

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB –BLIDA 1-  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE**

**ESSAI D'EFFICACITE DE LA MATIERE ACTIVE DE BION 50 WG DANS  
LA LUTTE CONTRE LE FEU BACTERIEN DU POIRIER CAUSE PAR  
*ERWINIA AMYLOVORA***

**Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master II en science  
de la nature et de la vie**

**Spécialité : Biologie des interactions plantes microorganismes**

**Nedjma BOUZID**

**Devant le jury composé de :**

<b>M</b>	<b>BELKAHLA H.</b>	<b>Professeur</b>	<b>USDB</b>	<b>Président de jury</b>
<b>Mr</b>	<b>BENCHABANE M.</b>	<b>Professeur</b>	<b>USDB</b>	<b>Promoteur</b>
<b>M</b>	<b>AMAD F.</b>	<b>Maître assistant A</b>	<b>USDB</b>	<b>Examineur</b>
<b>M</b>	<b>BENCHABANE D</b>	<b>Maître assistant A</b>	<b>USDB</b>	<b>Examineur</b>

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2012 / 2013**

## *Remerciements*

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Mr BENCHABANE M. qui m'a accueilli dans son laboratoire et qui a accepté de m'encadrer pour une deuxième fois. Je le remercie pour tout ce qu'il a fait pour que ce travail arrive à terme.

Je remercie vivement les membres de jury qui m'ont fait l'honneur de juger mon travail : Mme BELKAHLA H. en tant que présidente de jury, Mme AMAD F et Mme BENCHABANE D. d'avoir examiner mon travail.

Je tiens à remercier Mme Djamila technicienne de laboratoire de Phytopathologie pour sa gentillesse, ces conseils et son soutien.

Toute ma reconnaissance et gratitude aux membres de l'EAC N° 04 KADA Aissa pour leur disponibilité, leur aide et surtout leur encouragement.

Mes remerciements vont à Mr le Directeur des services agricoles de la wilaya de Blida et l'ensemble du personnel de la Direction, et aussi à Mr le subdivisionnaire de Oued El Alleug et son équipe pour leur aide.

Je remercie également l'ensemble du personnel de la station régionale de l'INPV de Boufarik et l'ANRH de Soumâa pour la qualité de leur accueil et la facilité d'accès aux informations.

Mes remerciements vont enfin à tous les étudiants de laboratoire de Zootechnie et Zoologie et toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

## *Dédicace*

C'est avec un grand respect que je dédie ce modeste mémoire :

✚ A celle qui ma encouragé et soutenu moralement ma donné la volonté de poursuivre *maman*.

✚ A la mémoire de mon père que dieu le tout puissant lui accorde la sainte miséricorde.

✚ Ames très chères sœurs.

✚ A mes chers frères.

✚ A tous mes amies.

*Nedjma*

**RESUME**

En 2010, le feu bactérien a été identifié en Algérie et causé l'arrachage des hectares de la variété de Poirier Santa maria.

L'identification de l'agent causal a été réalisée en se basant sur la caractérisation macromorphologique, réaction d'hypersensibilité et les différents testes biochimique et sérologique.

En raison de sa rapidité de propagation et en absence de traitements efficaces, la présence étude consiste à tester le produit Bion 50 WG, c'est un produit récemment homologué et utilisé dans le cadre d'une lutte chimique et préventive contre le feu bactérien. Les essais ont été réalisés au niveau de l'EAC 04 Kada Aissa située dans la commune de Oued El Alleug de la wilaya de Blida. Dans cette exploitation nous avons délimité au hasardement huit (08) zones (chacune renferme 25 arbres), dans quatre (04) zones nous avons appliqué le produit comme traitement foliaire en trois apports durant une période comprise entre Avril et Mai

Par comparaison entre les zones traitées et les zones non traitées, Bion 50 WG n'a montré aucune réduction dans la sévérité de la maladie.

**Mots clés :** Feu bactérien, *Erwinia amylovora*, Bion 50 GW, Poirier, Acibenzolar-S-Methyl.

## المخلص

تعتبر اللفحة النارية من الأمراض الخطيرة المعدية على الأشجار المثمرة من بينها أشجار الأجااص والتي تسببها البكتيريا *Erwinia amylovora*.

الهدف من دراستنا تقييم مدى مفعول منشط الدفاع الذاتي للنباتات BION 50 WG في خفض درجة شدة المرض حيث تم تطبيق هذا المنتج علي فصيلة من الأجااص حساسة لهذا المرض SANTA MARIA عن طريق الرش للجزء العلوي للشجرة (الأوراق، الأغصان و الجذع).

من خلال المقارنة بين المناطق المعالجة و المناطق غير المعالجة، لم يظهر استعمال BION 50 WG انخفاض في شدة المرض.

**كلمات المفتاح:** اللفحة النارية، *Erwinia amylovora*، BION 50 WG، الأجااص.

**ABSTRACT**

In 2010 fire blight caused by *Erwinia amylovora* was recorded in Algeria and affects the susceptible variety of pear Santa maria in which infected parts appear wilt and turn black.

Identification of causative agent was based on the macromorphology characterization, hypersensitivity and various biochemical and serological reactions

The disease is difficult to control, as it is able to rapidly spread in the plant and effective control methods still are lacking. In our study the chemical method using the plant defence activator Bion 50 WG was investigated to determine the effect on fire blight. In commune agricultural exploitation EAC 04 Kada Aissa situated in Oued El Alleug in Blida eight areas, every one contains 25 trees was delimited, in four areas the product was applied as foliar treatment in three times for a period between April and May.

As result and by comparison between treated areas and untreated areas, Bion 50 WG has showed no reduction in the severity of disease.

**Keywords:** Fire blight, *Erwinia amylovora*, Bion 50 WG, pear, Acibenzolar-S-Methyl.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b> : Fleurs infectées par le feu bactérien.4.....	4
<b>Figure 02</b> : Extrémité d'une pousse infectée en forme de " J " inversé ou de crosse de berger.....	5
<b>Figure 03</b> : Suintement bactérien sur une pousse infectée.....	5
<b>Figure 04</b> : Aspect des feuilles infectées.....	6
<b>Figure 05</b> : Feu bactérien sur fruit avec exsudats bactérien.....	7
<b>Figure 06</b> : Symptômes du Feu bactérien sur charpentière.....	7
<b>Figure 07</b> : Cellule de <i>Erwinia amylovora</i> sous microscope électronique.....	9
<b>Figure 08</b> : Structure des plasmides de trois souches d' <i>Erwinia amylovora</i> .....	14
<b>Figure 09</b> : Structure de desferrioxamine cyclique (DFO E).....	14
<b>Figure 10</b> : Cycle de développement du Feu bactérien.....	18
<b>Figure 11</b> : Image satellite du verger de l'EAC N°04 KADA Aissa.....	25
<b>Figure 12</b> : Arbre pulvérisé par le produit Bion 50WG.....	33
<b>Figure 13</b> : Répartition des traitements au niveau du verger étudié.....	34
<b>Figure 14</b> : Noircissement et aspect des chancres sur les rameaux observés en période de dormance.....	38
<b>Figure 15</b> : Evolution du nombre moyen des rameaux atteints de la maladie dans le temps.....	39
<b>Figure 16</b> : Aspect des feuilles atteintes du feu bactérien.....	40
<b>Figure 17</b> : Evolution du nombre moyen des feuilles atteintes de la maladie dans le temps.....	41
<b>Figure 18</b> : Feuilles et fruits asymptomatiques situés sur des rameaux présentant des chancres.....	42
<b>Figure 19</b> : Symptôme du feu bactérien sur jeune pousse (Zone traitée).....	42
<b>Figure 20</b> : Evolution du nombre moyen de jeunes pousses atteintes de la maladie dans le temps.....	43
<b>Figure 21</b> : Symptôme du feu bactérien sur bouquet florale (Zone traitée).....	44
<b>Figure 22</b> : Evolutions du nombre de bouquets floraux atteints dans les zones traitées et zones non traitées.....	45
<b>Figure 23</b> : Evolution du taux d'infection (%) de bouquet floraux dans le temps....	46
<b>Figure 24</b> : Symptôme du feu bactérien sur fruits (Zone traitée).....	47
<b>Figure 25</b> : Evolution du nombre de fruit noués des zones traitées et non traitées...	48
<b>Figure 26</b> : Evolution du taux d'infection dans le temps des fruits noués.....	49
<b>Figure 27</b> : Nombre des parties atteintes par le feu bactérien.....	50
<b>Figure 28</b> : Aspect des chancres (zone traitée).....	52

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01</b> : Les pays officiellement atteint du feu bactérien.....	10
<b>Tableau 02</b> : Gamme d'hôtes d' <i>Erwinia amylovora</i> .....	15
<b>Tableau 03</b> : Historique et entretien du verger.....	26
<b>Tableau 04</b> : Caractéristique du produit Bion 50 WG.....	32
<b>Tableau 05</b> : Résultats des tests d'identification.....	37
<b>Tableau 06</b> : Evolution du nombre de rameau atteints dans la zone traitée et la zone non traitée.....	39
<b>Tableau 07</b> : Evolution du nombre d'arbres dont les rameaux sont atteints dans la zone traitée et la zone non traitée.....	40
<b>Tableau 08</b> : Evolution du nombre de feuilles atteintes dans la zone traitée et la zone non traitée.....	41
<b>Tableau 09</b> : Evolution du nombre de jeunes pousses atteintes dans la zone traitée et la zone non traitée.....	43
<b>Tableau 10</b> : Evolution du nombre de bouquets floraux atteints dans la zone traité et la zone non traitée.....	44
<b>Tableau 11</b> : Evolution du nombre de bouquets floraux dans la zone traitée et la zone non traitée.....	45
<b>Tableau 12</b> : Evolution du taux d'infection des bouquets floraux dans la zone traitée et non traitée.....	46
<b>Tableau 13</b> : Evolution du nombre de fruits noués dans la zone traitée et non traitée.....	47
<b>Tableau 14</b> : Evolution du nombre de fruits noués atteint dans la zone traitée et non traitée.....	48
<b>Tableau 15</b> : Evolution du taux d'infection des fruits noués dans la zone traitée et non traitée.....	49



## SOMMAIRE

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
الملخص	
Abstract	
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Analyse bibliographique</b>	
1. Le Feu bactérien : Maladie de quarantaine.....	3
1.1 Historique.....	3
1.2 Symptomatologie.....	4
1.3 Agent causal de la maladie .....	8
2. Interaction <i>Erwinia amylovora</i> plantes hôtes .....	11
2.1 Diversité génétique et gamme d'hôtes .....	13
2.2 Mécanismes d'action d' <i>Erwinia amylovora</i> .....	13
2.3 Les barrières physiques des plantes.....	16
3. Cycle de la maladie .....	17
4. Moyen de lutte Contre le Feu Bactérien .....	19
4.1 Lutte chimique .....	19
4.2 Lutte biologique.....	21
4.3 Lutte génétique .....	22
4.4 Stimulation des défenses naturelles de l'hôte .....	22
<b>Matériel et méthodes</b>	
1. Matériel végétal.....	24
2. Description de la station d'étude.....	24
3. Identification de l'agent causal.....	28
3.1 Caractérisation macromorphologique.....	28
3.2 Réaction d'hypersensibilité (HR).....	28
3.3 Tests biochimiques.....	28
3.4 Test sérologique : immunofluorescence (IF).....	30
3. Essai de Bion 50 WG.....	31
4.1 Présentation du produit .....	31
4.2 Application du traitement .....	33
4.3 Dispositif expérimental .....	34
4.4 Paramètres étudiés.....	35

