d'acide uronique alors que le levane est un polyfructose (homopolymère) (**Goodman et al., 1987; Geider et al.,1992**).

La capsule bactérienne favorise la survie des bactéries et protège le pathogène contre les pertes d'eau et la reconnaissance par le système de défense de la plante hôte (**Smith, 1976 ; Bellemann et al., 1992**).

1.3.3-Lipopolysaccharides (LPS)

Le LPS constitue le composé de surface majoritaire chez les bactéries à Gram négatif (Figure 02). C'est une macromolécule tripartite composée d'un lipide (le lipide A), d'un oligosaccharide (heptose, glucose et acide uronique) ou « core » et d'un polysaccharide (fructose, glucose et galactose) appelé antigène- O (ou chaîne O); responsable du pouvoir pathogène (**Olivier, 2002 ; Raetz et al., 2002**).

Les LPS assurent le rôle de la protection physique des cellules bactériennes par la réduction de la perméabilité membranaire, permettant ainsi la croissance bactérienne dans un environnement défavorable (**Dow et al., 1995**).

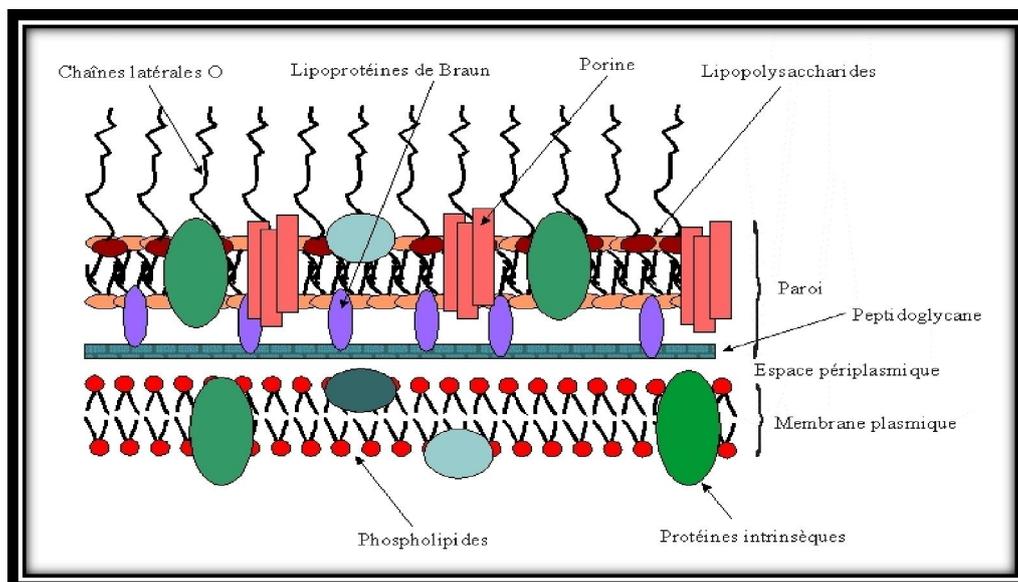


Figure 02: Schéma de la structure de la paroi de la cellule d'une bactérie à Gram négatif (**Anonyme a, 2015**).

1.4- Plasmide

Le plasmide le plus fréquent chez la bactérie *Erwinia Amylovora* est le plasmide pEA29. Ce plasmide circulaire et de poids moléculaire 29 kb,

émerge dans le cytoplasme .Il joue le rôle de la pathogénicité. Ce plasmide est stable et ne peut pas être transmis par la conjugaison (**Laurent et al., 1989 ;Llop et al., 2006**)(Figure 03).

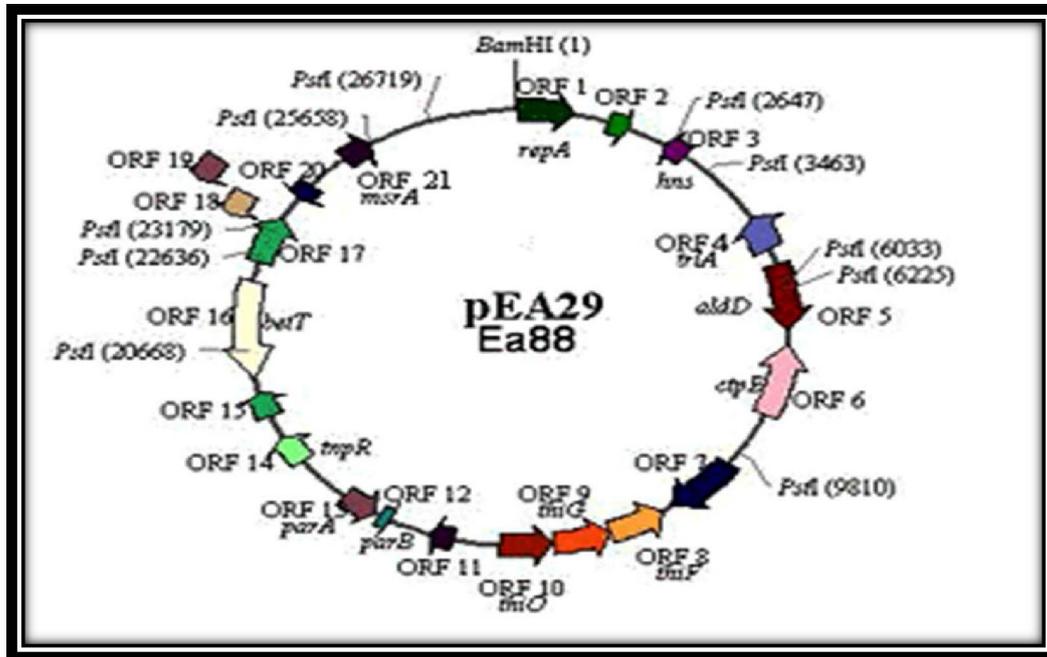


Figure 03 : Structure du plasmide d'*Erwinia amylovora* pEA29 (**McGhee et Jones, 2000**).

En **2011**, **Llop** et ses coll. ont trouvé un nouvel plasmide cryptique chez diverses souches d'*Erwinia amylovora*, ce plasmide circulaire de 65.8 kb appelé pEI70 joue un rôle important dans la pathogénicité, et est très répandue chez les souches européennes et absentes à l'extérieur de l'Europe.

1.5- Les facteurs du pouvoir pathogène

Erwinia amylovora est une bactérie non pectinolytique, elle ne produit aucune toxine importante (**Seemuller et Beer, 1976**). Cette bactérie possède trois facteurs du pouvoir pathogène ; le système d'acquisition du fer, les exopolysaccharides (EPS) et les protéines sécrétées par un système de sécrétion de type III, codées par des gènes *hrp* (**Delaunay-Cesbron, 2009**).

1.5.1-Le système d'acquisition du fer

Erwinia amylovora possède un système d'acquisition du fer composé de sidérophores de type hydroxamate et d'un récepteur *FoxR* (**Kachadourian et al., 1996; Expert et al., 2000**).

En outre, les sidérophores (des ferrioxiaminas) sont des agents chélatants du fer et des transporteurs qui permettent à l'agent pathogène *Erwinia amylovora* de produire un sidérophore, impliqué dans l'agressivité les tissus de l'hôte existant (**Dellagi et al., 1998**).

Ce système est important pour la survie de la bactérie en milieu carencé en fer comme l'apoplaste. Les sidérophores peuvent aussi agir comme agents de protection contre l'effet toxique de certains composés chimiques produits par la plante, comme la réaction de défense dans les premiers stades de l'infection (**Expert et al., 2000**).

1.5.2- Les exopolysaccharides (EPS)

La biosynthèse de l'EPS ou amylovorane requiert un grand nombre de gènes. La plupart de ces gènes sont localisés dans une région du chromosome d'environ 17 kb appelée *ams* (**Bugert et Geider, 1995**).

Les fonctions des exopolysaccharides sont multiples et complexes. Ils permettent la survie bactérienne en formant une barrière physique protectrice contre les stress biologiques (biotiques) et environnementaux (abiotiques) et favorisent la virulence des bactéries phytopathogènes ce qui fait de l'amylovorane un facteur de virulence (**Denny, 1995**).

L'EPS est un facteur essentiel de la pathogénicité d'*Erwinia amylovora*. Il pourrait empêcher la reconnaissance de la bactérie par des réactions de défense des plantes, ce qui facilite le processus d'infection (**Costerton et al., 1987; Smith, 1977**).

Erwinia amylovora synthétise le levane et l'amylovorane, (**Nimtz et al., 1996**). Le levane favorise la multiplication et la survie de la bactérie dans le nectar des fleurs de la plante (**Gross et al., 1992 ; Geier et Geider, 1993**).

L'amylovorane est un hétéropolysaccharide acide qui permet de bloquer les canaux vasculaires et cause le flétrissement de la plante hôte **(Vanneste, 2000 ; Robert et Sawyer, 2008)**.

Les quantités d'exopolysaccharides synthétisés varient selon les souches bactériennes mais aussi en fonction de la température, du pH, de la concentration en sels, du milieu et de la source de carbone. Les mutants altérés dans la synthèse de l'amylovorane, donc dépourvus de la capsule, sont non pathogènes ce qui fait de l'amylovorane un facteur de virulence **(Bernhard et al., 1993)**.

1.5.3-Le système de sécrétion de type III

Les systèmes de sécrétion de type III (injectisome) sont présents chez de nombreuses bactéries phytopathogènes. Ils sont impliqués dans la sécrétion et l'injection de protéine de virulence directement dans le cytoplasme de la cellule de l'hôte **(Alfano et Collmer, 1997 ; da Cunha et al., 2007)**.

Chez *E. amylovora*, les gènes *hrp* codent pour le système de sécrétion de type III, nécessaire pour l'induction de la maladie chez la plante hôte et de l'hypersensibilité chez la plante non-hôte **(Delaunay-Cesbron, 2009)**.

Les gènes *hrp* (*hypersensitive response and pathogenicity*) sont regroupés dans une région chromosomique de 40 kb et jouent le rôle de pathogénicité. Ces gènes codent pour trois types de protéines: régulateurs, de structure et de sécrétion (Figure 04) **(da Cunha et al., 2007)**.

Les protéines de régulation contrôlent l'expression des autres gènes *hrp*, les protéines de structure forment l'appareil de sécrétion par lequel transitent les protéines sécrétées impliquées dans le parasitisme de l'hôte ce qui libère des protéines appelées harpines à l'extérieur de la cellule bactérienne et les injecte dans la cellule végétale **(Tang et al., 2006)**.

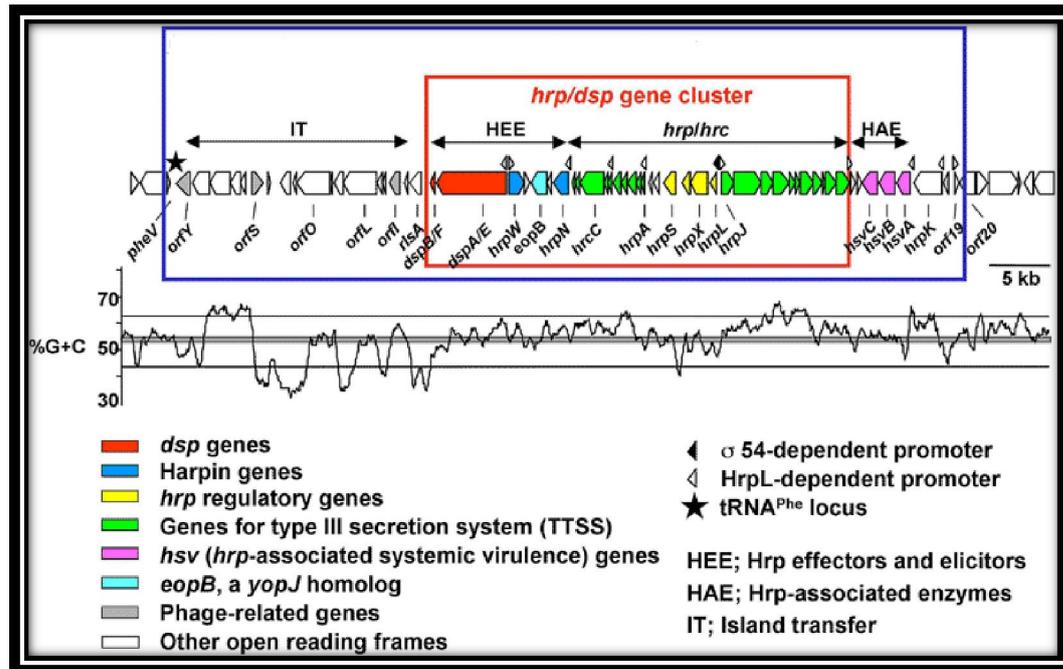


Figure04: Structure des gènes *hrp* d'*Erwinia amylovora* (Oh et Beer, 2005).

E. amylovora sécrète au moins douze protéines par le système de sécrétion de type III ; HrpN, HrpW, DspA, HrpJ, EopB, HrpK, Eop4, HrpA, Eop2, Eop3, TraF, FlgL (Nissinen et al., 2007). Ce sont les effecteurs qui fonctionnent en coopération pour provoquer la maladie sur une plante hôte et induire une réaction d'hypersensibilité sur une plante non hôte (tabac) (Zhao et al., 2006 ; Bocsanczy et al., 2008).

1.6-Plantes hôtes

La bactérie *E. Amylovora* provoque la maladie du feu bactérien sur une grande gamme de plantes hôtes. Elle a été décrite sur plus de 200 espèces de plantes à partir de 40 genres appartenant à la famille des Rosacées (Palacio-Bielsa et al., 2009). Cependant, la plupart des espèces concernées appartiennent à la sous-famille des *Maloïdeae*. De plus, le feu bactérien affecte les plantes ornementales et certaines plantes spontanées (Balduque et al., 1996; OEPP, 2013)(tableau 01).

Tableau 1 : la gamme des plantes hôtes du feu bactérien (Palacio-Bielsa et al., 2009).

Les plantes hôtes	Noms latins	Noms communs
Fruits à Pépins	<i>Malus</i>	Pommier y compris pommier d'ornement
	<i>Pyrus</i>	Poirier y compris poirier d'ornement et nashi
	<i>Cydonia</i>	Cognassier
Arbustes d'ornement	<i>Chaenomeles</i>	Cognassier du Japon
	<i>Cotoneaster</i>	<i>Cotoneaster</i>
	<i>Pyracantha</i>	Pyracantha ou buisson ardent
	<i>Mespilus</i>	Néflier d'Allemagne
	<i>Eriobotryajaponica</i>	Néflier du Japon
	<i>Photinia ou Stranvaesia</i>	<i>Stranvaesia</i>
Arbustes Sauvages	<i>Crataegus</i>	Aubépine
	<i>Sorbus</i>	Alisier et sorbier
	<i>Amelanchier canadensis</i>	Amélanchier du Canada

2- Généralités sur la maladie du feu bactérien

2.1- Distribution géographique dans le monde

la maladie du feu bactérie na été décrite et observée pour la première fois en 1780 dans la vallée de l'Hudson aux Etats-Unis (**Burrill, 1883 ; Winslow et al., 1920**).

En Europe, la maladie a été détectée pour la première fois en 1957 dans le sud d'Angleterre à la région de Kent (**Gautier, 1988**). Par la suite, le Feu bactérien a été écarté dans plusieurs pays en dehors de l'Europe (**Griffo et al., 1998 ; Bobev et al., 1999**).

En1964, la maladie à été identifiée en Afrique, plus précisément dans la vallée du Nil en Egypte (**Bonn et van der Zwet, 2000**) et de nouveau en

Europe sur le continent, dans le Pays-Bas en 1966. En Espagne en 1995 et la Slovénie en 2001 (**Balaž et al., 2013**).

En 2006 le feu bactérien a été détecté pour la première fois au Maroc dans la région de Meknès (**Fatmi et al., 2008**), en Algérie en 2011 et en Tunisie en 2012 (**OEPP, 2013**).

Selon l'Organisation Européenne de la Protection des Plantes (**OEPP, 2012**), *Erwinia amylovora* est actuellement présente dans plus de 50 pays dans le monde.

En Algérie, des symptômes similaires à la maladie du feu bactérien ont été détectés dans plusieurs vergers de poiriers (*Pyrus communis*) des wilayas d'Alger, Blida, Médéa, Tipaza, Boumerdès et Sétif. Des échantillons ont été analysés au laboratoire des services concernés et la présence d'*Erwinia amylovora* été confirmée en 2011 (**OEPP, 2011**).

2.2-Symptomatologie

Les symptômes du feu bactérien sont semblables sur toutes les espèces hôtes. Ces symptômes se manifestent sur les espèces de la famille des Rosacées (pommier et poirier) dont les organes attaqués (fleurs, feuilles, pousses, fruits et tiges) prennent une couleur noire ou brune très foncée. Lorsque la maladie est avancée, les plantes atteintes apparaissent comme si brûlées par un incendie, ce qui conduit à la dénomination du "feu bactérien". L'infection d'*E. amylovora* peut commencer à tout âge des plantes (**Van Der Zweet et Beer, 1995**).

Les premiers symptômes apparaissent au printemps, pendant la floraison et le bourgeonnement et sont souvent situés dans la partie médiane ou inférieure de l'arbre à la fois durant un temps chaud et humide.

Les bourgeons, les fleurs et les jeunes fruits sont les organes les plus sensibles de la plante et constituent le point de départ de l'infection (**Cambra, 2002**). Si les conditions sont favorables, les bactéries évoluent d'une manière systémique et l'infection progresse rapidement pour atteindre les feuilles, les branches principales et secondaires, le tronc et même les racines (**Keith et al., 2012**).

2.2.1- Brûlures des fleurs

Les premiers symptômes du feu bactérien sont visibles 2 à 6 semaines après la floraison (**Wettstein et al., 2002**).