## **Résultats et discussion**

1. Identification de l'agent causal .....	36
1.1 Aspect des colonies.....	36
1.2 Réaction d'hypersensibilité (HR).....	36
1.3 Caractérisation biochimique.....	36
1.4 Identification par test sérologique : immunofluorescence (IF) .....	37
1.5 Caractères de la bactérie identifiée.....	37
2. Evaluation du développement du Feu bactérien.....	38
2.1 Sur les rameaux.....	38
2.2 Sur les feuilles.....	40
2.3 Sur les jeunes pousses.....	42
2.4 Sur bouquets floraux .....	44
2.5 Sur fruits noués.....	46
2.6 Sécrétion des exsudats.....	49
2.7 Evaluation de l'évolution de la maladie.....	50
3. Interprétation des résultats.....	51
<b>Conclusion.....</b>	<b>56</b>
<b>Référence bibliographique.....</b>	<b>57</b>

## **Annexe 01**

# **ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE**

## INTRODUCTION

Le feu bactérien, causé par *Erwinia amylovora*, est une maladie nécrotique dévastatrice qui menace à une grande échelle des plantes de la famille des rosacées, dont font partie des espèces fruitières économiquement importantes comme le poirier le pommier et les cognassiers (**Vanneste, 2000 ; Lateur, 2002**). Sur lesquels elle peut entraîner très rapidement la mort de l'arbre et l'obligation d'arrachage de verger (**Anderson, 1956, Agrios, 1997 ; Lateur, 2002**).

Les symptômes apparaissent sous forme d'un noircissement ou d'un brunissement au niveau des parties atteintes, donnant ainsi un aspect brûlé à l'arbre (**Anderson, 1956**). La bactérie (*Erwinia amylovora*) pénètre généralement dans les tissus de l'hôte à travers les ouvertures naturelles et les blessures (**Agrios, 2004**) et envahit les espaces intercellulaires du parenchyme cortical, puis atteint le système vasculaire qui permet la migration vers les différentes parties de l'arbre (**Zamski et al., 2008**). Tout cela est influencé par la production d'exopolysaccharides, les sidérophores et l'utilisation du système de sécrétion de type III (**Geider, 2000 ; Dellagi et al., 1998 ; Mudgett, 2005**).

Cette maladie a été signalée pour la première fois en Amérique du Nord (USA), puis elle s'est répandue sur tous les continents notamment en Europe dans les pays comme l'Angleterre(1957), les Pays-Bas (1966), la Belgique, l'Allemagne puis la Suisse (1989), et dans les pays du moyen orient comme Palestine (1985), Liban (1988) (**Bonn et Van der Zwet, 2000 ; van der Zwet, 2002**)

Avec les échanges commerciaux, cette maladie a été introduite en Algérie. Cependant l'année 2010 été particulièrement favorable au développement du feu bactérien dans quelques régions où elle a été identifiée pour la première fois dans la zone comprise entre Attatba et Koléa infectant plusieurs hectares de poirier (*variété Santa Maria*) (**INPV Algérie, 2011**).

Face à cette bactérie qui fait partie des organismes nuisibles réglementés contre lesquels la lutte est obligatoire une stratégie de lutte obligatoire a été établie par le gouvernement et mise en œuvre sous forme d'un plan d'action opérationnel

dans les zones contaminées et les zones indemnes pour limiter la propagation de cette maladie. Ce plan consiste essentiellement à surveiller les vergers et à procéder en cas de suspicion à des analyses, des arrachages et des incinérations des plants infectés. Comme il a été décidé de prévoir une prime d'indemnisation qui sera octroyée aux agriculteurs ayant subi des dommages déclarés aux services phytosanitaires de wilaya.

Au niveau de la wilaya de Blida, la prospection et le dépistage opéré, depuis avril 2012 à ce jour, sur les vergers de poirier ont concerné 223 exploitation pour une superficie de 943,50 ha cela a reflété 100 % d'infestation des vergers de poirier dont 234,53 ha ont été arrachés (**DSA Blida**).

Dans le monde plusieurs méthodes de lutte : biologique, génétique et chimiques agissant directement sur l'agent pathogène ou indirectement en stimulant les défenses naturelles de l'hôte constituent la base de plusieurs recherches (**Wright et al., 2001 ; Psallidas et Tsiantos, 2000 ; Brisset et al., 2000**). En Algérie les méthodes de luttent demeurent d'ordre préventifs basés sur l'utilisation de produits chimiques appliqués par les agriculteurs des régions atteintes, et sont en générale des bactériostatiques comme les produits cupriques, les antibiotiques (Terramycine) et les stimulateurs de défense naturelles (SDN).

Certains travaux ont mis en évidence l'efficacité de l'utilisation de la matière active du produit Bion 50 WG (Acibenzolar-S-Methyl) dans la stimulation de défense naturelle des plantes contre les maladies bactérienne à l'exemple de *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*, *Ralstonia solanacearum* (**Maxson-Stein et al., 2002 ; Norelli J.L. et al., 2002 ; Soyly et al., 2003 ; Pradhanang et al, 2005**).

Dans notre travail expérimental, nous avons testé l'efficacité de l'utilisation du produit Bion 50 WG sur poirier atteint d'*Erwinia amylovora*. Ce produit récemment homologué en Algérie est destiné pour lutter contre le feu bactérien à titre préventif.

## 1. Le Feu bactérien : Maladie de quarantaine

Classée parmi les maladies de quarantaine, le feu bactérien reconnu sous le nom Fire blight (anglais) et Allafha anaria (arabe) est l'un des premières maladies bactériennes enregistrées des plantes (Billing, 1987). Il affecte les espèces végétales appartenant à la sous famille des *Maloideae* au sein de la famille des *Rosaceae* incluant les arbres fruitiers à pépins (pommier, poirier, cognassier) et des arbustes ornementaux tels que l'aubépine où elle présente un sérieux danger allant jusqu'à leur destruction en l'espace d'une période de végétation. (Anderson, 1956 ; Vanneste, 2000).

Les parties du végétal atteintes prennent un aspect brûlées d'où le nom « feu » donné à la maladie (Anderson, 1956 ; Schumann, 1991).

### 1.1 Historique

Le feu bactérien a été signalé pour la première fois dans l'état de New-York en Amérique, cette maladie a fait ressortir plusieurs théories :

Initialement il a été pensé pour être causé par le foudre, par les brûlures de chaleur et les insectes (Baker, 1971). En 1880 à l'université de l'Illinois a été prouvé que la maladie est associée à une bactérie. Plus tard ce constat a été confirmé par le professeur Erwin F. Smith à l'université Cornell en 1884 (Harvey et Ralph, 1997).

Ce n'est qu'en 1895, Starr et Charterjee (1972) ont décrit l'aspect microbiologique de cette bactérie.

## 1.2 Symptomatologie

En fonction de la partie de la plante affectée la maladie du feu bactérien peut être appelée Brûlure des fleurs, Brûlure des feuilles, Brûlure du tronc, Brûlure du porte-greffe (Anderson, 1956).

### 1.2.1 Sur les fleurs

Généralement les premiers signes de la maladie du feu bactérien apparaîtront au printemps sur les fleurs (Whetzel, 1925 ; Scheffer, 1997).

Les fleurs au départ paraissent gorgées d'eau par la suite l'infection se traduit par des lésions aqueuses sur les sépales et le réceptacle suivi par le flétrissement et le brunissement ou le noircissement (Ogawa et English, 1991 ; Agrios, 1997) (Figure 01)



**Figure 01** : Fleurs infectées par le feu bactérien (EPPO, 2013).

### 1.2.2 Sur les jeunes pousses

Les symptômes sur les jeunes pousses sont constatés tout au long du printemps et de l'été

Les lésions sur les pousses, attribuables à l'abrasion par le sable, un vent cinglant ou la grêle, ouvrent la voie à l'infection des tissus sensibles par des

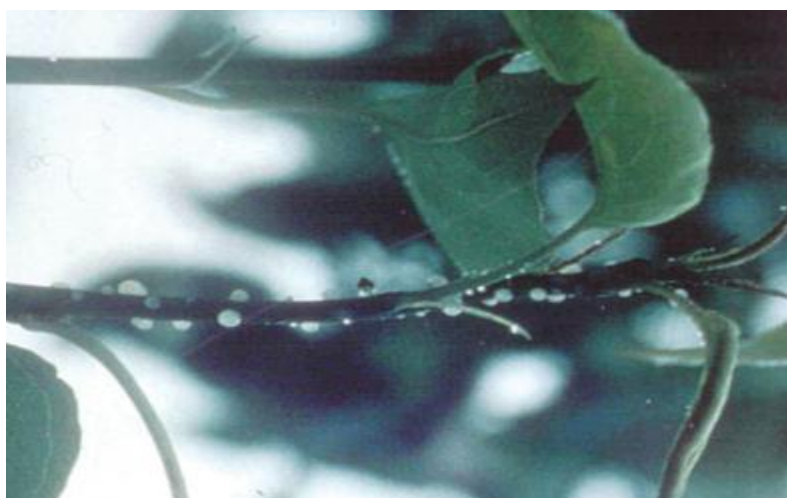
bactéries. Celles-ci peuvent progresser de 15 à 30 cm à l'intérieur de la pousse (van der Zwet et Beer, 1995)

Dans les quelques jours seulement qui suivent l'infection les pousses infectées fléchissent à l'extrémité et forment des " J " inversés rappelant des crosses de berger (Van der Zwet et Keil, 1979) (Figure 02)



**Figure 02 :** Extrémité d'une pousse infectée en forme de " J " inversé ou de crosse de berger (EPPO, 2013).

Dans des conditions humides des gouttelettes d'exsudat bactériennes apparaissent sur pousses infectés (Van der Zwet et Beer, 1995) (Figure 03).



**Figure 03 :** Suintement bactérien sur une pousse infectée (INPV, 2010).



### 1.2.3 Sur les feuilles

Les feuilles peuvent servir de sites d'infection initiale où les bactéries pénètrent directement à travers les ouvertures naturelles (stomates) ou par les blessures (van der Zwet et Beer, 1995).

Les premiers symptômes apparaissent sous forme d'une altération brune ou noire dans la couleur des pétioles et la nervure principale, alors que le reste des tissus foliaires restent verts. Tôt ou tard, les feuilles infectées flétrissent, brunissent et restent souvent attachées à la pousse durant la saison de croissance et même durant l'hiver et montrent un aspect caractéristique brûlé (Scheffer, 1997) (Figure 04).