Au printemps, les fleurs attaquées présentent des brûlures et apparaissent d'abord imbibées d'eau et plus tard commencent à flétrir, et deviennent brunes ou noires (Figure 05-A).

Les fleurs infectées restent souvent attachées à l'arbre ce qui permet à la maladie de progresser dans la tige. Cependant, les insectes pollinisateurs qui visitent les fleurs contaminées peuvent transmettre la maladie aux fleurs non infectées (**Van Der Zwet et Beer, 1995**).

2.2.2-Brûlures des pousses

Les pousses peuvent aussi être infectées par la brûlure bactérienne ; elles apparaissent d'abord imbibées d'eau mais rapidement virent au brun ou noir et la brûlure des pousses se développe très rapidement une fois que l'infection a lieu.

La bactérie se déplace vers le bas, les tissus de la tige se décolorent et flétrissent et dans la plupart des cas l'extrémité de la jeune pousse infectée se recourbe en forme de crosse (**Van der Zwet et Keil, 1979**) (Figure 05-B).

Les premiers symptômes foliaires apparaissent comme une décoloration brune ou noire le long des pétioles et des nervures médianes, tandis que le reste du tissu foliaire reste vert (Figure 05-C). La présence d'exsudats bactériens le long des nervures médianes et des rameaux infectés est également fréquente (**Van der Zwet et Keil, 1979**) (Figure 05-D).

2.2.3-Symptômes sur fruits

Les fruits infectés avant maturation noircissent, la partie attaquée revêt d'un aspect humide et huileux, devient brunâtre puis noirâtre. Des gouttelettes d'exsudats peuvent se former sur la surface des fruits, ensuite se dessèchent et momifient rapidement en restant attachés sur les rameaux de l'arbre

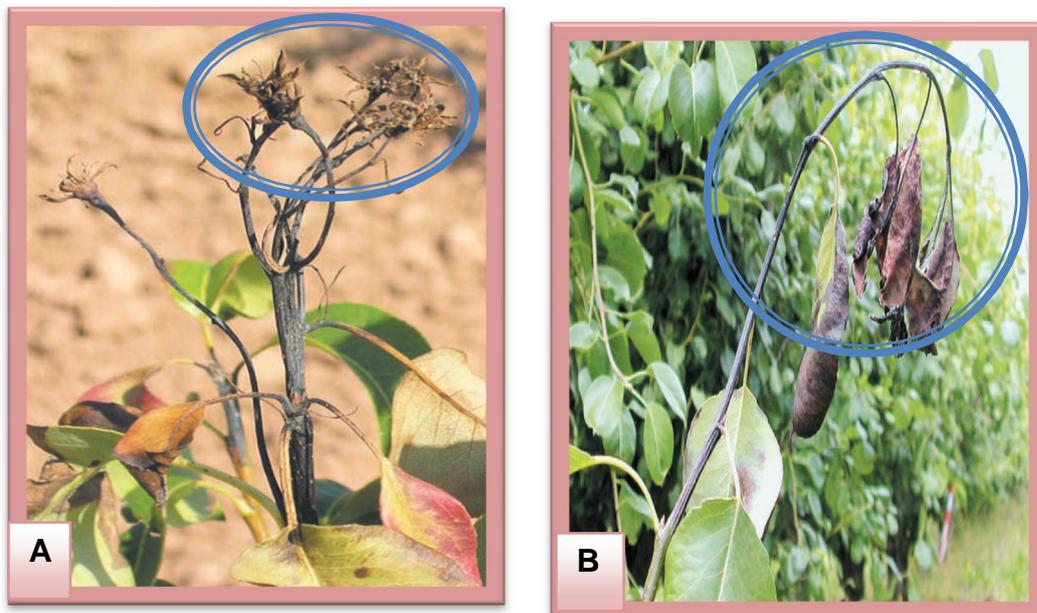
plusieurs mois après l'infection (**Van der Zwet et Berr, 1995; Agrios, 2004**) (Figure 05-E, F).

2.2.4-Symptômes sur tronc

Les chancres sont le résultat des bactéries qui se déplacent systématiquement dans le tissu de l'arbre.

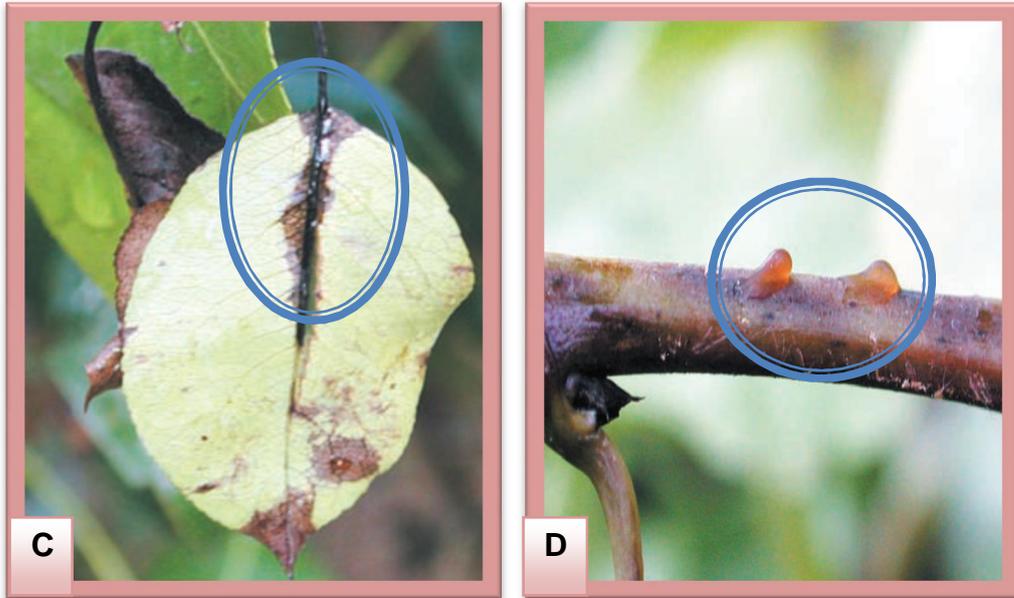
Ils apparaissent d'abord en couleur brun à violacé sur les rameaux et le tronc. Le tissu sous l'écorce apparaît d'abord imbibé d'eau, éventuellement avec des rayures rouges et se tourne finalement au brun pendant les périodes pluvieuses ou très humides (**Dye, 1983**) (Figure 06-G).

En temps chaud et humide, la nécrose corticale se développe rapidement et peut évoluer en chancre avec une production abondante d'exsudats bactériens (**Van der Zwet et Keil, 1979**) (Figure 06-H).



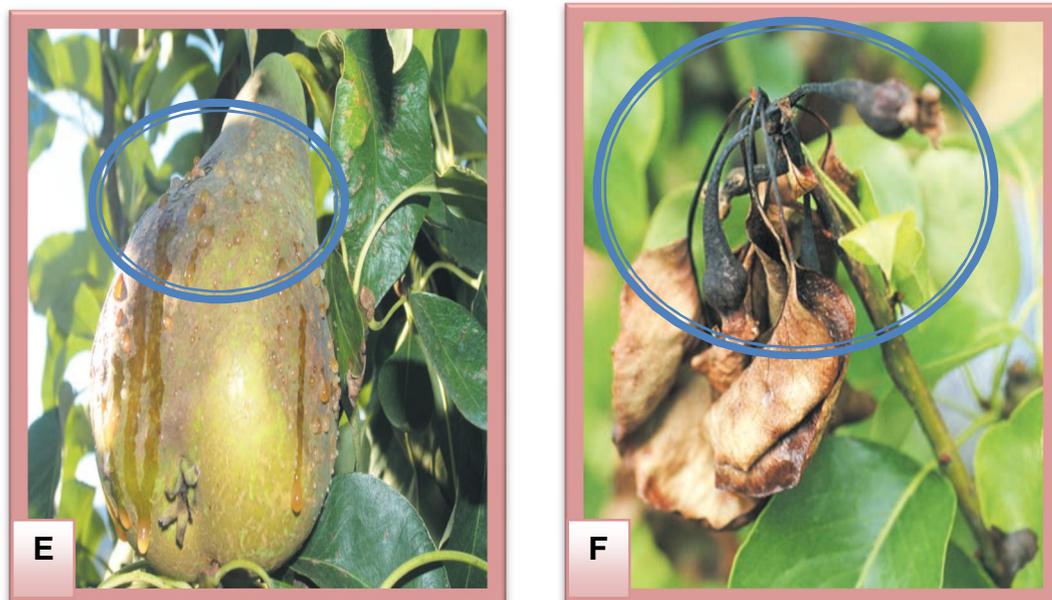
A : Bouquet floral desséché présentant des pédoncules noircis et nécrosés.

B : Jeunes pousses attaquées, aspect courbé en crosse et brûlure les feuille.



C : infection et décoloration des nervures médianes, brunissement et des fruits atteints dessèchement les feuilles.

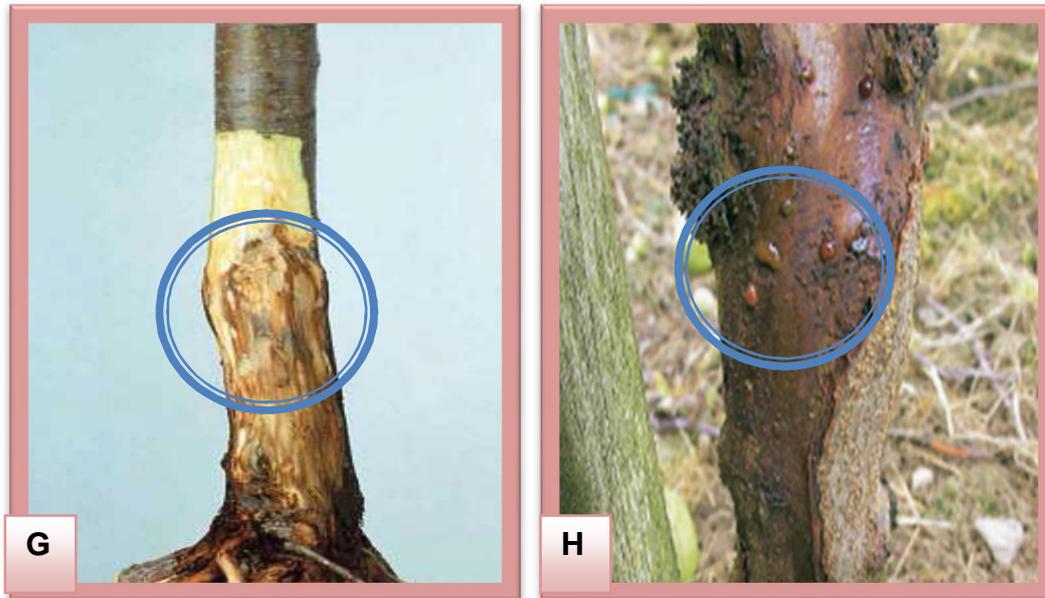
D : Exsudats bactériens sur les rameaux.



E: gouttelettes d'exsudats à la surface des fruits atteints

F: jeunes fruits desséchés et momifiés.

Figure 05 : Symptômes du feu bactérien sur les fleurs, pousses, feuilles rameaux et fruits (**Palacio-Bielsa et al., 2009**).



G : Des chancres, ceinturant une branche attaquée.

H : Ecoulement d'exsudat du chancre sur le tronc.

Figure 06 : Symptômes du feu bactérien sur le tronc (**Agrios, 2004**).

2.3-Epidémiologie de la maladie

Erwinia amylovora est un organisme de quarantaine de la liste A2 de l'OEPP et son introduction est interdite dans pratiquement tous les pays (**OEPP/EPPO, 1983**). Cette bactérie a une capacité d'adaptation de part sa variabilité écologique, sa gamme d'hôtes qui est vaste de la famille des Rosacées et peut être trouvée dans des endroits géographiques variés (**Masseron et Trillot, 1991**).

L'activité biologique et l'épidémie d'*E.amylovora* dépendent de plusieurs facteurs: la source d'inoculum, la sensibilité variétale, les conditions climatiques, la présence de vecteurs potentiels et les conditions culturales (**Olsen, 2011**).

2.3.1-La source d'inoculum

La quantité d'inoculum des bactéries a une influence décisive sur le développement et l'intensité de l'infection. Il a été observé que le feu

bactérien est plus rapide avec plus de matériel malade existant dans une plantation ou à proximité. Tous les facteurs qui déterminent l'augmentation d'inoculum augmentent l'intensité d'infection causée par *E. amylovora*.

Les organes malades des plantes augmentent la quantité d'inoculum grâce la croissance bactérienne et sécrètent à l'extérieur des exsudats pour faciliter leur dispersion dans l'environnement (**van der Zwet et Beer, 1995**).

2.3.2-La sensibilité variétale

La sensibilité de l'hôte dépend de la quantité d'inoculum, de la vigueur végétative, de l'âge de l'arbre, des conditions météorologiques et des interactions entre tous ces facteurs (**Diop, 2007**).

Quelle que soit la sensibilité du genre, espèce ou variété de la plante, les stades les plus sensibles à la maladie au cours des phases de cycle végétatif sont les périodes de floraison intense et la croissance végétative. Les jeunes fruits sont aussi très réceptifs. De plus, les fleurs secondaires en fin de printemps et début de l'été et de l'automne sont plus réceptifs à l'infection que la floraison principale, puisque les conditions climatiques (température et humidité) de ces temps favorisent la multiplication d'*E. amylovora* (**van der Zwet et Beer, 1995**).

2.3.3-Les facteurs climatiques

Les conditions environnementales qui favorisent le développement de la maladie sont la température et de l'humidité, une incidence directe sur le développement et l'infection d'*E. amylovora* sont 18°C à 29°C en présence d'une forte humidité, la pluie ou la rosée (**van der Zwet et Beer, 1995**).

L'humidité doit être supérieure à 70% pour les attaques d'importance, se classant optimale pour l'infection dans 90 à 95%(**van der Zwet et al., 1988**).

2.3.4-Dissémination de la bactérie

La distribution de l'inoculum est une étape essentielle pour compléter le cycle de la maladie. Cette dissémination peut-être assurée par l'ouverture naturelle ou par plusieurs vecteurs : la pluie, le vent, la grêle, les insectes, les plantes infectées, les oiseaux, l'homme et les outils de travail (**Glasscock, 1971; Billing, 1974; 1975**).

L'homme peut jouer un rôle important dans la transmission de la bactérie par les outils de taille par le contact directe (sécateur, scies), ou indirectement par le déplacement des ruches d'une région atteinte à des régions indemnes par le transport d'exsudats ou bien des fragments végétaux malades (**Paulin, 1983 ; André, 1985**).

La dispersion de la maladie sur de grandes distances se fait par les échanges internationaux et le transport de matériel végétal d'un pays ou d'une zone où la maladie existe déjà à une autre indemne (**Momol et al., 1998 ; Richter et al., 1999**).

2.3.5-Cycle de la maladie du feu bactérien

Au printemps, c'est la période optimale pour la croissance et la multiplication des bactéries dans les marges des chancres grâce à des conditions climatiques favorables en termes de températures entre 24°C et 27°C et l'humidité relative au dessus de 50% (**Van Der Zwet et Beer, 1995**).

En été, pendant la croissance des pousses, la pluie constitue un facteur limitant. Une pluviométrie supérieure à 2,5 mm est considérée comme nécessaire et suffisante, ainsi les accidents climatiques (orage et grêle) susceptibles de causer des blessures sont également propices à l'infection (**Pierstorff, 1931**).

Une fois dans l'apoplaste, la bactérie se multiplie préférentiellement dans les tissus jeunes en croissance, ce qui se traduit par l'apparition à leur surface de gouttelettes d'exsudats (oozes bactériens) mélange de polysaccharides bactériens et de cellules bactériennes gommeux et collants qui apparaissent sur les lenticelles et les fissures des chancres sous forme des gouttelettes de couleur jaune à orange (source d'inoculum primaire) permettant une rapide dissémination de la maladie (**Agrios, 2004**).

Les fruits momifiés restant attachés à l'arbre peuvent aussi constituer une source d'inoculum primaire (**Van Der Zwet et Beer, 1995**).

D'après **Paulin, 1996**, En hiver l'agent pathogène se conserve dans l'écorce et le tronc des plantes infectées. Les parties attaquées présentent alors des chancres et des fissures (**Hartman et al., 1996 ; Thomson et Ockey, 2000**) (Figure 07).

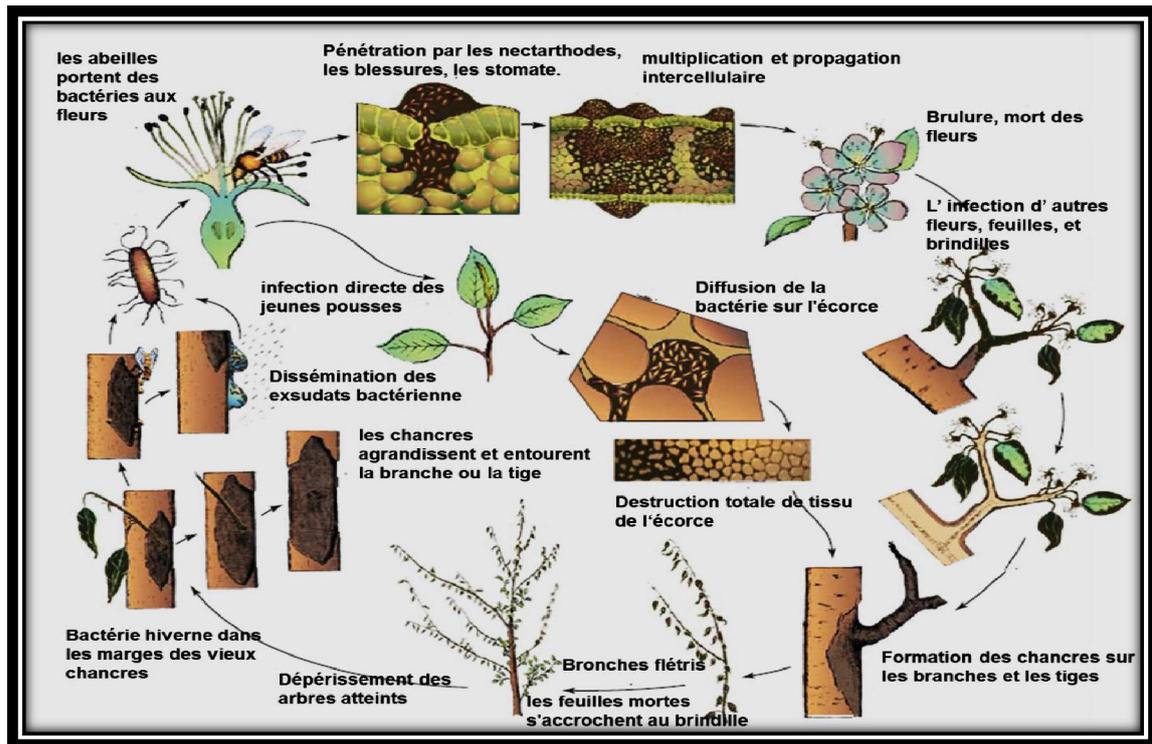


Figure 07 : Cycle biologique de la maladie du feu bactérien (Agrios, 2004).