**Figure 04** : Aspect des feuilles infectées (EPPO Bulletin , 2013). .

### 1.2.4 Sur les Fruits

Généralement les fruits sont infectés à partir des plaies, des lenticelles ou des éperons infectés (Van der Zwet et Beer, 1995). Ainsi les fruits infectés brunissent, voire noircissent aussi, se rétrécissent, et, de même que les fleurs, restent attachés et prennent un aspect momifié (Agrios, 1997), et peuvent être également couverts par des gouttelettes d'exsudat ou des vrilles des bactéries (Ogawa et English, 1991) (Figure 05).



**Figure 05 :** Feu bactérien sur fruit avec exsudats bactérien ([www.onssa.gov.ma](http://www.onssa.gov.ma)).

#### **1.2.5 Sur les branches, charpentières et le tronc**

A partir des fleurs, pousses ou fruits infectés, la maladie se répand par les pédoncules vers les rameaux et branches, y provoquant des chancres. Elle peut continuer son expansion vers les charpentières et le tronc. Les chancres provoquent la mort soudaine des branches ou de l'arbre entier par étouffement (Scheffer, 1997).

Les zones attaquées se crevassent et s'affaissent; sous l'écorce, les tissus infectés sont humides, brillants, et prennent une coloration rouge brun (Scheffer, 1997) (Figure 06).



**Figure 06 :** Symptômes du Feu bactérien sur charpentièrre (EPPO, 2013).

### 1.3 Agent causal de la maladie

*E. amylovora* (Burill) (Winslow et al., 1920), L'agent causal du feu bactérien a été signalée pour la première fois en 1794 et a été initialement nommée *Micrococcus amylovorus* (Anderson, 1956). Selon Anderson (1956), Trevisan, a changé le nom en *Bacillus amylovorus*. En 1915, Sebinoff a décrit la bactérie sous le nom *Bacterium amylovorum*. En 1920, Winslow et ses collaborateurs ont établis le genre *Erwinia* avec l'espèce *Erwinia amylovora* (Van der Zwet et Keil. 1979)

#### 1.3.1 Classification

Selon Winslow et al., (1920), la classification de l'agent causal du feu bactérien est comme suit :

Règne : *Eubacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Erwinia*

Espèce : *Erwinia amylovora*

#### Synonymes

*Micrococcus amylovorus* (Burrill, 1882)

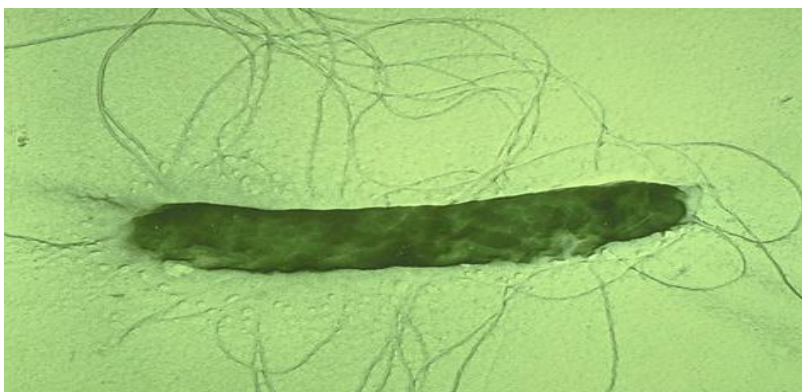
*Bacillus amylovorus* (Trevisan, 1889)

*Bacterium amylovorum* (serbinov, 1915)

*Erwinia amylovora* (winslow. et al, 1920)

### 1.3.2 Morphologie

*E. amylovora* est une bactérie phytopathogène appartenant à la famille des Enterobacteriaceae (Jones et Aldwinckle, 1990 ; Van der Zwet T. et Beer S.V., 1995, Beer et *al.*, 1996). Elle se présente sous forme d'un bâtonnet court, de dimensions 1,1-1,6 x 0,6-0,9  $\mu\text{m}$ , Gram-négatif, à extrémités arrondies et mobile grâce à de nombreux flagelles péritriches (Jones et Aldwinckle, 1990 ; Agrios, 1997) (Figure 07).



**Figure 07** : Cellule de *Erwinia amylovora* sous microscope électronique (Johnson, 2000)

### 1.3.3 Composants de surface cellulaires

Chez *Erwinia amylovora* sont essentiellement les LPS et les EPS.

- Le lipopolysaccharide (LPS) est le composé de surface majoritaire des bactéries à Gram négatif. C'est une macromolécule tripartite composée d'un lipide (le lipide A) ancré dans la membrane externe, d'un oligosaccharide (ou « core ») et d'un polysaccharide appelé antigène-O (ou chaîne O) (Raetz et Whitfield, 2002).

Le LPS peut être considéré comme une protection physique des cellules bactériennes qui contribue à réduire la perméabilité membranaire, permettant

ainsi la croissance bactérienne dans un environnement défavorable (Kingsley *et al*, 1993 ; Dow *et al*, 1995).

Ray *et al.* (1987) ont déterminé la composition et la structure du LPS d'*E. amylovora*

- **La fraction lipidique** est composée de glucosamine phosphate et de trois acides gras (12 : O, 14 : O et 3-OH-14 : O) qui sont communs aux Entérobactéries.
- **La fraction carbohydate** est composée :
  - \* La chaîne O ou antigène O : composée de sous-unités répétées de trois sucres neutres : fructose, glucose et galactose,
  - \* Le « core » contenant des oligosaccharides (heptose, glucose et acide uronique), des composés aminés et du 3-desoxy-2-octulosonic acid (KDO).

➤ **l'exopolysaccharide (EPS)**

Chez *E. amylovora*, la cellule bactérienne est entourée d'une couche de polysaccharides (galactose, glucose, mannose et acide uronique) organisée en capsule, formant l'exopolysaccharide (EPS) appelé Amylovorane et essentiel à la virulence (Bugert et Geider, 1995).

*E. amylovora* produit un autre polysaccharide, un homopolymère de fructose appelé Levane (Geider et Geider, 1993).

### 1.3.4 Répartition Géographique

Le feu bactérien a été observé et décrit pour la première fois en 1780 en Amérique dans différentes régions des Etats-Unis où la maladie a rendu pratiquement impossible la production de pommes et de poires (Robert *et al.*, 1998).

Après l'Amérique, le feu bactérien a été signalé au Japon en 1903 et en Nouvelle Zélande en 1919 (Van der Zwet, 1996).

**Tableau 01** : Les pays officiellement atteint du feu bactérien (Van der Zwet et Bonn, 1999 ; Bonn et Van der Zwet, 2000 ; Van der zwet, 2002 ; [www.onssa.gov.ma](http://www.onssa.gov.ma); INPV, 2010)

<b>Pays</b>	<b>Année de détection</b>	<b>Pays</b>	<b>Année de détection</b>
USA	1780	Sweden	1986
Canada	1900	République Tchèque	1987
Japon	1903	Liban	1988
New Zélande	19919	Suisse	1989
Bermudes	1938	Jordanie	1990
Mexique	1943	Arménie	1990
Angleterre	1957	Autriche	1993
Egypte	1964	Iran	1994
Pays bas	1966	Italie	1994
Pologne	1966	Moldavie	1994
Danemark	1968	Espagne	1995
Guatemala	1968	Hongrie	1996
Allemagne	1971	Australie	1997
Belgique	1972	Korè de Sud	1999
France	1972	Albanie	Dn
Chypre	1984	Croatie	Dn
Palestine	1985	Luxembourg	Dn
Turquie	1985	Serbie	Dn
Grèce	1986	Ukraine	Dn
Macédoine	1986	Maroc	2006
Norvège	1986	<b>Algérie</b>	<b>2010</b>

Dn : Données non disponibles

En 1957, il se manifeste pour la première fois en Europe (Angleterre), puis gagne le continent (Danemark, Pays-Bas, Belgique, France et Allemagne) (Scheffer 1997, Van der Zwet et Keil, 1979).

La maladie a été observée en Egypte en 1964 et apparaît par la suite en Chypre, Palestine, Turquie et Iran (Van der Zwet et Bonn, 1999)

En 1997, le feu bactérien apparaît pour la première fois dans le nord-est du pays sur Cotoneaster dans le jardin botanique de Melbourne en Australie, mais la maladie semble avoir été éradiquée (Van der Zwet et Bonn, 1999). Depuis 1999, on trouve le feu bactérien dans divers pays du monde (Tableau 01)

En 2006, le feu bactérien a été détecté pour la première fois au Maroc dans la région de Meknès sur le poirier et le pommier (Fatmi et *al.*, 2008).

En Algérie la première identification de cette maladie a été faite sur Poirier (*variété Santa Maria*) au niveau de la commune de Koléa en Juillet 2010 (INPV Algérie, 2011)

## **2. Interaction *Erwinia amylovora* plantes hôtes**

Face aux agressions extérieures et particulièrement les agents pathogènes, il existe de barrières telles que la cuticule et la paroi des cellules offrant à la plante une résistance directe contre ces agresseurs (Dangl et Jones, 2001 ; Nürnberger et *al.*, 2004) Cependant, il y a certains cas où les pathogènes ont réussi à contourner ces défenses, grâce à leur système de pathogénécité (Nürnberger et *al.*, 2004). Il s'agit essentiellement chez *Erwinia amyovora* de trois facteurs : le système d'acquisition du fer, Les exopolysaccharides (EPS) et les protéines sécrétées par un système de sécrétion de type III.

## 2.1 Diversité génétique et gamme d'hôtes

L'espèce *Erwinia Amylovora* est très homogène. La majorité des souches sont agressives sur l'ensemble des plantes de la gamme d'hôte (Tableau 02), cependant il existe quelques différences :

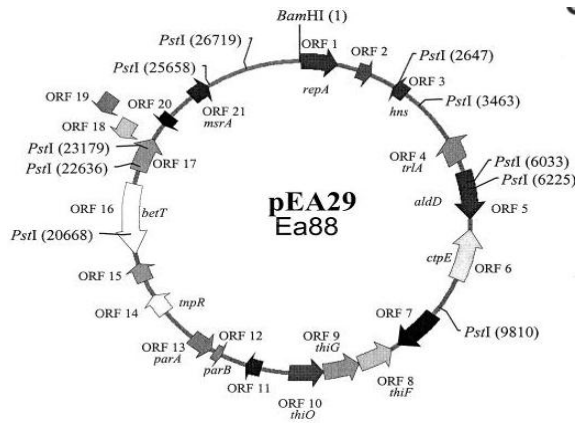
- Certaines souches peuvent infecter les plantes du genre *Rubus* mais pas le genre *Malus* ou *Pyrus* (Momol et Aldwinckle, 2000).
- Différences au niveau d'un gène de biosynthèse des polysaccharides et des gènes de protéines hypothétiques (Triplett et al, 2006)
- Variabilité dans le plasmide ; *Erwinia Amylovora* possède un plasmide (pEA29) (29kb) conservé chez la plupart des souches (MC Ghee et Jones, 2000) alors que d'autres souches possèdent autres plasmides et de taille variable comme pEa34 (34kb) (Chiou et Jones, 1993), deux petits plasmides pEA1.7 (1,7kb) et pEA2.8 (2,8kb) (MC Ghee et al., 2002) (Figure 08).

## 2.2 Mécanismes d'action d'*Erwinia amylovora*

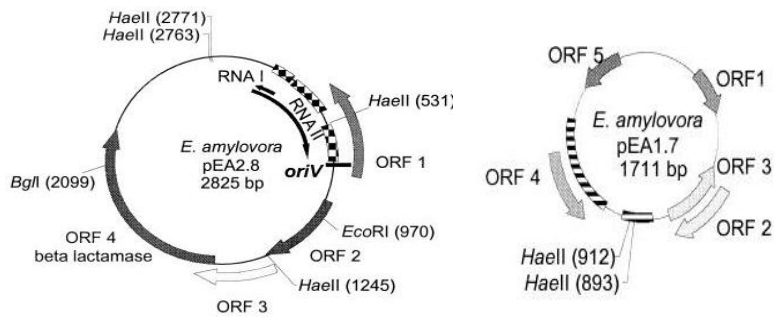
Le pouvoir pathogène d'*Erwinia amylovora* repose essentiellement sur :

- la capacité de la bactérie a injecté des effecteurs protéiques au sein des cellules végétales ou à les sécréter dans l'apoplaste, *via* un système de sécrétion de type III (T3SS, Type III Secretion System), formé d'une accroche membranaire et d'un pilus par lequel transitent les effecteurs (Wei, et al., 2000 ; Mudgett, 2005).
- La capsule de la bactérie : formée d'EPS, qui lui est indispensable pour sa multiplication dans les tissus de la plante (Geider, 2000).
- Un sidérophore : il est impliqué dans l'agressivité (Dellagi et al., 1998) et important pour la survie de la bactérie en milieu carencé en fer comme l'apoplaste, le sidérophore majoritairement produit, et en petites quantités, par *E. amylovora* est de type desferrioxamine cyclique (DFO E) (Figure 09) avec d'autres sidérophores synthétisées du même type, cycliques (DFO D, X) ou linéaires (DFO G), (Feistner et al., 1993),





Plasmide pEA29 de la Souche Ea88

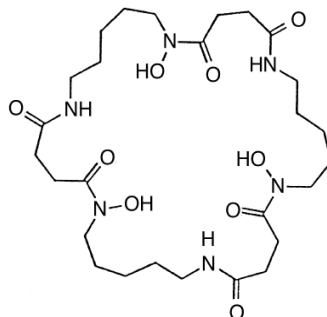


Plasmide pEA2.8 de la Souche IL-5

Plasmide pEA1.7 de la Souche IH3-1

**Figure 08** : Structure des plasmides de trois souches d'*Erwinia amylovora*

(Gayle C. McGhee et Jones, 2000 ; Gayle C. McGhee et al., 2002).



**Figure 09** : Structure de desferrioxamine cyclique (DFO E) (Feistner et al., 1993)

**Tableau 02** : Gamme d'hôtes d'*Erwinia amylovora* (Paulin, 1982 )

Genre	Nom Commun
- <i>Amelanchier</i> ♦	- Amélanchier ♦
- <i>Chaenomeles</i> ♦	- Cognassier de Japon ♦
- <i>Cotoneaster</i> ♦	- Cotonéaster ♦
- <i>Crataegus</i> ♦	- Aubépine♦
- <i>Cydonia</i> ♦	- Cognassier ♦
- <i>Eriobotrya</i> ♦	- Néflier de Japon ♦
- <i>Malus</i> ♦	- Pommier ♦
- <i>Mespilus</i> ♦	- Néflier commun♦
- <i>Osteomeles</i> ♦	- ♦
- <i>Peraphyllum</i> ♦	- ♦
- <i>Pyracantha</i> ♦	- Buisson ardent ♦
- <i>Pyrus</i> ♦	- Poirier ♦
- <i>Raphiolepis</i> ♦	- Raphiolepis ♦
- <i>Sorbus</i> ♦	- Sorbier ♦
- <i>Aronia</i>	- Aronia
- <i>Crateagomespilus</i>	- Néflier
- <i>Dichotomanthes</i>	-
- <i>Docynia</i>	-
- <i>Photinia</i>	-
- <i>Pyracomeles</i>	-

♦ : Existe en Algérie

## 2.3 Les barrières physiques des plantes

### 2.3.1 La cuticule

Pour se protéger des stress biotiques et abiotiques (UV notamment) et lutter contre les pertes d'eau, les épidermes sont recouverts, chez la plupart des végétaux, d'une substance hydrophobe, la cuticule. Cette dernière est composée principalement de cutine et de cires (Heredia, 2003 ; Nawrath, 2006)

La cuticule joue un rôle important dans les interactions plante-pathogène. Cette structure crée une barrière difficilement franchissable et les pathogènes ont dû développer des stratégies leur permettant de la franchir. Une de ces stratégies est la production d'enzymes de dégradation de la cutine, des cutinases et des lipases (Walton, 1994).

Les bactéries phytopathogènes ne produisent pas d'enzymes capables de dégrader la cutine (Dutta et *al.*, 2009). C'est notamment le cas pour *Erwinia amylovora*, ceci explique d'ailleurs pourquoi elle pénètre par des ouvertures naturelles ou par des blessures. (Seemüller et Beer, 1976).

### 2.3.2 La paroi cellulaire

La paroi primaire des cellules végétales est le deuxième obstacle que doivent franchir les pathogènes, après leur pénétration dans les tissus. Elle est constituée essentiellement de polysaccharides en absence de stress, la paroi primaire ne contient pas de callose ni de lignine (Cosgrove, 2005).

La paroi cellulaire secondaire est essentiellement mise en place au cours de la maturation du xylème pour assurer la rigidité des trachéides. Elle contient principalement des fibres de cellulose, ainsi que de la lignine et du xylane (Ye et *al.*, 2006). Pour pénétrer ce réseau polysaccharidique, beaucoup de pathogènes fongiques et bactériens utilisent des enzymes de dégradation de la paroi comme des cellulases, des pectinases, et glucanases diverses (Walton, 1994 ; Hüchelhoven, 2007).

*Erwinia amylovora* ne possède pas d'enzymes de dégradation de la paroi. En revanche, il se peut que les dégâts cellulaires et membranaires provoqués par la

bactérie au cours de l'infection génèrent de tels éliciteurs endogènes, participant à l'activation des réponses de la plante (Hückelhoven, 2007),.

La paroi cellulaire peut subir un renforcement localisé sous la forme d'une structure appelée papille ou apposition pariétale (Cell Wall Apposition, CWA), (Hückelhoven, 2007), dont Les principaux composés structuraux présents sont la lignine et la callose. Elles peuvent également contenir d'autres composés antibactériens comme certains produits phénoliques. Ces papilles constituent véritablement l'interface entre la plante et le pathogène Le rôle de ces papilles est le blocage de la pénétration des pathogènes (Hückelhoven et *al.*, 1999 ; Bhuiyan et *al.*, 2009 ;Collinge, 2009) ainsi que dans la résistance vis-à-vis de bactéries (Elfstrand et *al.*, 2002 ;Hauck et *al.*, 2003 ; DebRoy et *al.*, 2004 ; Mishina et Zeier, 2007).

### **3.Cycle de la maladie**

Le feu bactérien est une maladie complexe. L'agent pathogène est continuellement associé à un tissu végétal à l'état endophyte et épiphyte (Seidel et *al.*, 1994; Crepel et *al.*, 1996; Ge et *al.*, 1996).

Dans un hôte sensible, les bactéries peuvent se propager à travers l'espace intercellulaire du parenchyme corticale, de ce fait l'hôte tente de limiter cette propagation de l'infection par le dépôt de couches de liège dans le cortex. Il en résulte la formation de chancres dans lequel les bactéries peuvent passer l'hiver (Eden-Green et Billing, 1974).

Le cycle est lancé Au printemps, par temps chaud, entre 21-27°C et une humidité relative au dessus de 50% (Olsen, 2011) et lorsque les activités de croissance des hôtes commence les bactéries deviennent active, se multiplient rapidement et s'échappent des tissus infectés et des marges du chancre sous la forme de gouttelettes d'exsudat (ooze bactériens) qui brunissent à l'air (Robert et *al.*, 1998). A partir de ces exsudats qui constituent la source d'inoculum, les bactéries se propagent vers d'autres plantes hôtes par le vent, la pluie, la grêle, les insectes, les



oiseaux et les outils de taille (Wael 1990 ; Clark et *al.*, 1991; van der Zwet 1994) . Elles pénètrent dans les jeunes pousses herbacées et les fleurs à travers les stomates et les stigmates (wilson et ogawa, 1979). De ces points d'infection, la maladie progresse vers le bas de l'éperon, gagne le rameau, puis s'étend rapidement aux branches et les charpentières pour atteindre finalement le tronc et les racines (Schumann, 1991).

Peu après l'infection, les fleurs flétrissent et les pousses herbacées se recourbent de façon caractéristique en forme de crosse. Les branches prennent une coloration brune à noire, les feuilles et les fruits restent attachés aux branches et donnent ainsi l'impression d'avoir été brûlés («feu» bactérien) (Schumann, 1991).

Sur les branches, la zone attaquée se crevasse et s'affaisser ; sous l'écorce, les tissus infectés sont humides, brillants, et prennent une coloration rouge brun. Ces chancres constituent des sources d'inoculum à partir desquelles des bactéries peuvent infecter de nouvelles plantes (van der zwet et *al.*, 1990) (Figure 10).

## **4.Moyen de lutte Contre le Feu Bactérien**

Plusieurs méthodes de lutte sont impliquées contre cette maladie, et sont accompagnées de mesures d'éradication (suppression manuelle des parties atteintes jusqu'à l'arrachage d'arbres).

### **4.1 Lutte chimique**

Les produits utilisables en traitement phytosanitaire contre les bactérioses n'ont d'efficacité que s'ils sont appliqués en préventif (Delaunay-Cesbron, 2009) :

- Les produits cupriques : où l'action du cuivre est bactériostatique par exemple la bouillie bordelaise (Psallidas et Tsiantos, 2000).
- Les antibiotiques : streptomycine, l'oxytétracycline et la kasugamycine ont été utilisés. Ils bloquent la multiplication bactérienne en agissant sur la synthèse protéique.