2.4-Impact économique

Le feu bactérien est considéré comme une maladie destructive des pommes et des poires pendant plus de 200 années (**Llop et al., 2008**). Il provoque des dommages considérables sur les plantes hôtes en détruisant les rameaux floraux et induisant en conséquence la perte de la production en une saison (**Van der Zwet et Keil, 1979**).

Cette maladie ne détruit pas seulement la récolte de l'année mais est extrêmement dangereuse pour la plante elle-même. Si les conditions climatiques sont favorables pendant la floraison, le rendement est

sensiblement diminué, voire nul. L'année suivante, il est aussi très affecté à cause de la destruction des rameaux fruitiers (**Thomson et Ockey, 2000**).

Les pertes annuelles dues au feu bactérien sont estimées à plus de 100 millions de dollars aux USA, et dans d'autres pays tels que la Nouvelle Zélande et l'Italie, elles sont très conséquentes (**Vanneste, 2000**).

Au Maroc en 2006, le feu bactérien a été observé sur 71 fermes dans différentes communes, dont plus de 720 ha de surface cultivée infectée, alors que 215 ha en poire et pomme ont été détruits (**Fatmi et al., 2008**).

En 2011 en Algérie, le feu bactérien a ciblé près de 17 000 ha de vergers dans les wilayas du Centre algérien, du pommier, poirier, néflier et du cognassier (**Houari, 2011**).

2.5- Lutte contre le feu bactérien

Les méthodes de lutte actuelles sont diverses mais chacune est d'efficacité limitée. Ces méthodes doivent s'accompagner par de mesures d'éradication (suppression manuelle de pousses voire arrachage des arbres malades), mais la meilleure méthode pour protéger les cultures est la lutte intégrée qui englobe toutes les méthodes de lutte chimiques, biologiques,... (**Psallidas et Tsiantos, 2000**).

2.5.1-Lutte chimique

Les produits chimiques qui traitent et contrôlent le feu bactérien sont très limités; ils appartiennent à trois catégories: composés contenant du cuivre, des antibiotiques, et des éliciteurs (**Palacio-Bielsa et al., 2009**).

Les produits utilisables en traitements phytosanitaires contre les bactérioses sont des produits cupriques tels que la Bouillie bordelaise et les cuivres ont été les premiers composés utilisés pour le contrôle et n'ont d'efficacité, que s'ils sont appliqués en lutte préventive. Les cuivres sont appliqués pendant la période de la floraison pour réduire la survie d'*E. amylovora* autour des chancres (**Delaunay-Cesbron, 2009**).

La streptomycine est considérée comme l'antibiotique le plus efficace contre le feu bactérien. La streptomycine a été utilisée en Amérique du Nord depuis les années 1950 et quelques autres pays comme la Nouvelle-Zélande

et en Israël, mais son utilisation a finalement été interdite dans de nombreux pays du fait de l'apparition de résistances plasmidiques chez *E. Amylovora* et d'autres bactéries non-cibles (**Moller et al., 1972, Lacobellis et al., 2005**).

Cependant, Les antibiotiques ne sont plus utilisés parce qu'ils provoquent une résistance au pathogène et causent des problèmes liés à la santé humaine (**Psallidas et Tsiantos, 2000**).

La lutte chimique est appliquée à titre préventif et est considérée comme peu respectueuse de l'environnement. C'est pourquoi de nombreux travaux portent sur la recherche d'agents de lutte écologiquement plus acceptables, tels que des microorganismes antagonistes (**Delaunay-Cesbron, 2009**). Jusqu'ici les produits chimiques ne sont pas capables de contrôler complètement cette maladie (**Psallidas et Tsiantos, 2000**).

2.5.2-Lutte biologique

L'objectif de la lutte biologique ne s'agit pas de supprimer la population pathogène, mais de réduire sa population sous le seuil de nuisibilité. Par conséquent, cette méthode a pour objectif d'empêcher l'infection de la plante hôte par le pathogène.

Le mode d'action des agents de lutte biologique peut être groupé en trois catégories principales à savoir: la compétition pour l'espace et des aliments et l'antibiose.

La bactérie *Pseudomonas fluorescens*, a été largement étudiée. Elle agirait par compétition nutritive. La souche A506 de cette espèce est commercialisée aux USA sous le nom de Blight Ban A506TM (**Francesco, 2002**).

Des souches avirulentes de l'agent pathogène sont également capables de bloquer l'infection. Par ailleurs, des mutants avirulents d'*E. amylovora*, altérés dans la région *hrp*, sont capables expérimentalement de bloquer l'infection par la souche virulente lorsqu'ils sont inoculés avant ou en même temps que celle-ci (**Faize et al., 2006**).

D'autre part, l'utilisation des huiles essentielles qui sont extraites à partir des plantes aromatiques plus particulièrement de la famille des *Lamiaceae* (*Origanum* sp, *Thymus* sp, *Mellisa* sp, *Mentha* sp, et *Nepeta* sp)

sont utilisées dans la lutte biologique contre le feu bactérien et ont montré une efficacité supérieure à celle de la streptomycine (**Kokoskova et al., 2011**).

2.5.3-Lutte génétique

L'utilisation de la transgénèse visant à introduire un gène d'intérêt dans un fond génétique connu peut être une alternative intéressante, différentes approches sont explorées.

Actuellement, la méthode la plus utilisable est la transgénèse grâce à la biotechnologie. Cette méthode permet l'intégration des gènes de résistance directement avec le matériel génétique dans les plantes sensibles pour former des plantes résistantes contre les pathogènes soit par élicitation des défenses naturelles de la plante, ou par transgénèse (**Agrios, 2004**).

Les Etats-Unis et le Canada, confrontés au feu bactérien depuis longtemps, ont développé des programmes de sélection de variétés résistantes. Les premières recherches ont mis en œuvre des croisements entre le poirier européen et le poirier oriental : *pyrus serotina*, *pyrus calleryana*, *pyrus ussurensis*. Il en résulte des hybrides résistants certes, mais de qualités gustatives ou agronomiques incertaines (**Gautier, 1988**).

2.5.4-Lutte Culturelle

Les pratiques culturales sont très importantes pour contrôler le feu bactérien. Ces pratiques ont tendance à réduire la fréquence des infections, en diminuant l'entrée potentielle de bactéries dans les plantes hôtes (**Lecomte et Paulin, 1992**).

Le processus de la taille doit être effectué avant le mois de mars en temps sec en commençant par les vergers sains et en terminant par les vergers contaminés. De plus, il faut arracher et incinérer les branches malades ou portant les chancres qui sont considérés comme une source d'inoculum primaire, en taillant à 70 cm au-dessous des symptômes, avec une désinfection des outils de taille avec l'alcool ou de l'eau de javel (trempage prolongé) ou passage par la flamme (**Giraud et al., 1996; Francesco,2002**). Des précautions doivent être prises avec le transport des

ruches pour éviter tout mouvement à partir d'un verger infecté à un verger indemne (**Steiner et al., 2000**).

La meilleure méthode réussie dans la lutte culturale contre le feu bactérien est l'utilisation des plantes hôtes résistantes constitue un élément important pour le contrôle de la maladie, qui se fonde sur la culture de scion des variétés relativement résistantes sur des porte greffes résistants considérée comme l'une des méthodes les plus efficaces de contrôle (**Korba et al., 2008**).

INTRODUCTION

CHAPITRE I : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

CONCLUSION

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

ANNEXE

1-Présentation de la Mitidja

La Mitidja est une région sublittorale plaine de l'Algérie, elle regroupe l'ensemble de terres fertiles, à faibles pentes et offre les meilleurs sols.

Elle est limitée au Nord par le sahel, au Nord Ouest par djebel Chenoua (905 m), et la retombée de la chaîne de Ben Mraade, avec le djebel Zaccar formant ainsi la plaine. Au Sud, par l'atlas blidéen, avec une altitude de 160 m au pic de Mouzaïa et 1692 m au djebel Guerroumen. A l'Est, se sont les hauteurs et les collines de basse Kabylie qui forment la plaine. La plaine ne s'ouvre directement sur la mer que sur une trentaine de kilomètres séparant l'oued Réghaïa et l'oued Boudouaou (**Mutin, 1977**).

La Mitidja a une latitude Nord moyenne 36 à 48 degrés et une altitude moyenne de 20 à 50 m. Elle s'étend sur une longueur de 100 km et une largeur de 5 à 20 km, sa superficie est de 140 000 hectares (**Cheverry et al., 1998**) (Figure 14).

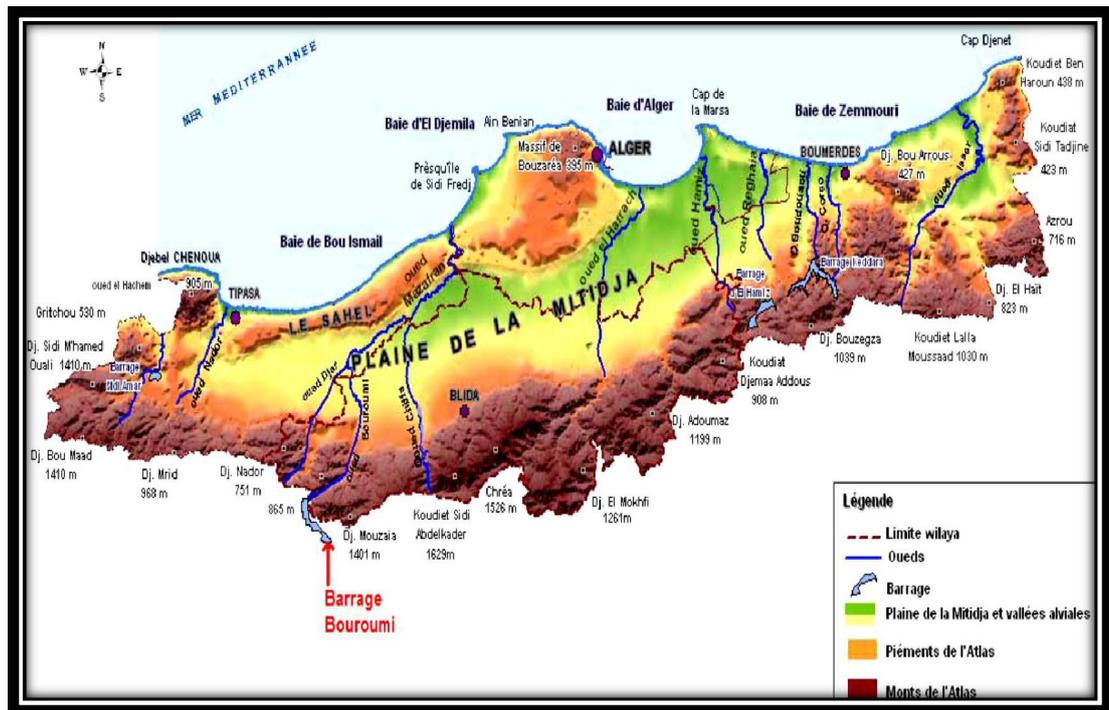


Figure 14: Limite géographique de la Mitidja (Namane, 2009).

2-Présentation des régions d'étude

Notre travail de prospection sur le dépérissement associé à la culture de poirier, pommier et cognassier causé par la maladie du feu bactérien a été réalisé dans la région de la Mitidja. Les vergers sont situés dans les trois wilayas: Médéa, Tipaza et Blida dans différentes communes El hamdania, Ouzera, Hattatba, Sidi Rached et Mouzaia. Nos sorties sur terrain se sont déroulées pendant la période allant du mois de Mars jusqu'à mai 2015.

- **El hamdnia** : Deux vergers des frères Mazouz de cognassier ont été visités. La superficie du premier verger est de 6 ha, âgé de 35 ans et le deuxième verger âgé de 30 ans s'étend sur une superficie de 4 ha (Figure08).



Figure 08: Image satellite du verger de cognassier à El hamdania de MAZOUZ (Verger 01) (36°18'26.60 Nord ; 2°48'10.53 Est) (**Google – Earth, 2015**).

- **Ouzera** : Le premier site est un verger de poirier variété Santa Maria. Il s'étend sur une superficie de 2 ha, âgé de 25 ans. Le second site est un verger de pommier variété de Golden Délicious, âgé de 30 ans et s'étend sur une superficie de 5 ha (Figure09).



Figure 09: Image satellite du verger de pommier à Ouzera ($36^{\circ}15'45.69$ Nord ; $2^{\circ}48'14.46$ Est) (Google – Earth, 2015).

- **Hattatba** : Deux sites de poirier plantés de la variété Santa Maria. le premier verger agé de 30 ans et s'étend sur une superficie de 5 ha et le deuxième site est un verger de superficie 6 ha, agé de 25 ans (Figure 10) et (Figure 11).



Figure 10: Image satellite du verger de poirier à Hattatba 1 (Verger 01) ($36^{\circ}34'10.18$ Nord ; $2^{\circ}40'36.86$ Est) (Google – Earth, 2015).



Figure 11: Image satellite du verger de poirier à Hattatba 2 (Verger 02) ($36^{\circ}34'10.18$ Nord ; $2^{\circ}40'36.86$ Est) (Google – Earth, 2015).

- **Sidi Rached** : Ce verger de poirier agé de 25 ans est constitué par la variété Santa Maria, s'étend sur une superficie de 5 ha (Figure 12).



Figure 12: Image satellite du verger de poirier à Sidi Rached ($36^{\circ}33'26.70$ Nord ; $2^{\circ}31'07.75$ Est) (Google – Earth, 2015).

- **Mouzaia** : Dans ce verger, la variété de poirier plantée est la Santa Maria, elle s'étend sur une superficie 6 ha, agé de 30 ans (figure 13).



Figure 1 3: Image satellite du verger de poirier à Mouzaia ($36^{\circ}26'49.75$ Nord ; $2^{\circ}40'19.71$ Est) (Google – Earth, 2015).

3-Etude climatique de la Mitidja

La Mitidja est caractérisée par un climat méditerranéen à hiver doux à froid et pluvieux avec une précipitation moyenne de 600 mm et à été chaud et secs (Namane, 2009), ce sont des conditions optimales et favorables pour le développement de plusieurs maladies comme le feu bactérien.

La Mitidja est caractérisée par une humidité importante surtout pendant les périodes matinales (Anonyme b, 2015).

Le vent, la grêle, la gelée et le brouillard sont des accidents climatiques, peuvent participer dans l'apparition et la diffusion de la maladie, ceci dans le cas où le nombre de jours est élevé et qu'ils coïncident surtout avec la période de la floraison (Palacio-Bielsa et al., 2009).

3.1- Diagramme ombrothémique de Gausсен de la Mitidja sur une période de 10 ans (2004-2014)

Afin d'obtenir le diagramme ombrothermique de Gausсен qui met en évidence de la période sèche de l'année, nous devons présenter les précipitations mensuelles (P) en mm et les températures (T) sur un même graphe en ordonnée avec $P=2T$ (Bagnouls et Gausсен, 1953) (Figure 15).