- La streptomycine est considérée comme l'antibiotique le plus efficace contre le feu bactérien mais son utilisation a finalement été interdite dans de nombreux pays du fait de l'apparition de résistances plasmidiques chez *E. amylovora* (Moller *et al.*, 1972). Elle est autorisée en Amérique du Nord, en Israël et en Nouvelle-Zélande, ainsi qu'en Hollande, en Allemagne et en Suisse selon des règles restrictives précises (MacManus *et al.*, 2002).
- L'oxytétracycline a une efficacité inférieure à celle de la streptomycine (MacManus et Jones, 1994).
- La kasugamycine montre une efficacité variable (Psallidas et Tsiantos, 2000). Son usage est restreint du fait de sa forte phytotoxicité sur pommier et poirier aux doses recommandées pour le contrôle de la maladie. Elle est néanmoins utilisée aux USA en mélange avec la streptomycine, afin de diminuer les risques d'apparition de souches résistantes (Psallidas et Tsiantos, 2000)
- La fluméquine et l'acide oxolinique sont des composés de synthèse qui agissent sur la réplication de l'ADN des procaryotes. Aucune résistance plasmidique ni phytotoxicité n'ont été observées avec la fluméquine. Ce produit est autorisé en France, uniquement sur prescription des services officiels. L'acide oxolinique a été utilisé en Israël en verger à partir de 1998 pour remplacer la streptomycine (Shtienberg *et al.*, 2001). Cependant des souches d'*E. amylovora* résistantes à ce produit ont été isolées dès 2000 (Manulis *et al.*, 2003).
- La fosétyl aluminium. Il s'agit d'une molécule qui, outre une action antifongique, présente une efficacité, irrégulière, contre le feu bactérien (Tsiantos et Psallidas, 2002). Elle aurait un pouvoir éliciteur de défenses qui n'a toutefois pas été mis en évidence dans le cas du feu bactérien. C'est un préventif à court terme car à la différence du cuivre, elle est rapidement absorbée par les feuilles (Delaunay-Cesbron, 2009).

## 4.2 Lutte biologique

Le contrôle biologique du feu bactérien cherche à établir des bactéries antagonistes au niveau des organes sensibles à l'infection par *E. amylovora* avant son arrivée. Il s'agit donc d'un moyen préventif de combattre la maladie.

Différents microorganismes ont été expérimentés, pour lesquels les mécanismes de l'antagonisme avec *E. amylovora* ne sont pas toujours connus (Delaunay-Cesbron, 2009).

- *Pantoea agglomerans* (anciennement *Erwinia herbicola*) par exemple, produit des composés inhibant la croissance d'*E. amylovora* (Wodzinski et Paulin, 1994). Deux antibiotiques (pantocines A et B) ont été caractérisés chez certaines souches et les gènes impliqués dans leur production ont été déterminés (Wright *et al.*, 2001). BlightBan C9-1 commercialisé au Canada contient la souche de *Pantoea agglomerans* C9-1.
- *Pseudomonas fluorescens*, a été largement étudiée. Elle agirait par compétition nutritive (Wilson et Lindow, 1993). La souche A506 de cette espèce est commercialisée aux USA sous le nom de BlightBan A506TM.
- Des espèces de *Bacillus*, microorganismes de la rhizosphère présents aussi en surface des plantes, peuvent également inhiber la croissance d'*E. amylovora* (Jock *et al.*, 2002). Serenade WPO renferme la souche QST 713 de *Bacillus subtilis* et est commercialisé dans divers pays (mais pas l'Algérie).
- D'autres bactéries épiphytes du pommier et du poirier dont *Erwinia billingiae*, sont également des antagonistes d'*E. amylovora* (Jakovljevic *et al.*, 2006).
- Des variants avirulents sauvages de l'agent pathogène sont également capables de bloquer l'infection (Goodman, 1967). Ils n'ont pas fait



l'objet d'une commercialisation. 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 (Tharaud et al., 1997, Faize et al., 1999 ; Faize et al., 2006).

- En outre d'autres pathosystèmes comme *Ralstonia solanacearum*/tomate (Etchebar et al., 1998) ou *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*/tomate (Moss et al., 2007) ont été utilisés dans la lutte contre *Erwinia amylovora*.

### **4.3 Lutte génétique**

Ce sont les programmes de création variétale par hybridation classique et l'utilisation de la transgénèse qui vise à introduire un gène d'intérêt dans un fond génétique connu utilisés pour la résistance au feu bactérien.

Différentes approches sont explorées, conditionnées par l'efficacité et la durabilité de la résistance, consistent à faire produire à la plante

- des substances antibactériennes (Mourgues et al., 1998)
- des substances inhibitrices de facteurs du pouvoir pathogène (Malnoy et al., 2005).

### **4.4 Stimulation des défenses naturelles de l'hôte**

L'acibenzolar-S-méthyl est un analogue fonctionnel de l'acide salicylique, inducteur de la SAR (systemic acquired resistance) chez un grand nombre de plantes (Friedrich et al., 1996 ; Kunz et al., 1997). En application préventive, il assure un niveau de protection contre le feu bactérien d'environ 50% (Brisset et al., 2000 ; Maxson-Stein et al., 2002).

L'application d'un régulateur de croissance tel que le prohexadione-calcium (ProCa) peut réduire la sensibilité au feu bactérien chez le pommier (Buban *et al.*, 2003). Ce produit est un analogue structural (et inhibiteur spécifique) de monooxygénases impliquées dans la synthèse de gibbérellines et dans le métabolisme des flavonoïdes (Rademacher, 2000). Il induit une modification du métabolisme des flavonoïdes et en particulier une accumulation de lutéoliflavan ainsi qu'une synthèse accrue de son précurseur le lutéoforol (Roemmelt *et al.*, 2003). Ce précurseur présente un effet biocide à large spectre, qui pourrait expliquer une partie de son efficacité vis-à-vis du feu bactérien (Spinelli *et al.*, 2005).

D'autres composés agissant comme stimulateurs des réactions de défense de la plante sont en cours d'étude, certains donnent des résultats encourageants. Ces composés sont d'origine naturelle ou obtenus par synthèse (Brisset *et al.*, 2005).

# **MATERIEL ET METHODE**

## 1. Matériel végétal

Notre travail a été réalisé en choisissant comme plante Hôte de la bactérie *Erwinia amylovora* le poirier (*Pyrus communis* L), et plus précisément la variété *Santa maria*, pour sa grande sensibilité envers ce pathogène.

D'après Gaussen et al. (1982), le poirier (*Pyrus communis* L) est un arbre fruitier à pépins, il appartient à la famille des *Rosacées*.

Phylum : *Spermatophytta*

Sous phylum : *Angiospermatophytina*

Ordre : *Rosales*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous classe : *Rosidaeae*

Famille : *Rosaceae*

Sous famille : *Pomoidaea*

Genre : *Pyrus*

Espèce : *Pyrus communis* L.

Variété : *Santa maria*.

## 2. Description de la station d'étude

Notre expérimentation s'est déroulée au niveau d'un verger de poirier situé dans la commune de Oued El Alleug, il s'agit de l'EAC N°04 KADA Aissa (Figure 11). Il est à signaler que dans ce verger, justement, où le feu bactérien a été déclaré la première fois en Algérie en 2010. Les données relatives à l'historique et l'entretien du verger sont mentionnées dans le (Tableau 03).



**Figure 11** : Image satellite du verger de l'exploitation agricole collective (EAC) N°04  
KADA Aissa

(36°. 564216 Nord, 2°. 812956 Est) (Google maps, 2013)

**Tableau 03** : Historique et entretien du verger.

Caractères	Description
Nom du verger	EAC N° 04 Kada Aissa
Superficie	3,5 Ha
Variété	<i>Santa maria</i>
Porte greffe	Cognassier
Date de plantation	1992-1993
<b>Ecart entre</b> - Lignes - Plants	3 m 2 m
Type de sol	Argileux
<b>Traitement d'hiver</b>  *Nom commercial - Composition - Dose - Date d'application  * Nom commercial - Composition - Dose - Date d'application  * Nom commercial - Composition - Dose - Date d'application	Huile Jaune.  Huile de pétrole+ DNOC (2-Methyl-4,6-dinitro-1-Hydroxybenzene)  30 L/1000L  13 / 02 / 2013  Propicol-70  70 % Propineb  3 Kg/1000L  02/04/2013  Diazain 60%  Diazinon  1,5L /1000 L  16/04/2013

**Tableau 03 (Suite)**

- Matériel de traitement	Atomiseur 1000 L
<b>Amendements</b> - Organique - Chimique - Dose	Fumier (Octobre 2012) / /
<b>Travail du sol</b> - Sous-solage - Disquage	Février 2013 Avril 2013
<b>Taille</b> - Date - Matériel - Destruction des parties taillées - Désinfection des plaies.	Du 10 /01/2013 jusqu'à 30/01/2013 Scie + insécateur (Avec désinfection à l'eau de Javel) Ramassés et Brulés Mastic noire
<b>Type d'irrigation</b>	Forage
<b>Présence de Ruche d'abeilles</b>	2 ruches
<b>Brise vent</b>	Absence
<b>Limitation</b> - Nord - Sud - Est - Ouest	Verger de poirier + maisons Verger d'agrume Maisons Verger d'agrume

Au niveau de ce verger et avec l'apparition des symptômes, attribués par la suite au feu bactérien, des échantillonnages ont été effectués sur l'ensemble des arbres de la parcelle et les organes ciblés sont les bouquets floraux, les rameaux et les jeunes pousses. Ces derniers ont été coupés à l'aide d'un sécateur désinfecté à l'eau de javel après chaque prélèvement et conditionnés dans des sachets en plastique stériles, étiquetés puis acheminés au laboratoire de la station régionale de l'INPV Boufarik (SRPV de Boufarik).

### **3. Identification de l'agent causal**

La démarche et les techniques utilisées pour l'identification de la bactérie sont attribuées à la SRPV de Boufarik.

#### **3.1 Caractérisation macromorphologique**

Les échantillons pris du verger étudié ont subis des isolements sur le milieu LPGA (Annexe 01). Après incubation à 23° C pendant 48 heures et dans le but de purification, le milieu de culture CCT (Annexe 01), considéré un milieu différentiel pour *Erwinia amylovora*, est inoculé et incubé à 26°C pour 48 heures.

#### **3.2 Réaction d'hypersensibilité (HR)**

Le test HR permet de différencier entre les bactéries pathogènes et les bactéries saprophytes, ce test sert à mettre en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie par le dessèchement des zones d'inoculation sur les feuilles de tabac.

Il consiste à préparer une suspension bactérienne à une concentration de  $10^8$  ufc/ml. A l'aide d'une seringue tuberculine de 1ml la suspension bactérienne est injectée dans l'espace intercellulaire le long de la nervure centrale de la face inférieur de la feuille de tabac variété Samsoun. Le plant inoculé est laissée à une température ambiante pour une période de 48 heures.

Lorsque la réaction est positive, elle se traduit par l'apparition d'une plage nécrotique dans la zone foliaire inoculée avec la bactérie. Si elle se traduit par une absence de nécrose elle est dite négative.

#### **3.3 Tests biochimiques**

##### **3.3.1 Coloration Gram (test à la potasse KOH3%)**

La coloration de Gram Permet de différencier les bactéries à Gram<sup>+</sup> ou Gram<sup>-</sup>.

Dans ce test des colonies de la bactérie étudiée sont émulsionnées et homogénéisées avec une goutte de réactif (KOH 3%) déposée sur une lame en verre puis élevés de 1 cm ou 2 cm à l'aide de l'ensemenceur .



- Si le test est positif (KOH <sup>+</sup>) : la suspension présente un caractère visqueux et filant, la bactérie à Gram <sup>-</sup>.

- Si le test KOH - : la suspension ne présente pas de viscosité, bactérie à Gram +.