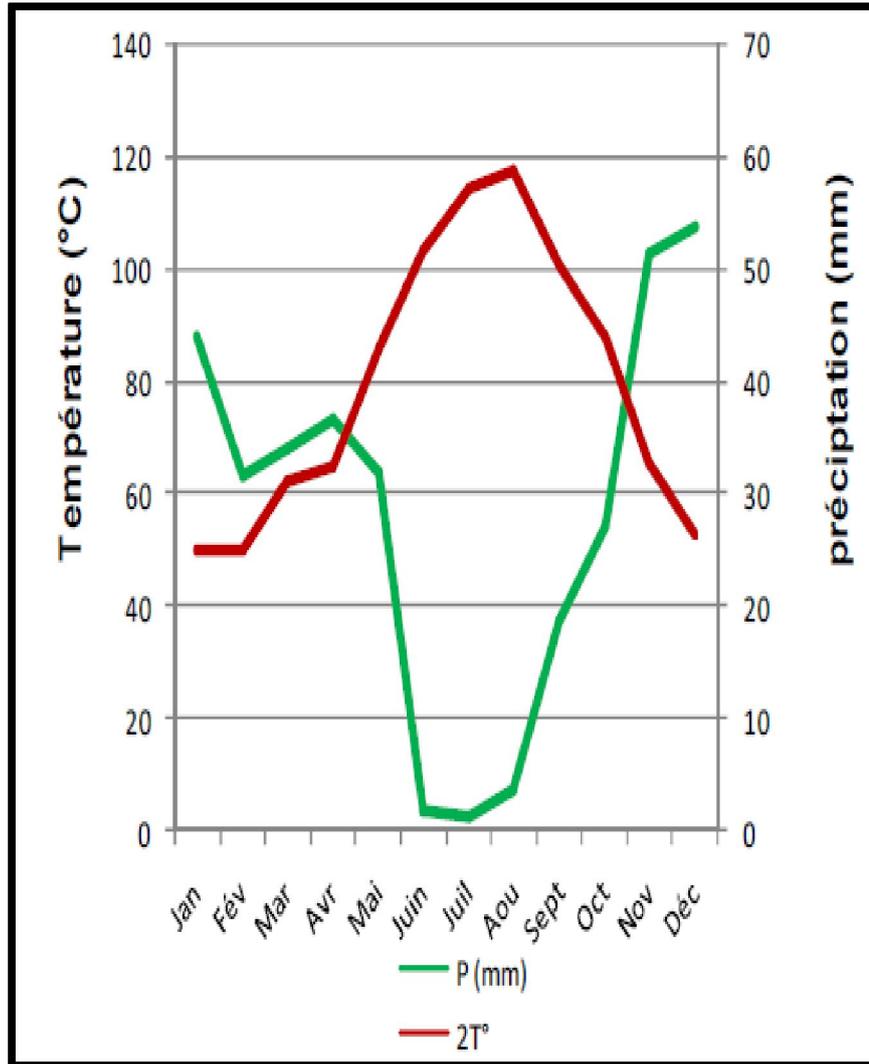


Figure 15: Diagramme ombrothermique de Gausson de la Mitidja sur une période de 2004-2014 (Anonyme b, 2015).

D'après l'analyse de la courbe de diagramme ombrothermique de Gausson de la Mitidja sur la période (2004-2014), on constate que la période sèche de ces années commence la fin avril et se termine vers la fin du mois d'octobre.

3.2- Climagramme d'Emberger

Le calcul du Q2 d'Emberger par la formule de Stewart (**Khanfouci, 2005**):

$$Q_2 = \frac{3.43 P}{M - m}$$

M : moyenne mensuelle en °C des températures maximales du mois le plus chaud.

m : la moyenne mensuelle en °C des températures minimales du mois le plus froid.

P : précipitations annuelles en mm.

Le Q2 d'Emberger de Mitidja sur la période (2004-2014) qui est de 72,3, montre que cette région est située dans l'étage bioclimatique SUB HUMIDE à la limite du SEMI-ARIDE (Figure 16).

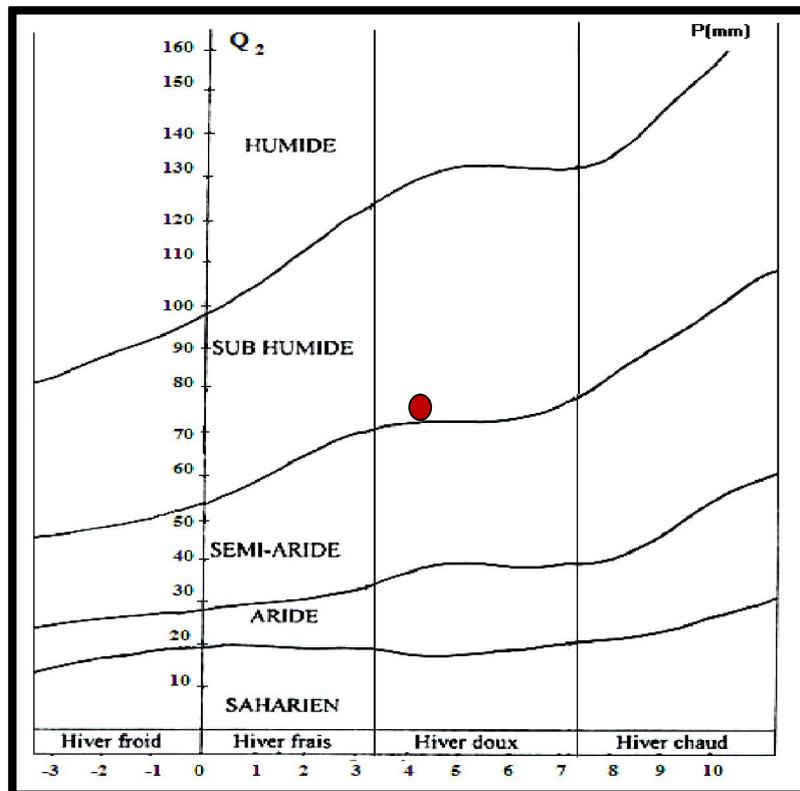


Figure 16: Place de la Mitidja dans le climagramme d'Emberger (**Anonyme b, 2015**).

Durant la campagne 2014–2015, les mois les plus froids sont le mois de décembre et le mois de janvier avec une température moyenne respectivement 11,5°C et 14,3°C par contre les mois les plus chauds sont respectivement les mois de juillet et septembre avec 26,6°C, 24,9°C.

Les mois les plus pluvieux sont le mois de mars et novembre avec 158,0 mm et 131,8 mm (**Anonyme b, 2015**).

4-Echantillonnage

Il a été effectué à partir du mois de Mars 2015 jusqu'à mai 2015 dans trois wilayas : Médéa, Blida et Tipaza à partir des communes suivantes : El hamdania, Ouzra, Mouzaia, Hattatba, Sidi Rached. Les prospections réalisées ont visé le prélèvement des échantillons présentant les symptômes du feu bactérien. En effet, il s'agit d'observer et de déceler les plantes présentant les symptômes caractéristiques et similaires de la maladie, par comparaison avec le profil symptomatique, et de prélever des échantillons correspondants. Ces symptômes typiques concernent la présence de chancres sur les troncs et les rameaux, le noircissement des bouquets floraux et du feuillage, la sécrétion des exsudats, le noircissement et le recourbement des jeunes pousses en crosse (**Olsen, 2011; Bünter et al., 2003**).

➤ Prélèvement des échantillons

Les prélèvements des échantillons ont été réalisés au hasard sur plusieurs arbres infectés. Les échantillons sont coupés à l'aide d'un sécateur désinfecté à l'eau de javel 12° avant et après chaque prélèvement ensuite placés dans des sachets en plastique stériles sur lesquels sont mentionnées toutes les coordonnées (la date, la superficie, la variété de l'hôte et la commune). Ces sachets sont alors conservés à 4°C au réfrigérateur du laboratoire.

Nous avons prélevé un total de 09 échantillons représentatifs (Tableau 2).

Tableau 2: Matériel végétal prélevé des échantillons présente des symptômes (Chancres, fleurs, feuilles, pédoncules et exsudats).

Les régions des vergers		Date de prélèvement	Nombre des échantillons	Organes
Médéa	El hamdania (Ham)	14/03/2015	03(Cognassier) 01 (néflier)	Les chancres
Tipaza	Hattatba (Att)	26/04/2015	02 (poirier variété Santa Maria)	Les exsudats sur les brindilles et pédoncules floraux.
Médéa	Ouzera (Ouz)	02/05/2015	01 (poirier variété Santa Maria) 01 (pommier Variété Golden Délicious)	Les chancres, Jeunes pousses, bouquets floraux
Tipaza	Sidi Rached (Sdr)	17/05/2015	01 (poirier variété Santa Maria)	Les exsudats sur les brindilles et pédoncules floraux.
Blida	Mouzaia (Moz)	17/05/2015	01 (poirier variété Santa Maria)	Les exsudats sur les brindilles et pédoncules floraux.

5-Isolement

L'isolement de la bactérie est la première étape pour le diagnostic au laboratoire, cette phase d'isolement doit utiliser des échantillons présentant les symptômes à partir des tissus végétaux ou des organes attaqués par le feu bactérien comme les rameaux, feuilles, fleurs, pédoncules et à partir des

exsudats. Ce travail a été effectué au laboratoire de phytobactériologie à l'université de Blida1.

5.1- A partir du fragment malade

Nous avons prélevé une partie malade et une autre saine à partir des tissus végétaux (fleurs, rameaux, feuilles) à l'aide d'un scalpel stérile désinfecté à l'alcool 75° puis trempé dans une solution d'hypochlorite de calcium pendant 2 à 3 min. La désinfection est suivie de trois rinçages successifs à l'eau distillée stérile.

A l'aide d'une pince stérile, les fragments coupés sont mis dans un flacon contenant l'eau distillée stérile puis sous agitation horizontale pendant 20 à 30 min. Un volume de 100 µl de la solution obtenue est étalé en boîtes de Pétri par la technique d'étalement en nappe à l'aide des billes en verre stériles. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque échantillon, l'une sur le milieu King B (**King et al., 1954**) et les deux autres sur le milieu levane (**OEPP, 2013**).

5.2- A partir des exsudats

Le prélèvement des exsudats bactériens se fait directement après flambage d'une anse à ensemencer. Les sécrétions ainsi prélevées sont mises dans des tubes contenant 2 ml d'eau distillée stérile par la méthode d'épuisement sectoriel sur les deux milieux de culture (King B et levane) en boîtes de Pétri. (**Klos et Ishimaru, 1984**).

6-Purification

Après incubation de cinq jours à 27°C, nous avons procédé à l'identification macromorphologique des colonies. Les colonies qui se rapprochent le plus des caractéristiques culturelles d'*Erwinia amylovora* sur le milieu choisi sont purifiées et re-purifiées dans les mêmes conditions précitées dans le milieu levane. Chaque colonie a été observée en vérifiant sa pureté culturelle, après plusieurs purifications, jusqu'à l'obtention d'une culture pure afin de réaliser les tests d'identification.

Les isolats obtenus ont fait l'objet d'une série des tests biochimiques et biologiques en présence d'un témoin positif (souche de référence *Erwinia amylovora*) et un témoin négatif (des tubes à essai non ensemencé), pour le test biologique le témoin positif souche de référence *Erwinia amylovora* fournie par un laboratoire de recherche d'Italie et le témoin négatif (l'eau distillée stérile).

7-Caractéristiques et identification de l'agent pathogène selon :

7.1-Les tests biochimiques

7.1.1- coloration de Gram

Cette méthode met en évidence des différences de structure, de composition chimique des parois bactériennes et leur réactivité vis-à-vis des colorants de GRAM.

On réalise un frottis sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne âgée de 24 à 72 heures puis on enflamme la lame ou on passe directement 3 fois la lame dans la flamme du bec Bunsen pour la fixation du frottis. La lame est plongée pendant 2 à 3 minutes dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau distillée stérile suivi par l'application d'une solution de lugol 2 à 3 minutes; ensuite un rinçage à l'eau distillée stérile. La décoloration est effectuée par un lavage des lames à l'alcool 75° pendant 30 secondes.

Après un lavage abondant avec un jet d'eau distillée stérile, le frottis subit une deuxième coloration à l'aide d'une solution de fuschine basique pendant 2 à 3 minutes suivies d'un rinçage à l'eau distillée stérile.

Ensuite une observation des frottis est réalisée au microscope optique grossissement 100X. Les isolats ayant une coloration violette sont Gram positifs tandis que ceux présentant une coloration rose sont Gram négatifs **(Hildbrand et al., 1988).**

7.1.2- Test de fluorescence sur milieu King B

Les colonies bactériennes âgées de 24 à 72 heures sont ensemencées en stries dans des boîtes de Pétri contenant le milieu KB. Après incubation pendant 48 heures à 25°C, nous révélons l'éventuelle fluorescence en éclairant la boîte avec la lampe à UV dans une pièce noire. Le test est positif s'il y a apparition de fluorescence allant du vert au bleu. Le test est négatif en l'absence de fluorescence (**Schaad et al., 2001**).

7.1.3- Activité levane sucrase

Le test levane sert à déterminer la polymérisation du fructose en polyfructose.

Le test consiste à prélever une colonie bactérienne (âgée de 24 à 72 heures) et l'ensemencer en stries dans une boîte de Pétri contenant du milieu levane. Incuber pendant environ 48 heures à 25°C (+/- 3°C). L'apparition d'une culture abondante, bombée, muqueuse, blanche et brillante après 1 à 2 jours à 25°C, indique une activité levane sucrase (test positif). En l'absence de ces caractéristiques, le test est négatif (**Lelliott et Stead, 1987**).

7.1.4- Test catalase

Ce test permet de déterminer la présence de l'enzyme catalase chez la bactérie servant à décomposer le peroxyde d'oxygène (H₂O₂). À l'aide d'une pipette pasteur stérile déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène (3%) sur une lame en verre stérile. Une culture bactérienne âgée de 24 heures est déposée dans la solution de peroxyde d'hydrogène à l'aide d'une anse à ensemencer en plastique stérile. Après 2 minutes, la présence de bulles révèle le dégagement d'oxygène et par conséquent une réaction positive (**Dickey, 1988**).

7.1.5- Test d'activité cytochrome oxydase

Le test oxydase permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme cytochrome C oxydase. Nous avons utilisé une goutte de réactif de N, N, diméthylparaphénylène diamine sur un papier buvard, pour réaliser une émulsion immédiate à l'aide de l'anse de culture sur le buvard imbibé. Le test

est considéré positif si une couleur rose violacée est apparue, Le test est négatif en l'absence de la coloration (**Klement et al., 1990**).

7.1.6- Métabolisme du glucose (oxydation /fermentation)

Une culture bactérienne âgée de 24 heures est ensemencée sur le milieu Hugh et Leifson (**Hugh et Leifson, 1953**). Ce milieu semi solide est utilisé pour différencier entre la voie oxydative et la voie fermentative des bactéries phytopathogènes (**Schaad et al., 1988**).

Pour le test d'oxydation, les bouchons des tubes à essai ne sont pas serrés et pour le test fermentation, une couche d'environ 1 cm d'huile de vaseline stérile est additionnée à la surface du tube à l'aide d'une seringue et un filtre stérile pour éviter tout contact avec l'air puis, sont incubés pendant 48 à 72 heures à 27°C.

La présence d'une coloration jaunâtre indique la fermentation du glucose par la bactérie. Une réaction négative pas changement de couleur le milieu reste bleu.

7.1.7- Test de transformation du sucrose

Le test sucrose sert à déterminer si la bactérie transforme le sucrose en une substance réductrice.

Une culture bactérienne de 24 heures est déposée à l'aide d'une anse stérile sur le milieu de culture liquide (**Schaad et al., 1988**). Ces tubes sont incubés pendant 24 à 72 heures à 27°C, après incubation, un volume de 2.5 ml du réactif de Bénédict est ajouté, ensuite les tubes sont mis dans un bécher contenant de l'eau bouillante sur une plaque chauffante. Une réaction est positive si le milieu devient jaune et est négative lorsque le milieu reste bleu-vert (**Schaad et al., 1988**).

7.1.8- Test de production d'indole

Une culture bactérienne âgée de 24 heures est déposée à l'aide d'une anse à ensemencer sur le milieu Indole liquide. A la suite de l'incubation, trois gouttes de réactif de Kovac's sont ajoutées. La lecture est immédiate, la présence d'un anneau rouge en surface indique une production de l'indole par

la bactérie à partir d'un acide aminé qui est le tryptophane, une réaction négatif montre un anneau jaune à la surface (**Schaad et al., 1988**).

7.1.9- Utilisation des citrates

Les colonies bactériennes âgées de 24 à 72 heures sont prélevées à l'aide d'une anse stérilisée à la flamme. L'ensemencement se réalise pente gélosée contenant le milieu citrate de Simmons par strie et l'incubation se fait à la température optimale de croissance de la bactérie (25°C +/-3°C). Les bactéries "citrate- positives" poussent sur le milieu de Simmons, en provoquant une alcalinisation du milieu (virage au bleu de la coloration du tube). Les bactéries "citrate- négatives" ne croissent pas sur le milieu (**Schaad et al., 2001**).

7.1.10- Croissance à 39°C

A partir d'une culture bactérienne jeune, une suspension bactérienne est préparée dans le milieu liquide 523. Après incubation pendant 24 à 72 h; s'il y a développement de la bactérie (apparition de trouble) le test est positif ; s'il n'y a pas apparition de trouble, le test est négatif (**Schaad et al., 2001**).

7.1.11-Test de liquéfaction de la gélatine

Les isolats bactériens sont ensemencés sur un milieu à base de gélatine. Après 7 jours d'incubation à 27°C. Les tubes sont placés dans un réfrigérateur à 4°C pendant 30 minutes. Un résultat positif est indiqué par l'hydrolyse de la gélatine et le milieu devient liquide, un résultat est négatif lorsque le milieu reste solide (**Schaad et al., 1988**).

7.2-Test biologique

7.2.1- Test d'hypersensibilité sur tabac (Schaad et al., 2001)

Le test biologique montre que les bactéries inoculées sont phytopathogènes (**Schaad et al., 2001**). Ce test d'hypersensibilité sur tabac (*Nicotiana tabacum* var. *White burley* au stade 5 feuilles) permet de mettre en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie par nécrose des zones d'inoculation (**Jones et Geider, 2001**).

Le test se réalise par une infiltration sous épidermique d'une suspension bactérienne d'une culture jeune de 24 à 72 heures sur la face inférieure du limbe foliaire de tabac (**Mabagala et Saettler, 1992**). La réaction d'hypersensibilité donne un signe à la présence des gènes de pathogénicité (*hrp*), les résultats sont apparus après 3–7 jours après infiltration des isolats bactériens ainsi que la souche de référence (**OEPP, 2013**).

Le témoin négatif consiste à infiltrer de l'eau distillée stérile au niveau du limbe foliaire.

Le test est considéré positif s'il apparaît au bout de 24 heures une plage nécrotique correspondant à la zone infiltrée. Si le résultat est inverse c'est-à-dire aucune réaction, il est négatif.

Résultats

1-Caractéristiques des symptômes obtenus sur terrain

Les caractéristiques des symptômes sur poiriers et pommiers ont été effectuées à partir du mois de mars 2015, étant la période de dormance jusqu'à la période de floraison allant du mois d'avril au mois de mai de la même année.

Période de dormance : le mois de mars représente la fin de période dormance. Pendant cette période, nous avons remarqué des chancres et des noircissements sur les troncs et les rameaux (Figure17 (A, B)).

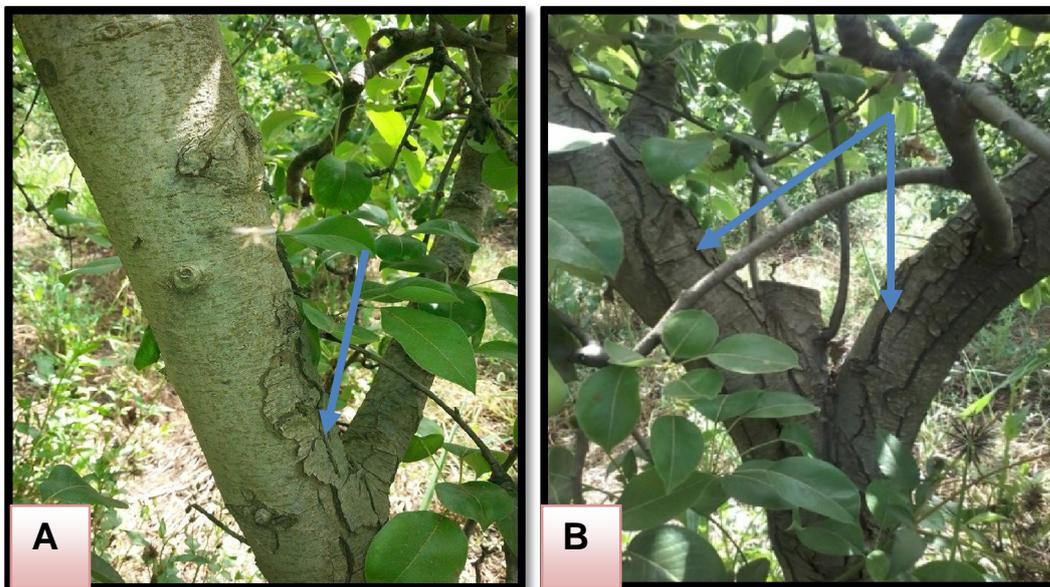


Figure17 (A, B) : Chancres déterminés sur les troncs et rameaux du poirier (Photos personnelles).

Période de floraison (avril /mai):Durant cette période nous avons observé un brunissement et noircissement des bouquets floraux, qui vont se prolonger vers le pédoncule floral avec l'apparition des exsudats sur ce dernier et sur les brindilles. (Figure 18(A, B, C, D)).

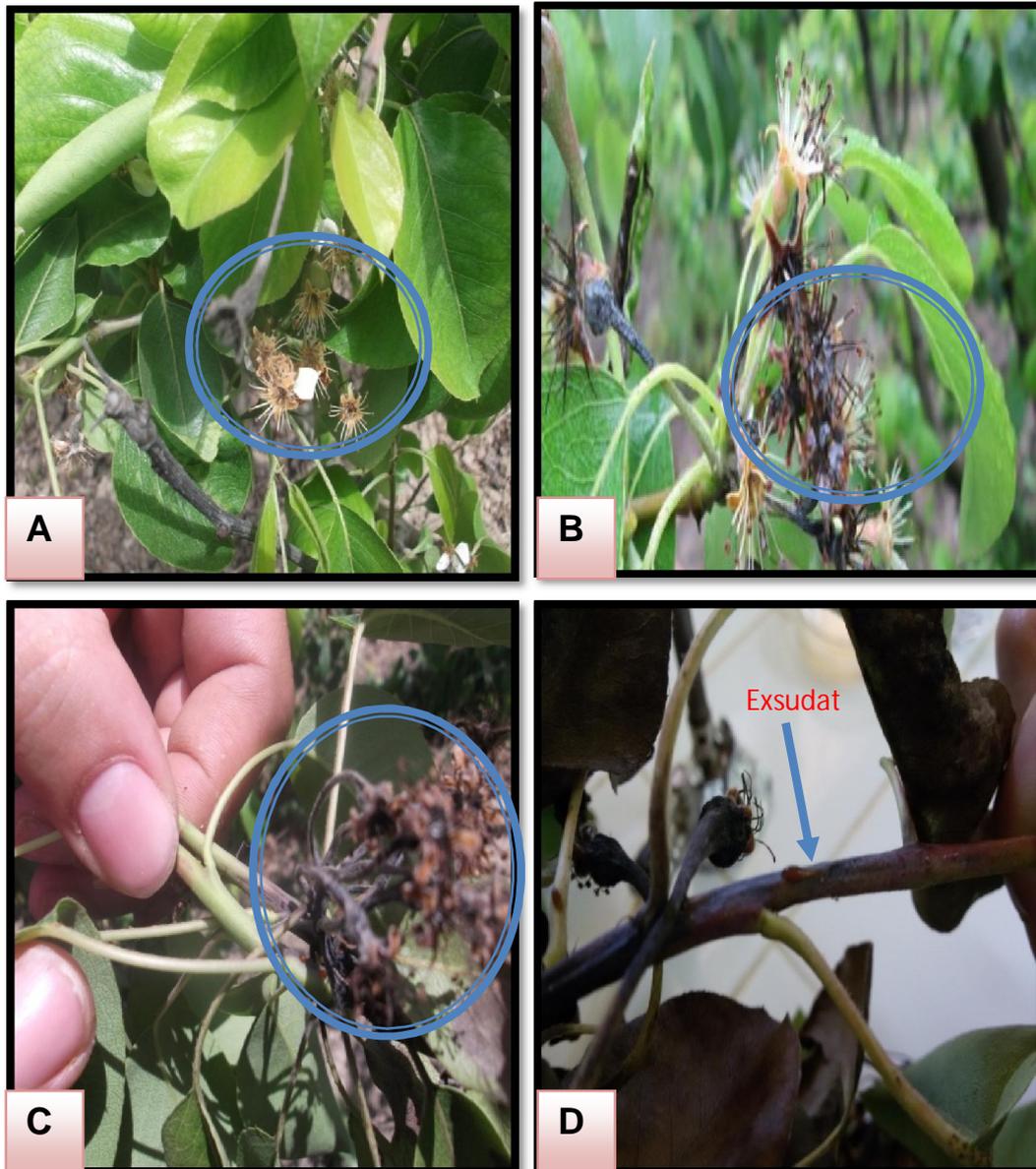


Figure 18(A, B, C, D): Brulûre et dessèchement les bouquets floraux, avec la présence des exsudats (Photos personnelles).

2- Résultats du diagnostic au laboratoire

2.1- Isolement et obtention des isolats bactériens

Après le prélèvement des 09 échantillons symptomatiques des vergers prospectés de cognassier, poirier et pommier, nous avons pu isoler sur le milieu de culture King B et levane, un total de 35 isolats bactériens purs obtenus à partir : des chancres, bouquets floraux, rameaux et exsudats.

2.2- Caractères morphologiques des isolats obtenus

D'après les observations macroscopiques des colonies bactériennes des 35 isolats obtenus sur les boîtes de Pétri, nous avons sélectionné 30 isolats bactériens purs ressemblant macroscopiquement aux caractères d'*Erwinia amylovora* en les comparant à la souche de référence.

Les caractères les plus apparents et fréquents sur le milieu levane chez *Erwinia amylovora* ; de couleur blanchâtre, circulaires, bombées, lisses, muqueuses, brillantes (Klos et Ishimaru, 1984; OEPP, 2013). Ces caractères des cultures bactériennes sont similaires aux isolats collectés ; brillantes et bombées et de diamètre variant de 1 à 3 mm (Figure 19 (A, B)). Parmi les colonies obtenus, il existe celles qui ont les caractères suivants: couleur crème, plate, circulaires, luisantes (Figure 19(C)). Elles ont été éliminées de la collection.

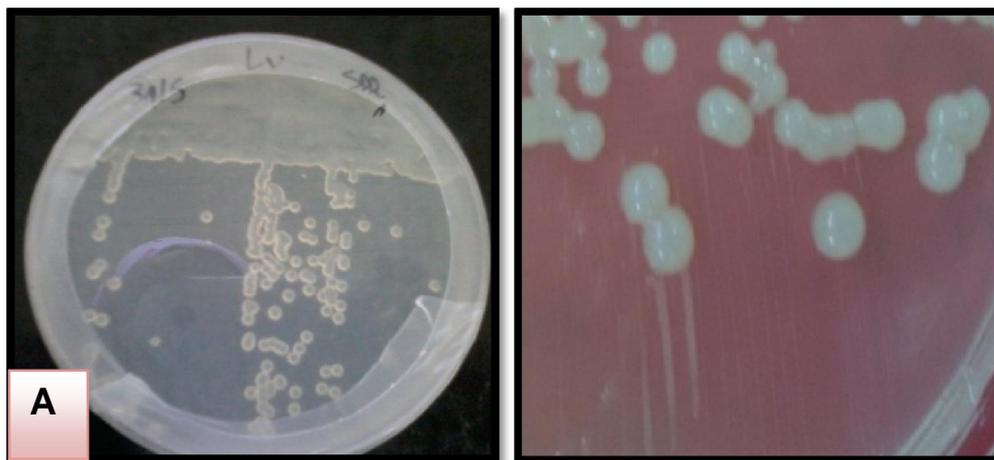


Figure 19(A): La structure des colonies pures, isolées sur milieu levane.

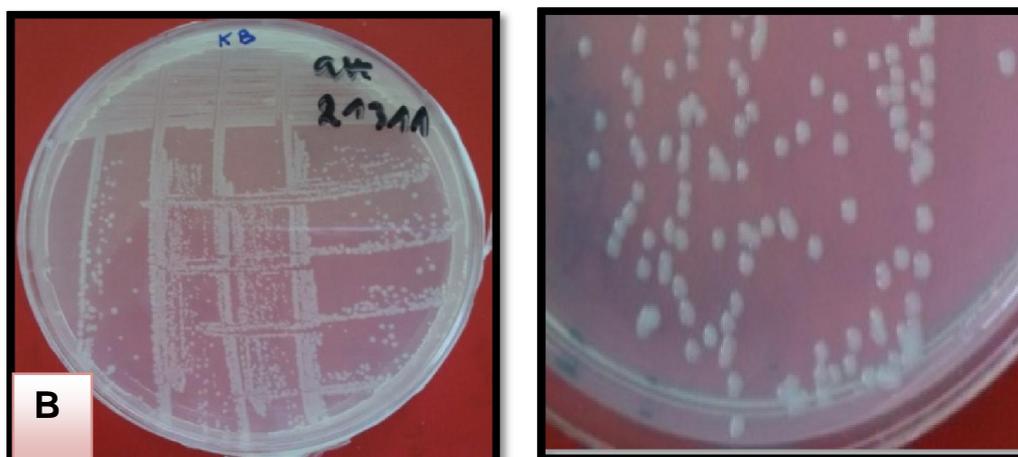


Figure 19(B): La structure des colonies pures, isolées sur milieu King B.

Figure 19(C): Colonies isolées à d'autres critères sur milieu levane.

Figure 19: La structure des colonies isolées sur les milieux de culture (king B et Levane) (photos personnelles).

2.3- Tests Biochimiques

La coloration de Gram est une méthode de base principale pour l'identification des bactéries (**Schaad, 1994**), après l'application ce test sur les 30 isolats, nous avons obtenu 28 isolats classés parmi les bactéries à Gram négatif et les deux isolats qui restent (Ouz1 et Ouz2) sont des Gram positifs (Figure 20).

Les frottis ont été observés au microscope optique grossissement 1000 X. sont à Gram-négatifs et apparaissent de couleur rose en forme de bâtonnet (**Hauben et Swings, 1999**).

Les résultats des tests d'identification (biochimiques, biologique) sont mentionnés dans le tableau 3.

-Le résultat du test de fluorescence sur King B (Figure 21) est négatif pour toute la collection bactérienne et la souche de référence à l'exception des isolats Ham312, Ham13111et Ham211, qui ont montré une fluorescence.

-Nous avons obtenu des résultats positifs sur le test production de levane pour l'ensemble des isolats ainsi que la souche de référence (figure 22).

-Le test de production de cytochrome oxydase est négatif pour toute la collection des isolats bactériens sauf Ham212, qui est oxydase positif (Figure 23).

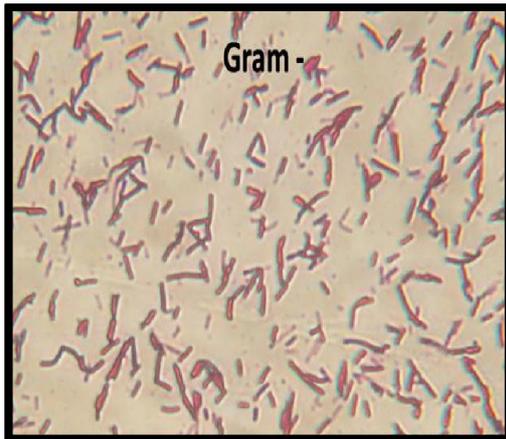


Figure 20: Résultat du test coloration de Gram.

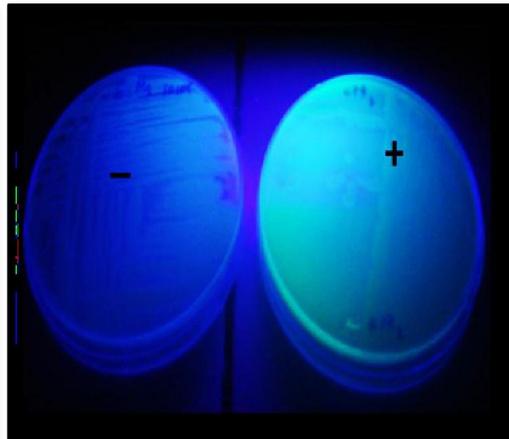


Figure 21: Résultat de fluorescence sur King B.

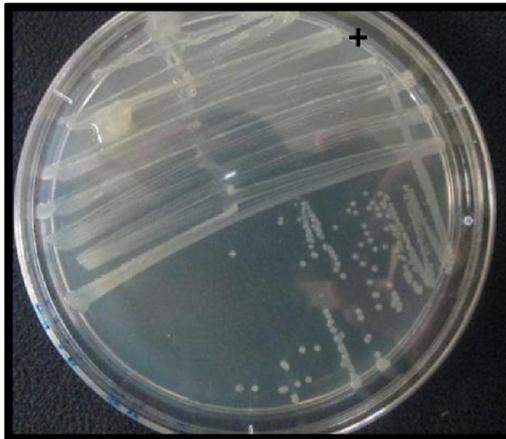


Figure 22: Croissance sur le milieu de levane.



Figure 23: Résultat d'activité cytochrome oxydase.

-Pour le test de catalase, l'ensemble des souches bactériennes ont montré une réaction positive (Figure 24).

-Le résultat du test de production d'indole est négatif pour l'ensemble des souches isolées et la souche de référence (Figure 25). Les bactéries isolées n'ont pas synthétisé l'enzyme tryptophanase qui dégrade l'acide aminé Tryptophane (Schaad *et al.*, 1988).

- La conséquence du test d'oxydation/fermentation est positive pour l'ensemble des isolats étudiés (Figure 26(A, B)).

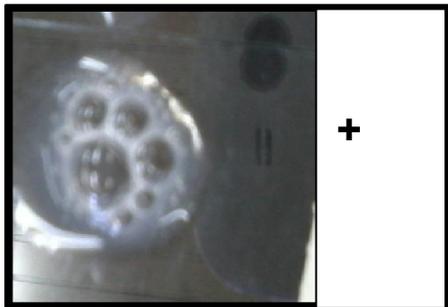


Figure 24: Résultat du test catalase.

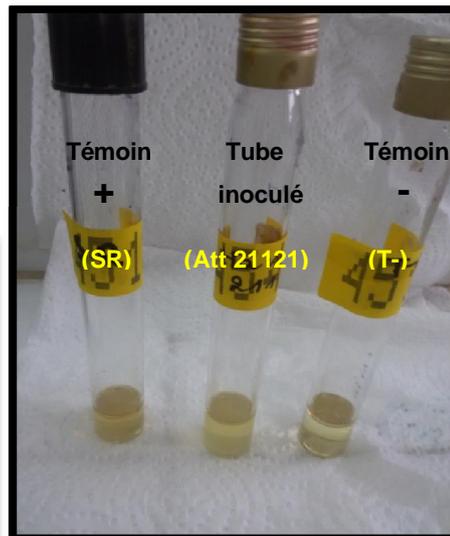


Figure 25: Résultat du test de production d'indole.

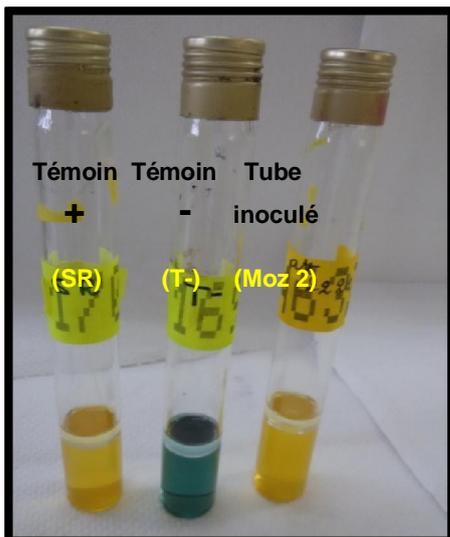


Figure 26(A)

Témoin	Témoin	Tube
+	-	inoculé
(SR)	(T-)	(Moz 2)

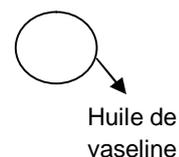


Figure 26(B)

Figure 26(A, B) : Résultat d'oxydation/ fermentation.