### 3.3.2 Test Oxydase

L'oxydase permet la détermination de la présence de l'enzyme phénylène diamine oxydase qui est capable d'oxyder un réactif le N diméthyl paraphénylène diamine

Sur papier Wattman imprégné au paravent de quelques gouttes du réactif (N diméthyl paraphénylène diamine), un frottis de la crème bactérienne est réalisé à l'aide de pipette Pasteur. Dans ce test la réponse est immédiate :

- si la crème bactérienne devient rose rougeâtre en moins de 10 secondes, la bactérie possède donc les cytochromes oxydase, réaction positive (Oxydase +)

- Si la couleur de la culture bactérienne ne change pas, la bactérie ne possède pas les cytochromes oxydase, la réaction est négative (Oxydase -).

### 3.3.3 Test Catalase

La catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau (H<sub>2</sub>O) et ½ O<sub>2</sub>.

Dans ce test une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est déposée sur une lame en verre et mit en contacte avec la crème bactérienne prélevée avec une pipette pasteur.

- Si des bulles se forment, la bactérie possède la catalase (Catalase +).

- Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme (Catalase -).

### **3.3.4 Test Hugh et Leifson (HL)**

Le test HL permet la détermination du métabolisme oxydatif ou fermentatif de la bactérie par lequel la bactérie dégrade le glucose en présence d'un indicateur de pH.

Le principe de ce test consiste à ensemencer la crème bactérienne dans deux tubes contenant le milieu Hugh et Leifson (HL) (Annexe 01) coloré en vert par un indicateur de pH (bleu de Bromothymol) pendant 24 à température ambiante. L'un des tubes est recouvert avec de l'huile de vaseline (Tube F : fermé) tandis que l'autre sans l'huile de vaseline (Tube O : ouvert).

- Si le Haut du Tube O jaune : il y a eu un changement de couleur dû à l'acidification dans le haut du tube O uniquement : la bactérie a besoin d'oxygène pour dégrader le glucose. Les bactéries sont oxydatives.

- Si le Tubes O et F entièrement jaunes : il y a eu virage de l'indicateur coloré à cause de la production d'acide dans tout le tube : les bactéries ont utilisé le glucose en présence et en absence d'oxygène. Les bactéries sont donc fermentatives.

- Si le Haut du tube O bleu : la bactérie utilisation des peptides comme source d'énergie.

### **3.4 Test sérologique : immunofluorescence (IF)**

La base de ce test est l'utilisation d'un composé fluorescent conjugué à un anticorps.

La technique consiste à préparer une solution à partir de la crème bactérienne mélangé avec l'eau distillée stérile. Cette solution subite une centrifugation à 1200 tours/mn pendant 10 mn ainsi le culot récupéré mélangé avec le PBS (*phosphate buffered saline*) (Annexe 01) subit une autre centrifugation, cette étape se répète une deuxième fois, à la fin de cette étape le culot mélangé avec 1µl de PBS constitue la solution mère.

Plusieurs étapes se succèdent par la suite :

- Dilution de la solution mère à  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$ .
- 20 $\mu$ l de suspension purifiée est déposée par puit sur une lame multipuits qui sera renfermer dans une boîte de pétri recouverte d'un papier buvard humidifié (Chambre humide)
- Incubation à 50°C pendant 30mn.
- Fixation à l'alcool
- Séchage à l'air libre
- Dépôt de 20 $\mu$ l sérum (spécifique de *Erwinia amylovora* : Ea 1077-17) par puit.
- Incubation pendant 30 mn à 37 °C à l'intérieur de la chambre noire.
- Lavage 3 fois avec du PBS (*phosphate buffered saline*) (Annexe 01).
- Séchage à l'air libre.
- application de 20 $\mu$ l de conjugué (IgG)
- Incubation pendant 30 mn à 37 °C
- Lavage 3 fois avec du PBS (Annexe 01).

A la fin les lames sont séchées convenablement et observées au microscope à épifluorescent ; objectif 100.

#### **4. Essai de Bion 50 WG**

##### **4.1 Présentation du produit**

Hors l'Allemagne, ce produit est commercialisé dans différents pays européens à savoir : république Tchèque, Espagne, France, Italie et UK, où il est utilisé sur différents plantes ornementale, maraichères, arboricole et céréalière (Cole, 1999 ; Benhamou et Belanger, 1998 ; Brisset et *al.*, 2000) .

Ce produit a été récemment homologué en Algérie (2011) et commercialisé. Les caractéristiques figurent dans le tableau ci-dessous (Tableau 04).

**Tableau 04** : caractéristique du produit Bion 50 WG

<b>Caractère</b>	<b>Description</b>
Matière active	Acibenzolar-S-Methyl
Concentration	50 %
Formulation	Granulé à disperser dans l'eau (granulé dispersable)
Couleur	Beige à marron
Activité	Stimulateur de défense naturelle
Groupe de substances	Benzothiadiazole
Formule brute	$C_8H_6N_2OS_2$
Autres composés	- silica - sodium dibutylnaphthalenesulphonate
L'origine des substances	Synthétique
Firme	Syngenta
Dose d'application	150 g/ 1000L/ Ha
Période d'application	- en préfloraison et au moment de la floraison - à la nouaison et pendant le développement du fruit
Dangers	- Irritation cutanée - Irritation oculaire - Toxicité chronique pour le milieu aquatique
Marque	Registered trademark of aSyngenta Group Company
Homologation N° (Algérie)	011 064

## 4.2 Application du traitement

Le traitement des arbres a été effectué en trois apports selon le stade de développement des arbres :

- ✓ Le premier traitement appliqué au stade bouton floraux (début Avril)
- ✓ Le deuxième traitement appliqué au stade fleurs épanouis (mi Avril)
- ✓ Le troisième traitement appliqué au stade nouaison (fin Avril).

Lors de traitement au mois d'Avril, la température diurne moyenne entre 14 °C et 17 °C (Agence nationale des ressources hydriques (ANRH) soumaa) et le temps humide réunissaient les conditions nécessaires pour l'activation de la bactérie.

Pour chaque zone les arbres ont servi le produit Bion 50WG pulvérisé à l'aide d'un pulvérisateur à dos (capacité de 16 L) à une concentration de 2,5 g/16 L une concentration déterminée selon le mode d'utilisation qui est de 150g/1000 L/Ha (Figure 12).

Nous sommes basés pendant le travail sur la pulvérisation des boutons floraux et les fleurs se sont les organes les plus sensibles à l'infection par *E. amylovora* (Delaunay-Cesbron S., 2009), puis sur les autres parties de l'arbre à savoir les branches, les feuilles et le tronc.



**Figure 12** : Arbre pulvérisé par le produit Bion 50WG.



### 4.3 Dispositif expérimental

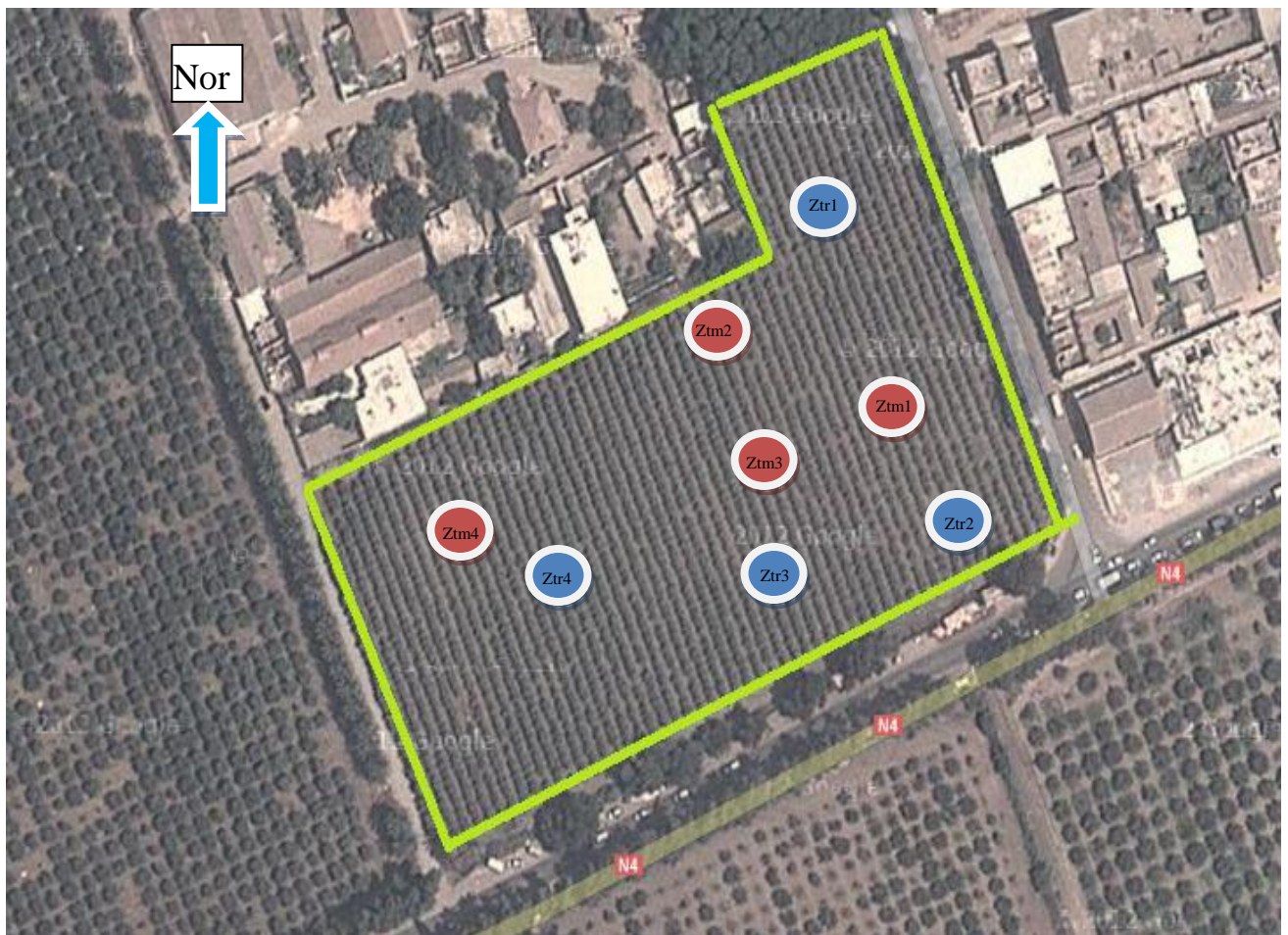
Le dispositif expérimental adopté *in situ* est un dispositif en blocs aléatoires complet. Nous avons étudié l'effet d'un seul facteur et son interaction avec l'agent pathogène. Ce facteur est représenté par un seul niveau :

Niveau 01 : Application de produit Bion 50 WG.

L'essai a été réalisé en 4 blocs avec 4 blocs en témoin (Figure 13), chaque bloc comporte 25 arbres par traitement, soit 100 arbres par traitement. Au total les observations ont été effectuées sur 200 arbres.