-Les résultats obtenus des tests de la liquéfaction de gélatine et transformation de sucrose sont des réactions positives pour l'ensemble des souches isolées et la souche de référence à l'exception de l'isolat Ouz1 et le témoin négatif ont montré des réactions négatives dans le test transformation de sucrose (Figure 27) (Figure 28).

-Les résultats sont positifs pour l'ensemble d'isolats après la réalisation du test citrate de Simmons montrant un changement de couleur du milieu du vert au bleu dans les tubes ensemencés(Figure29).

-Nous avons obtenu des résultats négatifs pour toute la collection, se traduisant par l'absence de croissance des colonies bactériennes à 39°C (Figure 30).

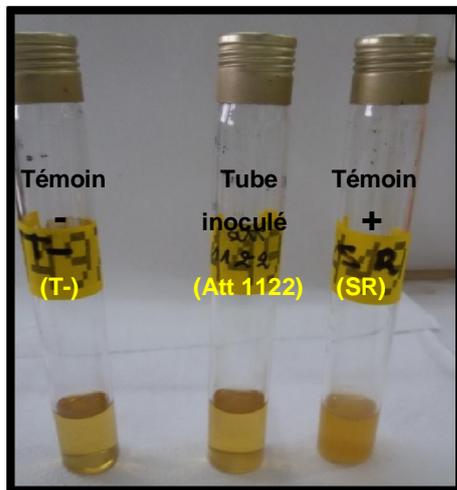


Figure 27: Résultat de liquéfaction de gélatine.

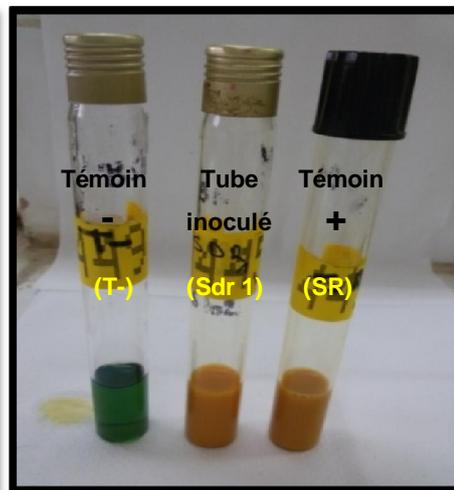


Figure 28: Résultat de transformation de sucrose.



Figure 29 : Résultat d'utilisation de Citrate.

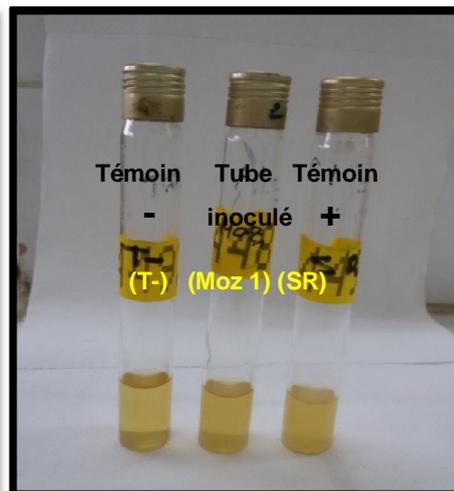


Figure 30 : Résultat de croissance à 39°C.

2.4- test d'hypersensibilité sur tabac

Les résultats sont positifs pour l'ensemble d'isolats après infiltration du tabac montrent des zones foliaires légèrement translucides à un aspect humide. Après 24 heures d'inoculation un dessèchement gagne les tissus inoculés et 48 heures après l'inoculation des nécroses sont évidentes sur (Figure 31 (A, B)). Le résultat de témoin est négatif (C).



Figure 31(A): Résultat

d'hypersensibilité souche isolé.



Figure 31(B): Résultat d'hypersensibilité

de la souche de référence



Figure 31(C): Témoin négatif d'une inoculée à l'eau distillée stérile.

Figure 31 : Résultat d'hypersensibilité sur tabac.

Discussion

Notre travail a été réalisé durant la période début du mois de mars jusqu'au mois de juin 2015, afin de détecter et identifier la présence de la maladie du feu bactérien dans la région de la Mitidja plus précisément dans les stations suivantes (El Hamdania, Ouzera, Hattatba, Sidi Rached et Mouzaia). Le diagnostic macroscopique (visuelle) des vergers visités (poirier, pommier et cognassier) montrent les signes et les symptômes similaires du feu bactérien à savoir la présence des chancres, brûlures des bouquets floraux, formation d'exsudats, les feuilles et fruits qui restent attachés aux arbres, et le symptôme caractéristique « courbure en crosse ». Ces symptômes correspondaient exactement à ceux du feu bactérien qui ont été décrits en bibliographie (**Van der Zwet et Beer, 1995**).

Les symptômes primaires de la maladie du feu bactérien sont apparus durant la période de dormance, nous avons observé des chancres sur les troncs et les rameaux des arbres fruitiers.

L'évolution de la maladie du feu bactérien dépend de la quantité et de la virulence de cet agent pathogène, des conditions environnementales favorables et le degré de sensibilité de l'hôte à la maladie (**Schroth et al., 1974 ; Palacio-Bielsa et al., 2009**).

Le climat de Mitidja est favorable pour le développement de cette maladie en particulier durant la période de floraison, surtout pendant le mois d'avril et mai. En effet, la température ($\geq 18^{\circ}\text{C}$) et l'humidité ($> 50\%$) sont des conditions optimales pour la croissance de la bactérie *Erwinia amylovora* et la formation des symptômes bien visibles sur les organes des plantes (**van der Zwet y Beer, 1995 ; Thomson, 2000**).

Il a été enregistré durant la période de floraison 2014-2015, une température moyenne de $19,7^{\circ}\text{C}$ avec une pluviométrie de 101,5 mm, Ces conditions climatiques sont très optimales et favorables pour la multiplication et la dissémination de la maladie.

La sensibilité des plantes hôtes envers le feu bactérien, dépend de la variété et l'âge de la plante. En effet, parmi les plantes hôtes du feu bactérien

le poirier, plus précisément la variété Santa Maria s'avère la plus sensible et pour l'âge, généralement les plantes âgées de plus de 20 ans, sont plus sensibles à cette maladie et les autres maladies phytopathogènes (**Diop, 2007; Granatstein et al., 2011**).

A partir du diagnostic de la maladie sur terrain durant la campagne 2014-2015, nous avons observé des symptômes similaires et plus fréquents du feu bactérien au niveau des vergers de poirier sur la variété la plus présente qui est la Santa Maria, sachant que cette variété est très répandue en Algérie.

Plusieurs facteurs peuvent être impliquées dans la dissémination de la maladie par des vecteurs comme le vent, la pluie et les insectes surtout les abeilles (**Olsen, 2011**).

Le vecteur le plus important qui permet la transmission de la maladie du feu bactérien, sont les abeilles. La présence des ruches à l'intérieur des vergers ou dans une région près des vergers favorise la propagation et la dissémination du feu bactérien dans le verger lui-même et les vergers adjacents. Vous avez observé la localisation des ruches à l'intérieur du verger prospecté comme le verger de Mouzaia et la présence des abeilles dans le verger de Hattatba1 mais les ruches se trouvent un peu éloignées à 10 m du verger.

Concernant la pratique de la taille qui est un facteur principal de la dissémination de la maladie, tous les arboriculteurs effectuent la taille par un sécateur sans désinfection. Cette opération permet l'augmentation du taux de propagation de la maladie. De plus, la taille est mal pratiquée parce que nous avons trouvé des débris qui ne sont pas ramassés, ni brûlés, ainsi les fruits momifiés de l'année précédente restent attachés aux arbres ce qui constitue une grande source d'inoculum primaire responsable d'infection. Dans notre travail, les débris de la taille ne sont pas ramassés ni brûlés dans deux vergers, le verger MAZOUZ de cognassier et le verger de poirier à Sidi Rached.

Dans notre travail de diagnostic symptomatologique, il était nécessaire de passer au laboratoire par l'utilisation du matériel végétal symptomatique

(chancres et bouquets floraux, exsudat) pour isoler et identifier l'organisme à l'origine des symptômes induits **(OEPP, 2013)**.

L'isolement à partir des échantillons collectés dans les vergers de cognassier, poirier et de pommier a permis l'obtention des isolats bactériens.

Ces souches caractérisées par voie macroscopique ressemblaient aux caractères culturels des souches d'*Erwinia amylovora* de forme circulaire, lisses, bombées et brillantes **(Klos et Ishimaru, 1984; OEPP, 2013)**.

La confirmation au laboratoire s'effectue par la réalisation de plusieurs tests biochimiques (coloration de Gram, fermentation du glucose, transformation du sucrose, indole, utilisation du citrate...) et par le test biologique (test d'hypersensibilité sur le tabac) **(Anonyme c, 2005 ; OEPP, 2012)**.

La conséquence des résultats à partir la série des tests biochimiques et le test biologique, sur les colonies isolées et purifiées, a révélé la présence des 24 souches ont été identifiées comme *Erwinia amylovora-like* ayant montré des résultats similaires à ceux de la souche de référence en comparaison avec le témoin négatif.

D'après les résultats obtenus dans la présente étude sur le terrain et par les tests réalisés au laboratoire, nous pouvons dire que la maladie du feu bactérien est présente dans les vergers de poirier prospectés d'Hattatba1 et 2, Sidi Rached et Mouzaia. En fait, en 2011 et 2013 des travaux d'ingénieurs d'état en science agronomiques à l'université Blida1 ont été réalisés sur la détection de la maladie du feu bactérien à Blida respectivement dans les communes de « Mouzaia, Chiffa » et « Chiffa, Boufarik et Oued El Alleug ») et ont affirmé la présence de cette bactériose dans ces régions **(Djellouli et Hammar, 2011 ; Nouni, 2013)**.

La présence du feu bactérien en Algérie a été signalée en 2011. Mais la maladie persiste jusqu'à ce jour en 2015. Nous n'avons pas constaté l'adoption d'une stratégie de la lutte coordonnée entre les arboriculteurs et les instances concernées. Nous avons également remarqué qu'il y a un manque de professionnalisme chez les arboriculteurs et l'absence des annonces soit sur papier (journaux) ou par des média (TV et les radios). Ce dernier permet

un manque d'empressement des agriculteurs à suivre les conseils qui leur sont prodigués et d'appliquer les méthodes de protection de nos vergers.

La lutte contre le feu bactérien est difficile, comme toute lutte contre des organismes de quarantaine, elle se base généralement sur des méthodes préventives. Mais le problème est qu'il n'existe pas de produits de traitements efficaces pour lutter contre cette infection.

Pour contrôler une maladie de quarantaine comme le feu bactérien, il faut appliquer plusieurs méthodes de lutte avec une cascade des itinéraires techniques pour limiter l'épidémie de ce fléau. La première technique, il est utile de contrôler chaque année toutes les espèces ornementales, les vergers et les pépinières de variétés fruitiers très sensibles au feu bactérien (**Paulin et al., 1996**).

L'application des traitements préventifs à base de cuivre sur les vergers touchés par le feu bactérien est nécessaire pour protéger et diminuer la gravité de cette maladie (**Psallidas et Tsiantos, 2000**).

Dès que les premiers symptômes de la maladie apparaissent, il faut tailler par un matériel désinfecté à 70 centimètres en dessous des symptômes, couvrir les blessures de taille avec du mastic et badigeonner les chancres avec un bactéricide. Ainsi, il est nécessaire de brûler les débris et de pratiquer l'arrachage et l'incinération des plants les plus atteints (**Giraud et al., 1996 ; Saoud et Mniai, 2010**).

Il est obligatoire d'appliquer des lois strictes interdisant le transport du matériel végétal d'un endroit où la maladie existe déjà vers un autre indemne et d'empêcher le déplacement des ruches pendant la période de la floraison pour protéger les vergers sains (**Fransesco, 2002**).

Il vaut mieux surveiller toutes les importations de matériel végétal sensible au feu bactérien comme les porte-greffes. Il faut exiger au pays exportateurs un certificat phytosanitaire attestant que les plants importés ont été contrôlés et sont indemnes du feu bactérien (**Saoud et Mniai, 2010**).

Cette maladie classée dans le groupe des maladies de quarantaine. Pour obtenir une fiabilité des résultats, il est important d'améliorer les outils de détection des agents phytopathogènes. L'utilisation des méthodes plus fiables sont utiles pour donner des résultats probants telles que les techniques moléculaires comme la PCR classique, la PCR en temps réel et les tests ELISA (l'Immunofluorescences avec l'utilisation des anticorps monoclonaux spécifiques de chaque pathogène) (**Powney et al., 2011 ;Philion, 2012**).

L'inspection des vergers par les services phytosanitaires constitue une pratique importante dans le cadre de surveillance et la recherche des foyers surtout dans le cas des maladies de quarantaine comme le feu bactérien.

-Pour le test de catalase, l'ensemble des souches bactériennes ont montré une réaction positive (Figure 24).

-Le résultat du test de production d'indole est négatif pour l'ensemble des souches isolées et la souche de référence (Figure 25). Les bactéries isolées n'ont pas synthétisé l'enzyme tryptophanase qui dégrade l'acide aminé Tryptophane (**Schaad et al., 1988**).

- La conséquence du test d'oxydation/fermentation est positive pour l'ensemble des isolats étudiés (Figure 26(A, B)).

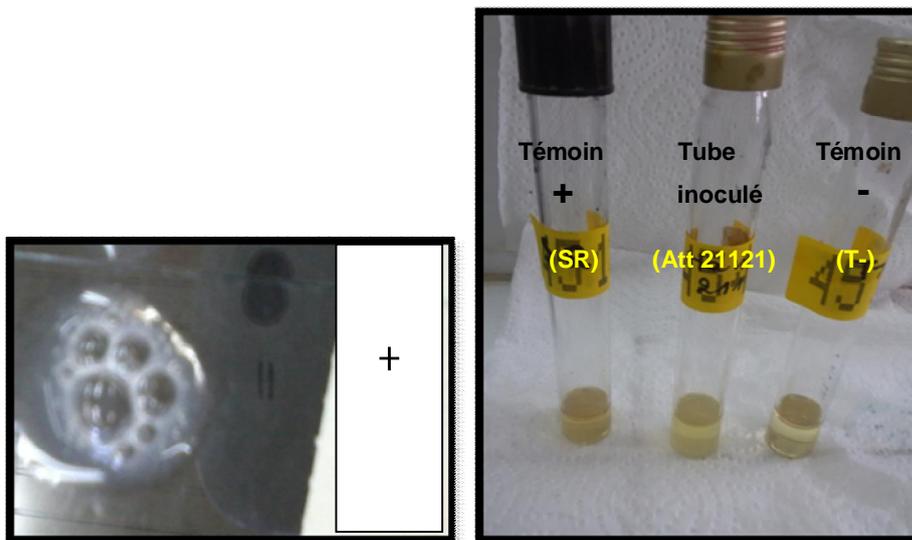


Figure 24: Résultat du test catalase.

Figure 25: Résultat du test de production d'indole.

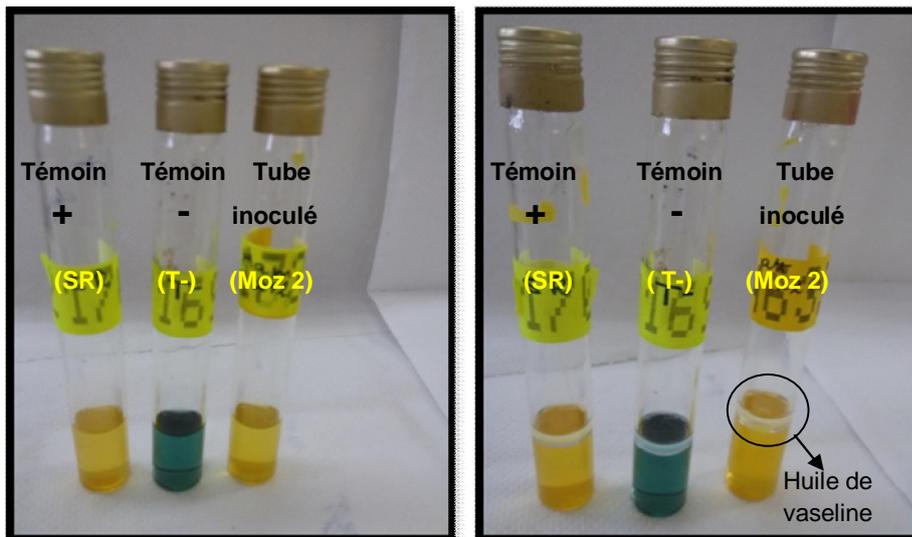


Figure 26(A): Résultat d'oxydation. Figure 26(B): Résultat de fermentation.

Figure 26 : Résultat d'oxydation/ fermentation.

Tableau 3: Résultat des tests d'identification (biochimiques, biologique).

Tableau 3		Tests biochimiques											Test biologique
	souches	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
Vergers	Souche de référence	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	El hamdania												
	Ham 13111	-	+	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Ham 211	-	+	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Ham 212	-	-	+	+	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Ham 312	-	+	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
Hattatba	Att 111	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 1121	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 1122	-	-	+	-		-	FL	+	+	+	-	+
	Att 11311	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 11312	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 12	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 1312	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 21121	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 21123		-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 21311	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+

	Att 21312	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 2133111	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 213421	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 213422	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 2134111	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 2134112	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 2221	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 2222	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 2311	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Att 2312	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
Ouzera	Ouz 1	+	-	+	-	+	-	FL	+	-	+	-	+
	Ouz 23	+	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
Sidi rached	Sdr 1	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Sdr 3	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
Mouzia	Moz 1	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+
	Moz 2	-	-	+	-	+	-	FL	+	+	+	-	+

T1: Test coloration de Gram, **T2:** Test de fluorescence sur KingB, **T3:** Test levane sucrase, **T4:** Test d'activité cytochrome oxydase, **T5:** Test catalase, **T6:** Test production d'indole, **T7:** Test oxydation/ fermentation, **T8:** Test liquéfaction de gélatine, **T9:** Test transformation du sucrose, **T10:** Test d'utilisation du citrate, **T11:** Test de croissance à 39°C, **T12:** hypersensibilité sur tabac, **FL:** Fermentatif lent, **+** : Réaction positive, **-** : Réaction négative.

Conclusion

Le feu bactérien est une crise commerciale, il cause un grand problème phytosanitaire surtout pour les arbres fruitiers à pépins et plus particulièrement sur les plants de poirier, pommier et cognassier dans plusieurs régions du monde.

La présence des symptômes similaires de la maladie du feu bactérien a été signalée récemment en Algérie (2011) dans plusieurs régions.

Le développement des symptômes de cette maladie est lié aux facteurs climatiques particulièrement l'humidité, la sensibilité variétale et la présence des vecteurs potentiels surtout les abeilles pour la propagation de la bactériose. En effet, dans les vergers de poiriers sont les plus attaqués et on a enregistré une perte de rendement plus précisément des variétés cultivées à grande échelles qui sont très sensibles comme Santa Maria.

Au terme de notre travail d'identification de la maladie du feu bactérien, nous avons prospecté des vergers différents de : poirier, pommier et cognassier dans la région de Mitidja dans trois wilayas ; Médéa, Tipaza et Blida. A partir du diagnostic sur terrain, on a observé les mêmes symptômes du feu bactérien : des chancres et noircissement des bouquets floraux et présentation des exsudats bactériens.

D'après l'isolement de l'agent pathogène au laboratoire à partir des échantillons symptomatiques sur deux milieux de culture levane et King B, nous avons collectées 30 isolats bactériens purs.

Ces isolats ont fait l'objet d'une série de tests biochimiques et le test d'hypersensibilité sur tabac. Ce diagnostic a révélé 24 souches d'*Erwinia amylovora-like* présentes dans les vergers de poirier des zones, (Hattatba 1 et Hattatba 2, Sidi Rached et Mouzaia). Ces souches possèdent le même profil décrit dans le protocole suivi durant notre expérimentation et celui de la souche de référence.

Le feu bactérien, est une maladie causée par la bactérie *Erwinia amylovora* qui fait partie des organismes nuisibles de quarantaine réglementés (liste A2 de l'OEPP), contre laquelle la lutte est obligatoire

(OEPP, 1983).C'est pour cela qu'il faut choisir une lutte adéquate à l'agent causal de cette maladie.

La meilleure stratégie de lutte réussie c'est la lutte intégrée, incluant l'usage de pesticides biologiques, des antagonistes, les huiles essentielles et l'utilisation des variétés résistantes peuvent être efficaces pour contrôler la maladie.

Cette étude a confirmé la présence d'*Erwinia amylovora* dans la région de Mitidja exactement dans les willayas de Tipaza et Blida en 2015, ces résultats donnent des informations très importantes sur les vergers étudiés qui sont atteints dans des endroits déférents pour lutter et éviter la propagation de la maladie à l'échelle nationale.

Pour la continuation de cette étude, il est nécessaire d'identifier l'agent causal d'*E. amylovora* par des moyens actuels et fiables tels que les tests ELISA et les techniques moléculaires basés sur des variantes de la réaction de polymérisation en chaîne PCR classique et la PCR en temps, et recherche des autres programmes de lutte comme biologique, utilisée les organismes antagonistes a base des bactéries (*Pseudomonas fluoresces*, *Pantoea agglomerans*) ou les extraits des plantes(les huiles essentielles) par la modification de la sensibilité des plantes aux bioagresseurs par élicitation des défenses naturelles de la plante pour éviter la persistance des résidus dans les plantes et le sol pour la prévention de la santé humaine et la pollution d'environnement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Agrios, 2004.** Plant pathology, Elsevier Academic Press. ISBN 0-12-044565-4. Ed 05. p 641-647.
- **Alfano J.R and Collmer A ,1997.** the type III secretion pathway of plant pathogenic bacteria :trafficking harpins.Avr proteins and death.J Bacteriol 179 :5655-5662 .
- **André T, 1985.** Les maladies des plantes ornementales, MMontagneux Gérald, édition MAT.145-146.
- **Anonyme a, 2015.** Google image.
<http://www.ecosociosystemes.fr/pgrammoins.jpg>.
- **Anonyme b, 2015.** Agence Nationale des Ressources Hydrauliques (ANRH).
- **Anonyme c, 2005. Institut National de la Protection des Végétaux.** Mise en évidence d'*Erwinia amylovora* à partir de végétal symptomatique par isolement et identification de la souche, Méthode BL/05/07 version a. Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et de la ruralité, 12 p.,pp. 3.
- **Bagnouls F, Gaussen H, 1953.** Saison et indice xérothermique .Doc .Cart .Prod .Vég.Serv.Gén.II.I.art.VIII.Toulouse:47P.
- **Balaž J., Grahovac M., Radunović D., Iličić R., et Krstić M., 2013.** The Status of *Erwinia amylovora* in the Former Yugoslav Republics over the Past Two Decades, *University of Montenegro* ,Phytomed. (Belgrade), 28(1), 2013, 9–22.
- **Balduque R., M., Cambra A., Lozano C. 1996.** El fuego bacteriano de las Rosáceas (*Erwinia amylovora*). Informaciones Técnicas, 1/1996. Dirección General de Tecnología Agraria, Departamento de Agricultura, Gobierno de Aragón.
- **Belleman P and Geider K, 1992.** Localization of trasposon insertions in pathogenicity mutants of *Erwinia amylovora* and their biochemical characterization. *Journal of General Microbiologist* 138: 931-940.
- **Bernhard F., Coplin DL., Geider K, 1993.** A gene cluster for amylovoran synthesis in *Erwinia amylovora*: characterization and relationship to cps gene in *Erwinia stewartii*. *Mol Gen Genet* 239:158-168.

- **Billing E, 1974.** Environnemental factors in relation to fire blight. In the XIX th International Horticultural Congress, Warsaw.365-372.
- **Billing E, 1975.** Fire blight (*Erwinia amylovora*). In climate and the orchard. H. C.Pereira. C.A.B Research. Review N°5, 130-133.
- **Blair D.F, 1995.***How bacteria sense and swim. Annu Rev Microbiol 49:489-522.*
- **Bobev S., Garbeva P., Crepel C., Maes M., Hauben L., Momol M.T., Saygili H., 1999.** Fire blight in Bulgaria - characteristics of *E. amylovora* isola-tes. *Acta Horticulturae* 489: 121-126.
- **Bocsanczy A.M., Nissinen R.M., Oh C.S., Beer S.V., 2008.** HrpN of *Erwinia amylovora* functions in the translocation of DspA/E into plant cells. *Mol Plant Pathol* 9:425-434.
- **Bonn, W.G, Van der zwet, T, 2000.** Distribution and economic importance of fire blight: 37-54. En: J.L. Vanneste (ed.). *Fire blight. The disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. CABI Publishing, Wallingford, UK. ISBN: 0-85199-294-3.
- **Bugert P., and Geider K., 1995.** Molecular analysis of the *ams* operon required for exopolysaccharide synthesis of *Erwinia amylovora*. *Mol Microbiol* 15:917-933.
- **Bünter M., Popow G., Strickhof., Lindau .Z.H., Holliger.E., Vogelsanger.J.,Schoch.B., 2003.** Feu bactérien: contrôlez vos arbres. pp 2.
- **Burrill T.J, 1882.** New species of *Micrococcus*. *Am. Naturalist*. 17: 319. Byrd,
- **Burrill T.J, 1883.** New species of *Micrococcus*. *American Naturalist*, 17: 319-320.
- **Brenner DJ, 1984.** Family I. Enterobacteriaceae. In: Krieg NRA, Holt JG, eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1. Baltimore, USA: The Williams and Wilkins Co, 408-420.
- **Cambra, 2002.**Diagnóstico y detección de bacteriasfitopatógenas, *Patología Vegetal*. Sociedad Española de Fitopatología.
- **Cheverry C. and Robert M, 1998.** La dégradation des sols irrigués et de la ressource en eau : une menace pour l'avenir de l'agriculture et

- pour l'environnement des pays au sud de la Méditerranée. *Étud. Gestion Sols*, 5(4), 217-226.
- **Costerton J.W., Cheng K.-J., Geesey G.G., Ladd T.I., Nickel J.C., Dasgupta M. and Marrie T.J., 1987.** Bacterial biofilms in nature and disease. *Ann. Rev. Microbiol.* 41:435-464.
 - **da Cunha L., Sreerekha M.V. and Mackey D., 2007.** Defense suppression by virulence effectors of bacterial phytopathogens. *Current Opinion in Plant Biology*, 10: 349-357.
 - **Delaunay-Cesbron S, 2009.** Interaction entre des mutants *hrp* d'*Erwinia amylovora*, agent du feu bactérien, le parent pathogène et la plante hôte : recherche de mécanismes modulant la compatibilité, Université d'Angers. Thèse doct. N° d'ordre 931 : 3-15.
 - **Dellagi A., Brisset M.N., Paulin J.P., Expert D., 1998.** Dual role of desferrioxamine in *Erwinia amylovora* pathogenicity. *Mol Plant Microbe Interact* 8:734-742.
 - **Denny T, 1995.** Involvement of bacterial polysaccharides in plant pathogens. *Annu rev phytopathol*, 33, 173-197.
 - **Diop C.S, 2007.** Identification de l'agent causal du feu bactérien des rosacées à pépins au Maroc *Erwinia amylovora*, *Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II*. Mémoire de Troisième cycle: 6-9.
 - **Djellouli A et Hammar F, 2011.** Diagnostic et recherche de foyers du feu bactérien dans quelques vergers de poirier de la Mitidja-Ouest, isolement et identification préliminaire. Thèse d'ingénieur.
 - **Dow J.M., Osbourn A.E., Wilson T.J.G., Daniels M.J., 1995.** A locus determining pathogenicity of *Xanthomonas campestris* is involved in lipopolysaccharide biosynthesis. *Mol Plant-Microbe Interact* 8:768-777.
 - **Dye DW, 1983.** *Erwinia: The "amylovora" and "herbicola" groups.* In P.C. Fahy and G.J. Persley ed. *Plant bacterial diseases. A diagnosis guide.* Academic Press, Syd.
 - **Expert. D., Dellagi A., Kachadourian R, 2000.** Iron and fire blight: role in pathogenicity of desferrioxamine E, the main siderophore of *Erwinia amylovora*. In: Vanneste J (ed) *Fire blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora.* CABI Publishing, Oxon, pp179-195.

- **Faize M., Brisset M.N., Perino C., Vian B., Barny M.A., Paulin J.P., Tharaud M., 2006.** Protection of apple against fire blight induced by an *hrpL* mutant of *Erwinia amylovora*. *Biol Plantarum* 50:667-674.
- **Fatmi M., Bougsiba M., Saoud H., 2008.** First report of fire blight caused by *Erwinia amylovora* on pear, apple and quince in Morocco. *Plant Disease*, 92, 314.
- **Francesco S, 2002.** Changes in plant metabolism induced by dioxygenase inhibitors and their effect on the epiphytic microbial community and fire blight (*erwinia amylovora*) control, Università degli Studi di Bologna thèse de doctorat : 11-28.
- **Freney, J., Renaud, F., Hansen, W. & Bollet, C. (1992)** Manuel de bactériologie clinique ELSEVIER Collection Option Bio Volume 1, 79-143.
- **Gautier M, 1988.** La culture fruitière: les productions fruitières, 01947.Vol.2:156-157.
- **Geider K., Geier G., Bernhard F., Belleman P., Bugert P., Schmidt A., Chang J. R., Metzger M., 1992.** Exopolysaccharides in pathogenicity of *Erwinia amylovora* in *Plant Pathogenic Bacteria*, Versailles (France), June 9-12, 1992 Ed. INRA, Paris 1994 (Les Colloques, n° 66): 485-489.
- **Geider K., Auling G, Du Z., Jakovljevic V., Jock S., Völksch B., 2006.** *Erwinia tasmaniensis* sp. nov., a nonphytopathogenic bacterium from apple and pear trees. *Int J Syst Evol Microbiol* 56:2937-2943.
- **Geier G and Geider K, 1993.** Characterization and influence on virulence of the levansucrase gene from the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 42:387-404.
- **Giraud M., Gendrier J.P, Orts R and Baudry O., 1996.** Protection intégrée Pommier-Poirier: CITFL, 23-27 p.
- **Glasscock H. H, 1971.** Fire blight epidemic among Kentish apple orchards in 1969, *Ann. Appl. Biol.* 69. 137-145.
- **Goodman R. N., Butrov D., Gidley M., 1987.** Structure and proposed mode of action for amylovorin. *Acta Horticulture*, 217: 157-160.
- **Google – Earth, 2015.** Images satellite des vergers.

- **Granatstein D., Smith T., Peck G., 2011.** The Role of Tree Genetics in Controlling Fire Blight in Apples and Pears
- **Griffo R., Tartaglia A., Capriolo F., Adamo F., 1998.** The fire blight in Campania *Pyrus communis* L. *Erwinia amylovora*. *Informatore Agrario* 54 (29): 73-75.
- **Gross M., Geier G., Rudolph K and Geider K., 1992.** Levan and levasucrase synthesised by the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*. *Physiological Molecular Plant Pathology* 40: 371- 381.
- **Hartmann U., Sagasser M., Mehrtens F., Stracke R and Weisshaar B., 1996.** *Differential combinatorial interactions of cis-acting elements recognized by R2R3-MYB, bZIP and BHLH factors control light-responsive and tissue-specific activation of phenylpropanoid biosynthesis genes. Plant Mol. Biol., 57:155-171.*
- **Hauben and Swings, 1999.** *Oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. Journal of pathogenic to plants and animals, Annual Review of Microbiology, 26:389-526.*
- **Houari L., 2011.** Tipasa Arboriculteurs en colère. *journal Le Soir d'Alger*. Edition d'Alger - ISSN IIII – 0074 :22.
- **Hugh R and Leifson E, 1953.** The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *Journal of bacteriology* 66, 24-26.
- **Johnson K.B., Stockwell V.O, 2000.** Biological control of fire blight. In: Vanneste, J.L. (Ed.), *Fire Blight: The Disease and Its Causative Agent, Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 319–337.
- **Kachadourian R., Dellagi A., Laurent J., Bricard L., Kunesch G., Expert D., 1996.** Desferrioxamine-dependent iron transport in *Erwinia amylovora* CFBP1430: cloning of the gene encoding the ferrioxamine receptor FoxR. *Biometals* 9:143-150.
- **Keith S.Y., Douglas G., Pfeiffer J., Christopher B., Mizuho N., 2012.** *Disease and Insects*. P 8.

- **Khanfouci M.S, 2005.** Contribution a l'etude de la fructification et de la regeneration du cedre de l'atlas (*cedrus atlantica* m) dans le massif du belezma. Mémoire Online.
- **King E.O., Ward M.K and Raney D.E., 1954.** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*: 44, 301-307.
- **Klement Z., Rudolph K., Sands DC., 1990.** *Methods in phytobacteriology. Akademiai Kiad 568p. Budapest (HG).*
- **Klos E.J ., Ishamru. C, 1984.** New medium for detecting *Erwinia amylovora* and its use in epidemiological studies. *Phytopathology* vol. 74: 1342-1345.
- **Kokoskova B., Pouvova D and Pavela R., 2011.** Effectiveness of plant essential oils against *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and associated saprophytic on/in host plants, *Journal of Plant Pathology*, 93 (1), 133-139.
- **Korba J., Sillerová J., Kudela V., 2008.** Resistance of apple varieties and selections to *Erwinia amylovora* in the Czech Republic. *Plant Protection Science* 44, 91-96.
- **Lacobellis N.S., Lo Cantore P., Capasso F., Senatore F., 2005.** Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 57-61.
- **Laurent J., Barny M.A ., Kotoujansky A., Dufriche P., Vanneste JL., 1989.** *Characterization of an ubiquitous plasmid Erwinia amylovora. Molecular Plant- Microbe Interaction* 2: 160-164.
- **Lecomte P., Paulin JP, Billing E., 1992.** *Fire Blight risk assessment during bloom in an experimental orchard using BIS (Billing's Integrated System). Eur. J. Plant Pathol.* 104, p. 667–675.
- **Lelliott R.A and Stead D.E., 1987.** *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants Blackwell Scientific Publication Vol 02.* Oxford (GB).
- **Llop P., Donat V., Rodriguez M., Cabrefiga J., Ruz L., Palomo JL., Montesinos E., Lopez M.M., 2006.** An indigenous virulent strain of