Les traitements sont :

-  **T1**: Arbres infecté par le pathogène *Erwinia amylovora* mais non traité avec le produit Bion (50Wg).
-  **T2** : Arbres infecté par le pathogène et traité avec le produit Bion 50 Wg.



Ztr : Zone traitée ; Ztm : Zone témoin

**Figure 13** : Répartition des traitements au niveau du verger étudié.

#### 4.4 Paramètres étudiés

L'induction de la résistance a été recherchée à travers l'apparition des symptômes typiques du feu bactérien selon des observations effectuées dès la première application du produit pendant une période de 03 mois.

Le diagnostic symptomatologique s'est basé sur l'observation et le dénombrement des symptômes typiques du feu bactérien :

- 1 : noircissement des bouquets floraux
- 2 : noircissement des fruits noués.
- 3 : noircissement des feuilles.
- 4 : noircissement des branches.
- 5 : recourbement des jeunes pousses
- 6 : sécrétion des exsudats

Nous avons évalué le degré de l'efficacité du produit de traitement en calculant le taux d'infection des bouquets floraux et les fruits noués.

❖ Le taux d'infection des bouquets floraux (IBF %) s'exprime comme suit :

$$\text{IBF (\%)} = (\text{nombre total de BFa} / \text{nombre total de BF}) \times 100$$

BFa : Bouquets floraux atteints.

❖ Le taux d'infection des Fruits noués (IFN %) s'exprime comme suit :

$$\text{IFN (\%)} = (\text{nombre total de FNa} / \text{nombre total de FN}) \times 100$$

FNa : Fruits noués atteints.

En outre, nous avons suivi l'évolution du nombre de jeunes pousses, de rameaux et des feuilles sur lesquels les symptômes du feu bactérien sont typiques.

# **RESULTATS ET DISCUSSION**



## **1. Identification de l'agent causal**

### **1.1 Aspect des colonies**

Les ensemencements réalisés sur le milieu LPGA ont eu pour but de rechercher les colonies bactériennes qui présentent le même aspect des colonies d'*Erwinia amylovora* : couleur blanches, circulaires, bombées, lisses, muqueuses, et brillantes. Ces colonies ont été inoculées sur le milieu différentiel CCT,

Dans ce milieu sont apparues les colonies d'un diamètre moyen de 2mm à 4 mm d'un aspect convexe, luisantes et d'une couleur grisâtre à bleutée alors dans la vue de dessous elles sont entourées d'une marge luisante. Ce qui correspond aux caractères morphologiques d'*Erwinia amylovora*.

### **1.2 Réaction d'hypersensibilité (HR)**

Après 48h d'injection de la suspension bactérienne sur tabac variété Samsoun un dessèchement est apparu dans la zone inoculé indiquant une zone nécrotique, ce qui indique que la bactérie inoculée est une bactérie pathogène.

### **1.3 Caractérisation biochimique**

#### **1.3.1 Coloration Gram (test à la potasse KOH3%)**

Dans ce test, l'interaction entre les colonies de la bactérie étudiée avec le réactif KOH 3% a fait apparaître une suspension d'un caractère visqueux et filant, ce qui indique que la bactérie est à Gram  $\bar{}$ .

#### **1.3.2 Test Oxydase**

Sur papier Wattman imprégné au paravent de quelques gouttes du réactif N diméthyl paraphénylène diamine aucun changement dans la couleur de la culture bactérienne, la bactérie ne possède pas les cytochromes oxydase, la réaction est négative ce qui indique que la bactérie est Oxydase -.

#### **1.3.3 Test Catalase**

L'application de ce test à montrée une réaction positif est induite et reflétée par l'apparition des bulles lors de la mise en contacte de la goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> avec la crème bactérienne, la bactérie possède la catalase (Catalase +).

### 1.3.4 Test Hugh et Leifson (HL)

Ce test consiste à ensemencer la crème bactérienne dans deux tubes contenant le milieu Hugh et Leifson (HL) coloré en vert par un indicateur de pH (bleu de Bromothymol) pendant 24 à température ambiante. L'un des tubes est recouvert avec de l'huile de vaseline (Tube F : fermé) tandis que l'autre sans l'huile de vaseline (Tube O : ouvert).

Les résultats ont montrés que les deux Tubes O et F sont entièrement jaunes : il y a eu virage de l'indicateur coloré à cause de la production d'acide dans tout le tube résultant de la dégradation par la bactérie de glucose en présence et en absence d'oxygène. La bactérie est donc fermentative.

### 1.4 Identification par test sérologique : immunofluorescence (IF)

L'observation des lames au microscope à épifluorescent ; objectif 100, a montré une fluorescence vert brillant qui est apparue confirmant que la bactérie étudiée est *Erwinia amylovora*.

### 1.5 Caractères de la bactérie identifiée

Les différents tests réalisés au niveau de laboratoire de la SRPV de Boufarik ont permis d'identifier les caractéristiques de la bactérie responsable de la maladie sur poirier (Tableau 05) et de délivrer un bulletin d'analyse positif portant le numéro P97/DR/2011 et révélant la présence d'*Erwinia amylovora*.

**Tableau 05 : Résultats des tests d'identification**

Tests	Biologique	Biochimique				Sérologique
	Hypersensibilité sur Tabac	Gram	Oxydase	Catalase	Hugh et Leifson	Immunofluorescence (IF)
<i>Erwinia amylovora</i>	+	-	-	+	F	-

+ : Réaction positive ; - : Réaction négative. ; F : Fermentative.

## 2. Evaluation du développement du Feu bactérien

En effet, au niveau du verger et en période de dormance végétative, lors des premières visites d'observations, afin de délimiter les zones de traitement et les zones témoins, nous avons observé la présence de chancre sur certains arbres ainsi qu'un noircissement au niveau de quelques rameaux que nous avons jugé qu'elles reflètent les symptômes typique du feu bactérien.

L'enregistrement des données relatives aux suivi de l'évolution de la maladie ont débuté le mois d'Avril avec la première application du traitement jusqu'à la fin du mois de mai. L'intervalle entre chaque observation est de 4 à 3 jours. Il est à signaler que les observations 01 05 et 06 correspondent respectivement aux traitements 01 02 et 03.

### 2.1 Sur les rameaux

Durant la période de dormance et en mois de Mars nous avons noté la présence de chancre et des noircissements sur quelques rameaux au niveau des zones traitées et les zones témoins (Figure 14)



**Figure 14:** Noircissement et aspect des chancres sur les rameaux observés en période de dormance (Originale : Mars 2013)

Au cours du suivi de la maladie, nous avons enregistré une évolution progressive du nombre de rameaux infectés au niveau des deux zones. Ce nombre étant presque identique et passe de 42 à 105 rameaux atteints au niveau de la zone traitée alors qu'au niveau de la zone témoin il évolue de 40 à 108 rameaux atteints (Tableau 06) (Figure 15).

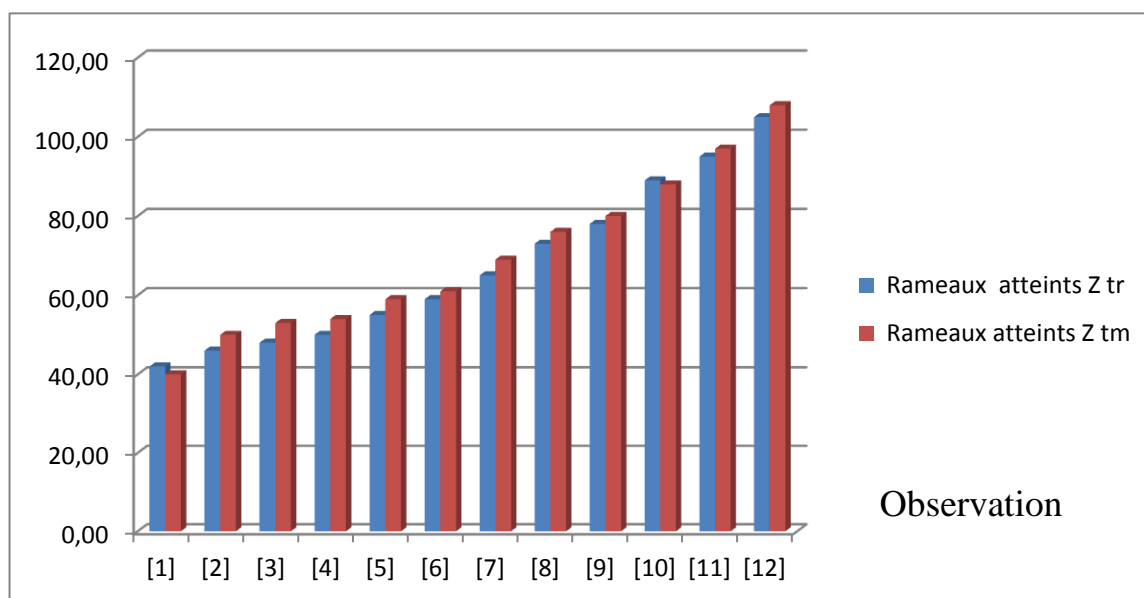
**Tableau 06** : Evolution du nombre de rameau atteints dans la zone traité et la zone non traitée

Observations	[1] <sup>*</sup>	[2]	[3]	[4]	[5] <sup>**</sup>	[6] <sup>***</sup>	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]
Date d'observation (2013)	3 et 4 Avril	06 Avril	09 Avril	13 Avril	16 Avril	20 Avril	23 Avril	04 Mai	11 Mai	14 Mai	25 Mai	28 Mai
Rameaux atteints Z tr	42,00	46,00	48,00	50,00	55,00	59,00	65,00	73,00	78,00	89,00	95,00	105,00
Rameaux atteints Z tm	40,00	50,00	53,00	54,00	59,00	61,00	69,00	76,00	80,00	88,00	97,00	108,00

\* : 1<sup>er</sup> traitement ; \*\* : 2<sup>em</sup> traitement ; \*\*\* : 3<sup>em</sup> traitement.

Z : Zone, tr : Traitée, tm : Témoin

Nombre de rameaux atteints



Z tr : Zone traitée.

Z tm : Zone témoin.

**Figure 15:** Evolution du nombre moyen des rameaux atteints de la maladie.

En parallèle nous avons noté le nombre d'arbres sur lesquels des chancres ou des noircissements sont apparus sur les rameaux. Ce nombre a évolué de 26 arbres au niveau des zones traitées et de 21 arbres au niveau des zones non traitées pour atteindre 64 arbres et 68 arbres respectivement dans les deux zones (Tableau 07).