- Erwinia amylovora* lacking the ubiquitous plasmid pEa29. *Phytopathology* 96:900-907.
- **Llop P., González R., Pulawska J., Bultreys A., Cabrefiga J., López M.M., 2008.** The new plasmid pEI70 is present in *Erwinia amylovora* European strains. *Acta Horticulturae*, 793: 131-136.
 - **Llop P., Cabrefiga J., Smits T.H.M., Dreo T., Barbe´ S., et al., 2011.** *Erwinia amylovora* Novel Plasmid pEI70: Complete Sequence, Biogeography, and Role in Aggressiveness in the Fire Blight Phytopathogen. *PLoS ONE* 6(12): e28651. doi: 10.1371/journal.pone.0028651.
 - **Mabagala R.B ET Saettler A.W, 1992.** An improved semi selective medium of recovery of *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli*. *Plant Dis.* 76:443-446.
 - **Masseron Alain., Trillot Michel, 1991.** Le poirier, Centre Technique Interprofessionnel des fruits et légumes : p100.
 - **McGhee C.G., and Alan L., Jones., 2000.** Complete Nucleotide Sequence of Ubiquitous Plasmid pEA29 from *Erwinia amylovora* Strain Ea88: Gene Organization and Intra-species Variation. *Department of Botany and Plant Pathology, Michigan State University, East Lansing, Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 66, No. 11: 4897-4907.
 - **Moller W.J., Beutel J.A., Reil W.O., Zoller B.G., 1972.** *Fire blight resistance to streptomycin in California. Phytopathology* 62:779.
 - **Momol M.T., Norelli J.L., Piccioni D.E., Momol E.A., Gustafson H.L., Cummins J.N., Aldwinckle, H.S., 1998.** Internal movement of *Erwinia amylovora* through symptomless apple scion tissues into the rootstock. *Plant Disease* 82 (6): 646-650.
 - **Mutin G, 1977.** La Mitidja décolonisation est espèces géographique. Ed. O.P.U., Alger, 607p.
 - **Namane L, 2009.** Suivi des irrigations dans une exploitation agricole de la Mitidja Ouest commune de Mouzaïa ENSA- Ingénieure d'état en Hydraulique, pp 03.
 - **Nimtz M., Mort A., Domke T., Wray V., Zhang Y.Q.F., Coplin D. and**

- Geider K.,1996.** Structure of amylovoran, the capsular exopolysaccharide from the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*. Carb. Res. 287:59-76.
- **Nissinen R.M., Ytterberg A.J., Bogdanove A.J., van Wijk K.J. et Beer S.V., 2007.** Analyses of the secretomes of *Erwinia amylovora* and selected hrp mutants reveal novel type III secreted proteins and an effect of HrpJ on extracellular harpin levels. *Mol. Plant Pathol.*, 8:55-67.
 - **Nouni s, 2013.** Isolement et identification d'*Erwinia amylovora* agent du feu bactérien dans des vergers de poirier et de pommier de la Wilaya de Blida. Thèse d'ingénieur.
 - **OEPP/EPPO ,1983.** Fiches informatives sur les organismes de quarantaine No. 52, *Erwinia amylovora*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 13.
 - **OEPP/EPPO, 2011.** *Service d'Information* No. 6, Premier signalement d'*Erwinia amylovora* en Algérie. Paris, pp:2.
 - **OEPP/EPPO Global Data base, 2012.** *Erwinia amylovora* (ERWIAM) distribution for *Erwinia amylovora*.
 - **OEPP/EPPO, 2013.** 43 (1), 21–45, PM 7/20 (2) *Erwinia amylovora*.
 - **Oh C.S., Kim J.F. and Beer S.V., 2005.** The Hrp pathogenicity island of *Erwinia amylovora* and identification of three novel genes required for systemic infection.*Mol. Plant Pathol.*, 6: 125-138.
 - **Olivier R, 2002.** Etude d'oligosaccharides bioactifs issus d'exopolysaccharides bactériens : obtention, caractérisation et relation structure/fonction P 195 .these doctorat.
 - **Palacio-Bielsa A.,Cambra M.A., López M. M ., Ordax M, Peñalver J.,Gorris M.T., Cambra M., Marco-Noales E., Llop P., Biosca E.G.,Roselló M.,Montesinos E., Llorente I., Badosa E., Cabrefiga J., Bonaterra A., Ruz L.,Moragrega C., Francés J and Díaz C, 2009.** El fuego bacteriano de las rosáceas(*Erwinia amylovora*).ed. Ministerio de medio ambiente y medio rural y marino, p97.
 - **Paulin J.P, 1983.** Le feu bactérien en Arboriculture Fruitière et Ornementale : la maladie. CTIFL ed. 60p.

- **Paulin J.P, 1996.** *Control of fire blight in European pome fruits. Outlook Agricu*25:49-55.
- **Paulin J.P, 2000.** *Erwinia amylovora: General characteristics, biochemistry, and serology*, p. 87-116. In: J.L. Vanneste (ed.). *Fire blight: The disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. CABI Publishing, New York.
- **Philion V, 2012.** Intégration de la détection des populations bactériennes d'*Erwinia amylovora* en verger et d'un modèle de prévision du feu bactérien, Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA).
- **Pierstorff A.L, 1931.** *Studies of the fire blight organism, Bacillus amylovorus*. Cornell University Agricultural Experiment Station Memoir 136, Ithaca, New York. Thomson, S.V. 2000. *Epidemiology of fire blight*. Pages 9-36.
- **Powney R., Smits T.H.M., Sawbridge T., Frey B., Blom J., Frey J.E., Plummer K.M., Beer S.V., Lick J., Duffy B., Rodoni B ., 2011.** Genome sequence of an *Erwinia amylovora* strain with pathogenicity restricted to *Rubus* plants. *J Bacteriol* 193:785–786.
- **Psallidas, P.G., Tsiantos, J., 2000.** Chemical control of fire blight. In: Vanneste, J.L. (Ed.), *Fire Blight: The Disease and Its Causative Agent, Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 199–234.
- **Raetz C.R.H., Whitfield C, 2002.** *Lipopolysaccharide endotoxins. Annu Rev Biochem*71:635-700.
- **Raymundo K ., Ries SM, 1980.** *Chemotaxis of Erwinia amylovora. Phytopathology* 70:1066-1069
- **Richter K., Momol M.T., Saygili H, 1999.** Detection of *Erwinia amylovora* cells in apple shoots. *Acta Horticulturae* 489: 511-514.
- **Roberts R.G and Sawyer A.J, 2008.** An updated pest risk assessment for spread of *Erwinia amylovora* and fire blight via commercial apple fruit. *Crop Protection*, 27, 362–368.
- **Saoud, H .et Mniai ,D.** Gestion de la crise feu bacterien au maroc. Direction Régionale de l'ONSSA, Région Meknès.

- **Schaad, N.W. Ed. 1994.** Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Am. Phytopath. Society Press, St. Paul, Minnesota, pp. 157.
- **Schaad N.W., Hildebrand D.C., Schoth M.N., Sands D.C., 1988.** In plant pathologic bacteria, laboratory guide for identification. ed N°02. N. W. APS Minnesota. USA. 37- 53.
- **Schaad N. W., Jones J. B. and Chun W., 2001.** *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria.* APS Press. Third edition 373p. St Paul, Minnesota 15(12), 1468-80.
- **Schroth M.N., Thomson S.V., Hildebrand D.C. and Moller W.J., 1974.** Epidemiology and control of fire blight. *Annual Review of Phytopathology 12: 389-412.*
- **Seemuller E.A and Beer S.V, 1976.** Absence of cell wall polysaccharide degradation by *Erwinia amylovora*. *Phytopathology 66: 433-436.*
- **Smith H, 1976.** Survival of vegetative bacteria in animals.Symp. Soc. Gen. Microbiol. 26:295-326.
- **Smith H, 1977.** Microbial surfaces in relation to pathogenicity. *Bacteriol. Rev. 41:475-500.*
- **Spinelli F, 2002.** changes in plant metabolism induced by dioxygenase inhibitors and their effect on the epiphytic microbial community and fire blight (*Erwinia amylovora*) control, Universit à degli Studi di Bologna thèse de doctorat : 11- 28.
- **Steiner ., Schliemann W., Böhm H., Strack D., 2000.** *Tyrosinase involved in betalain biosynthesis of higher plants. Planta, 208:114-124.*
- **Tang X., Xiao Y., Zhou J.M., 2006.** Regulation of the type III secretion system in phytopathogenic bacteria. *Mol Plant Microbe Interact 19:1159-1166.*
- **Thomson, S. V., 2000.** Epidemiology of fire blight. Pp. 9-36. In: Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. Vanneste, J. L. (ed.). CABI publishing. Wallingford. UK.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Thomson V. S., Ockey C.S, 2000.** *Fire Blight of Pears and Apples, Utah State University, Utah Plant Disease Control No. 27, pp 5.*
- **Van der Zwet T., Keil HL, 1979.** *Fire blight .a bacterial disease of rosaceous plants. U.S. Dept. Agr. Handb. 510. 200p.*
- **Van der zwet T., Zoller B.G., Thomson S.V., 1988.** Controlling fire blight of pear and apple by accurate prediction of the blossom blight phase. *Plant Disease*, 72: 464-472.
- **Van Der Zwet T., Beer SV, 1995.** *Fire Blight – Its Nature, Prevention, and Control. A Practical Guide to Integrated Disease Management, US Department of Agriculture, Agriculture Information Bulletin No. 631, Washington DC, 97 pp.*
- **Van der Zwet, T., Orolaza-Halbrendt N., Zeller, W., 2012.** Fire Blight, History, Biology, and Management. *Journal of Phytopathology*, 160, 460 p., pp. 83-91.
- **Vanneste J.L, 2000.** Fire Blight. The Disease and its Causative Agent, *Erwinia amylovora*. Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishing.
- **Zhao Y., He S.Y. and Sundin G.W., 2006.** The *Erwinia amylovora* avrRpt2Ea gene contributes to virulence on pear and AvrRpt2Ea is recognized by *Arabidopsis* RPS2 when expressed in *Pseudomonas syringae*. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 19:644-654.
- **Wettstein B., Bünter M., e Popow G., 2002.** Feu bactérien dans les jardins familiaux, Office fédéral de l'agriculture (OFAG). p1.
- **Winslow C.E.A., Broadhust J., Bu chanan R.E., Krumwiede C. J.r., Rogers L.A., Smith G.H., 1920.** The families and genera of the bacteria; *Erwineae*. *Journal of Bacteriology*, 5: 191-229.

Annexe 1 : Les températures mensuelles et la pluviométrie dans la Mitidja durant la période 2000-2015(Anonyme b, 2015).

		jan	fév	mar	avr	mai	juin	juil	aout	sep	oct	nov	déc
2000	T°	11,2	13 ,1	13,2	13,7	18,9	21,3	26,4	27,9	22,4	20,4	14,5	12,8
	P mm	197,1	57,1	0,7	53,1	23,8	0,5	0	0	10,1	85,9	131,3	49,3
2001	T°	12,5	11,8	15,1	14,8	17,5	24	29,6	25,9	24,2	16,7	14,3	13,3
	P mm	63,8	42,1	74,6	58,3	32,1	0,7	17,4	15,5	28,7	14	69,6	71
2002	T°	11,2	16,8	19	15	24	26,8	28,2	29,6	26,1	26,8	19,5	15,5
	P mm	213,5	160	22,2	99,4	62,1	0,3	0,8	1,8	20,1	41,7	194,8	140,4
2003	T°	14,8	14,6	18,2	19,5	21,8	30	32,1	26,7	21,3	23,7	19	17,9
	P mm	109,1	58,5	84,3	72,7	164,1	4,6	6,5	3,7	33,4	35	93,9	118
2004	T°	12,6	21,1	16,8	14,5	16	24,7	22,3	23,8	23,4	19,7	21,4	12,5
	P mm	94,2	128,4	58,2	40,6	5,6	1,9	0	2,4	11,8	43,3	95,4	170,4
2005	T°	8,3	7,7	12	14,7	19	23,5	26,2	25,5	26,3	21,9	13,7	11,7
	P mm	168,1	101,1	25,2	9,1	150,3	0	0	2	94,5	69,7	84,8	101
2006	T°	9,1	11	21,1	18	17,2	24,1	25,5	28,9	22,5	19,6	14,2	8,4
	P mm	11,4	51,3	153,7	102,8	15,5	14,3	3,7	14,3	43,1	23,3	68	176,7
2007	T°	10,8	12	11,3	14,3	18,5	20,6	26	25,8	20,6	20,7	16,3	11,7
	P mm	24,3	29	74,2	24	63,6	4,3	3,4	1,8	64,9	100	177,1	70,2

2008	T°	14,2	16	15,7	14,7	16	18	25,4	27,5	24	18,3	15	17
	P mm	167,2	20,4	65,5	83,1	28,7	0,3	1,7	1,3	50,2	131,9	111,1	150,3
2009	T°	9,9	10,9	17,5	15	19,8	25	29,2	21	15,1	10,2	7	11
	P mm	67,2	22,1	122,8	53,3	30,8	20,9	0	35,8	86,2	8,9	100	130,8
2010	T°	12,1	13,8	14,1	16,1	18,5	22,9	26,8	26,3	23,4	19,5	14,8	12,4
	P mm	92,4	140,6	35,3	99,2	122,9	15,8	0	2	5,5	80,8	122,8	74,1
2011	T°	9,9	9,3	15,4	17,1	19,9	14,7	26,2	28,5	19,6	15,5	11,3	11,6
	P mm	52	220,6	132,4	152,8	34,4	0	0	24	11,9	85,1	85,3	68,8
2012	T°	9,63	7,56	12,23	15,03	19,08	25,3	25,72	28,18	23,87	20,26	17,24	14,83
	P mm	133,3	107,7	66,4	103,5	170,4	1,5	0,4	23,5	8,5	44,6	111,3	22,4
2013	T°	11,9	10,6	15,7	15,6	17,3	11,1	23,7	27,3	23,7	20,7	16,3	12,8
	P mm	74,7	63,4	109,9	6,2	14,4	51,5	0	0	12,2	16,2	148,3	95,7
2014	T°	13,4	22,3	13,7	17,9	18,4	22,5	26,6	26,5	24,5	23,3	14,1	11,5
	P mm	46,6	49,7	158	6,2	39	54	0	0,6	16	45	195,1	27,2
2015	T°	14,3	10,1	13,3	17,5	19,7							
	P mm	117,4	89,1	131,8	101,5	77,6							

Annexe 2 : Composition de milieu King B pour formuler 1 L d'eau distillée
(King *et al.*, 1954).

Protéose-peptone No. 3.....	20, 0 g
Glycérol.....	10,0mL
Phosphate de potassium dibasique.....	1,50 g
Sulfate de magnésium hetahydraté.....	1,50 g
Agar bactériologique.....	15, 0 g

pH =7.

Autoclavage à une température 120°C pendant environ 20 minutes, le milieu est laissé à refroidir suffisamment pour pouvoir être coulé en boîte de Pétri.

Annexe 3 : Composition de milieu Levane pour formuler 1L d'eau distillée
(Schaad *et al.*, 1988).

Extrait de levure	2,0 g
Bactopeptone	5,0 g
Saccharose.....	50 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Agar bactériologique.....	20 g

PH = 7,2

Autoclavage à une température 120°C pendant environ 20 minutes, le milieu est laissé à refroidir suffisamment pour pouvoir être coulé en boîte de Pétri.

Annexe 4 : Composition de milieu Hugh et Leifson pour formuler 1 Ld'eau distillée (Hugh et Leifson, 1953).

Bactotryptone.....	2,0 g
Phosphate de potassium dibasique.....	0, 3 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Bleu de bromothymol.....	0, 03 g
D(+)-glucose.....	10,0 g*

Agar bactériologique.....0,3 g

PH = 7

Autoclavage à une température à 120°C, le milieu est laissé à refroidir pendant environ 20 minutes, suffisamment pour pouvoir le repartir en tube.

Annexe 5 : Composition de milieu liquide RS (transformation de sucrose) pour formuler 1L d'eau distillée (**Schaad et al., 1988**).

Sucrose20.0 g

Peptone.....5.0 g

KH₂PO₄.....0.5g

MGSO₄ .7H₂O.....0.25g

pH =7,2

Stériliser pendant 20 minutes à 120°C dans l'autoclave le milieu est laissé à refroidir pendant environ 20 minutes, suffisamment pour pouvoir le repartir en tube.

Annexe 6 : Composition du réactif de BENEDICT (réactif ajouté pour le test de transformation du sucrose) (**Schaad et al., 1988**) :

Citrate de Na(Na₃C₆H₅O₇·2H₂O).....173.0g

Carbonate de Na (Na₂CO₃).....85.5g

Sulfate de Cu (CuSO₄ 5H₂O).....17.3g

Dissoudre les produits un à un dans 800 ml H₂O distillée. Compléter à 1 litre avec H₂O distillée.

Travailler sous la hotte (il y aura dégagement de gaz)

Annexe 7 : Composition de milieu Indole pour formuler 1L d'eau distillée (**Schaad et al., 1988**).

Peptone..... 20g

NaCl.....5g

pH =7,2

Stériliser pendant 20 minutes à 120°C dans l'autoclave le milieu est laissé à refroidir pendant environ 20 minutes, suffisamment pour pouvoir le repartir en tube.

Annexe 8 : Composition de milieu Gélatine pour formuler 1 L d'eau distillée
(Schaad *et al.*, 1988).

Extrait de boeuf.....	3 g
Bactopeptone.....	5 g
Gélatine.....	120 g

pH =7,2

Stériliser pendant 20 minutes à 120°C dans l'autoclave le milieu est laissé à refroidir pendant environ 20 minutes, suffisamment pour pouvoir le repartir en tube.

Annexe 9 : Composition de milieu citrate de Simmons pour formuler 1 L
d'eau distillée (Freney *et al.*, 1992).

Dihydrogénophosphate d'ammonium.....	1,0g
Phosphate de potassium dibasique	1,0g
Chlorure de sodium	5,0g
Bleu de bromothymol.....	0,08g
Citrate de sodium	2,0g
Sulfate de magnésium.....	0,2g
Agar bactériologique type A.....	20 ,0g

pH =7,2

Stériliser pendant 20 minutes à 120°C dans l'autoclave le milieu est laissé à refroidir pendant environ 20 minutes, suffisamment pour pouvoir le repartir et inclinée en tube.

Annexe10 : Composition de milieu liquide 523 pour formuler 1 L d'eau distillée (**Schaad et al., 1994**).

accharose	10, 0g
Caséine.....	8,0g
Extrait de levure.....	4 ,0g
Phosphate de potassium dibasique.....	2,0g
Sulfate de magnésium heptahydraté.....	0.3g
pH =7,2	

Stériliser pendant 20 minutes à 120°C dans l'autoclave le milieu est laissé à refroidir pendant environ 20 minutes, suffisamment pour pouvoir le répartir entube.