**Tableau 07** : Evolution du nombre d'arbres dont les rameaux sont atteints dans la zone traité et la zone non traitée

Observations	[1] <sup>*</sup>	[2]	[3]	[4]	[5] <sup>**</sup>	[6] <sup>***</sup>	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]
Date d'observation (2013)	3 et 4 Avril	06 Avril	09 Avril	13 Avril	16 Avril	20 Avril	23 Avril	04 Mai	11 Mai	14 Mai	25 Mai	28 Mai
Z tr	26	28	28	31	33	35	39	43	46	53	58	64
Z tm	21	29	30	32	35	37	41	45	47	56	62	68

## 2.2 Sur les feuilles

C'est au niveau des zones traités qu'il y a eu l'apparition des premiers signes d'infection des feuilles repérées pendant le deuxième traitement avec le produit Bion 50 WG. : Il s'agit d'apparition d'un noircissement sur l'extrémité des feuilles (Figure 16). Au niveau des zones non traités l'évolution de l'infection a débuté après le deuxième traitement ou nous avons enregistré une augmentation dans le temps allant jusqu'à 1710 feuilles atteintes dans les zones non traités et de 1654 par rapport aux zones traitées (Figure 17).

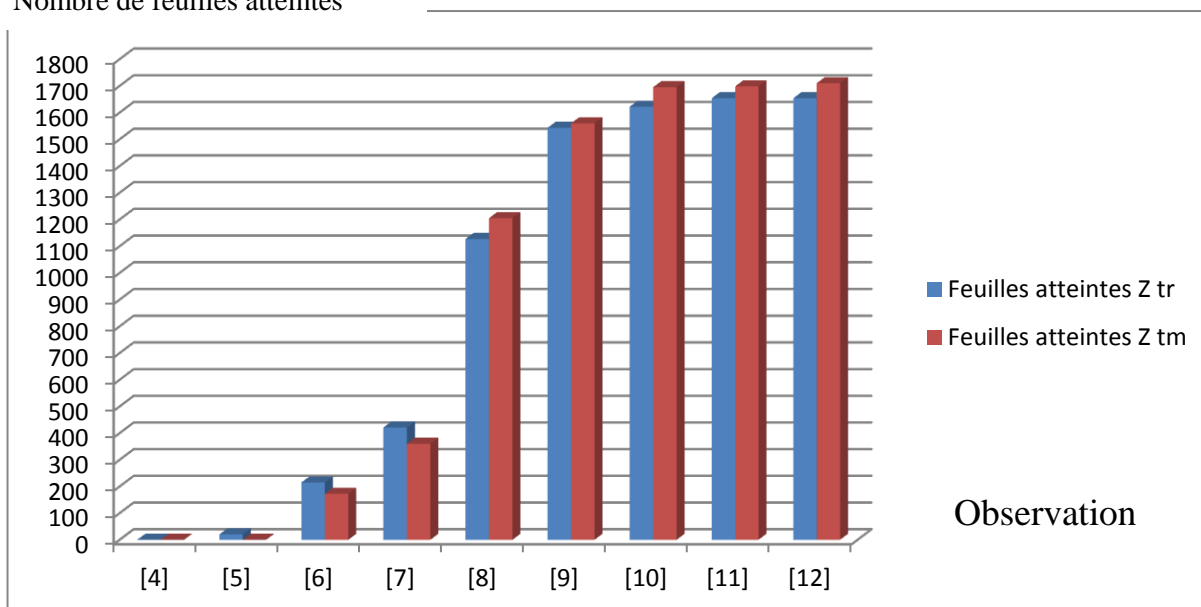


**Figure 16** : Aspect des feuilles atteintes du feu bactérien

**Tableau 08:** Evolution du nombre de feuilles atteintes dans la zone traité et la zone non traitée

Observations	[4]	[5]**	[6]***	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]
Date d'observation (2013)	13 Avril	16 Avril	20 Avril	23 Avril	04 Mai	11 Mai	14 Mai	25 Mai	28 Mai
Feuilles atteinte Z tr	0	20	215	421	1127	1543	1622	1654	1654
Feuilles atteinte Z tm	0	0	172	360	1205	1560	1695	1698	1710

Nombre de feuilles atteintes



Z tr : Zone traitée.

Z tm : Zone témoin.

**Figure 17:** Evolution du nombre moyen des feuilles atteintes de la maladie.

Durant notre expérimentation et dans des zones traitées par le produit Bion 50 WG, nous n'avons pas observé des symptômes sur les feuilles et les bouquets floraux situés sur certains rameaux sur lesquels les chancres sont visibles (Figure 18).





**Figure 18:** feuilles et fruits asymptotique situés sur des rameaux présentant des chancres (Originale : Avril 2013)

### 2.3 Sur les jeunes pousses

Au cours de notre suivi de la maladie, nous avons noté l'infection des jeunes pousses et leur apparition en forme d'un cross (Figure 19) après le deuxième traitement au niveau des zones traité, alors qu'au niveau des zones témoins ce n'est qu'après le troisième traitement qu'il ya eu l'apparitions de jeunes pousses atteintes.



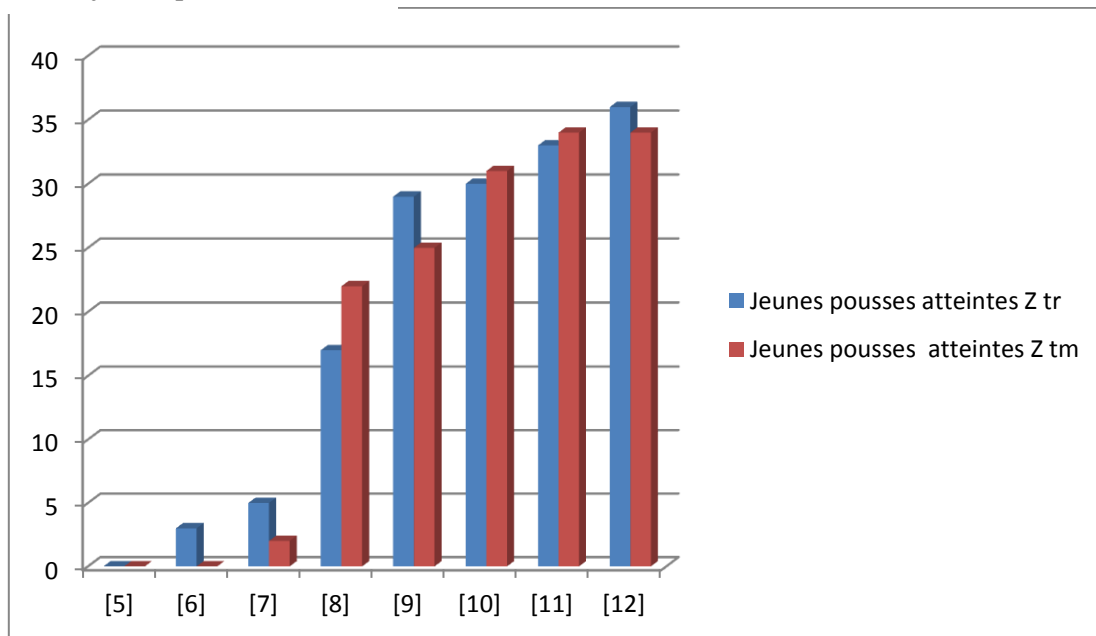
**Figure 19 :** symptôme du feu bactérien sur jeune pousse (Zone traité)  
(Originale : Avril 2013)

Cependant, nous avons enregistré un faible nombre de jeunes pousses atteintes du feu bactérien au niveau des deux zones. Ce nombre de 3 à 36 jeunes pousses repéré au niveau de la zone traitée et entre 2 à 34 jeunes pousses au niveau de la zone témoin (Tableau 09) (Figure 19).

**Tableau 09:** Evolution du nombre de jeunes pousses atteintes dans la zone traité et la zone non traitée

Observations	[5]**	[6]***	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]
Date d'observation (2013)	16 Avril	20 Avril	23 Avril	04 Mai	11 Mai	14 Mai	25 Mai	28 Mai
Jeunes pousses atteintes Z tr	0	3	5	17	29	30	33	36
Jeunes pousses atteintes Z tm	0	0	2	22	25	31	34	34

Nombre de jeunes pousses atteintes



Z tr : Zone traitée.

Z tm : Zone témoin.

**Figure 20:** Evolution du nombre moyen de jeunes pousses atteintes de la maladie.



## 2.4 Sur bouquets floraux

Au niveau des deux zones (traité et témoin), les symptômes de la maladie ont apparu sur les bouquets floraux sur (Figure 21).

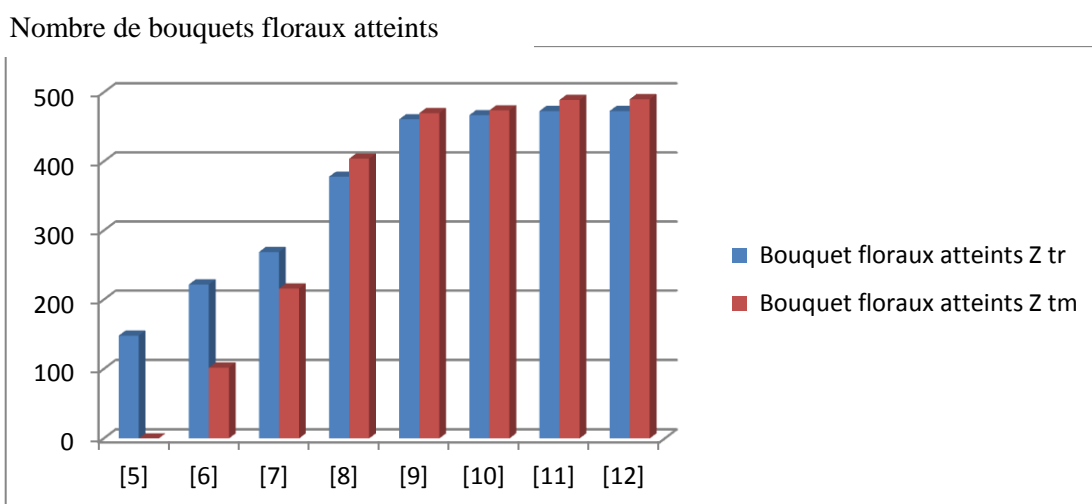


**Figure 21** : Symptôme du feu bactérien sur bouquet florale (Zone traitée).  
(Originale : avril 2013)

Dans les deux zones nous avons enregistré un faible nombre de bouquets floraux malade évoluant entre 148 à 473 Bf (Bouquets floraux) dans la zone traitées et entre 102 à 490 Bf opéré dans la zone témoin (Tableau 10) (Figure 22).

**Tableau 10** : Evolution du nombre de bouquets floraux atteints dans la zone traité et la zone non traitée

Observations	[5]**	[6]***	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]
Date d'observation (2013)	16 Avril	20 Avril	23 Avril	04 Mai	11 Mai	14 Mai	25 Mai	28 Mai
Bouquets floraux atteint Z tr	148	222	269	378	461	467	473	473
Bouquets floraux atteint Z tm	0	102	216	404	470	474	489	490



**Figure 22 :** Evolutions du nombre de bouquets floraux atteints dans les zones traitées et zones non traitées.

Nous avons également déterminé le taux d'infection des bouquets floraux. Pour cela nous nous avons estimé le nombre de bouquet floraux au niveau des deux zones (traitées et non traitées), ce nombre étant élevé dans la zone traité entre 2714 B.F. (Bouquet florale) et 5880 B.F. par rapport à la zone non traités où il a atteint 4223 B.F. (Tableau 11).

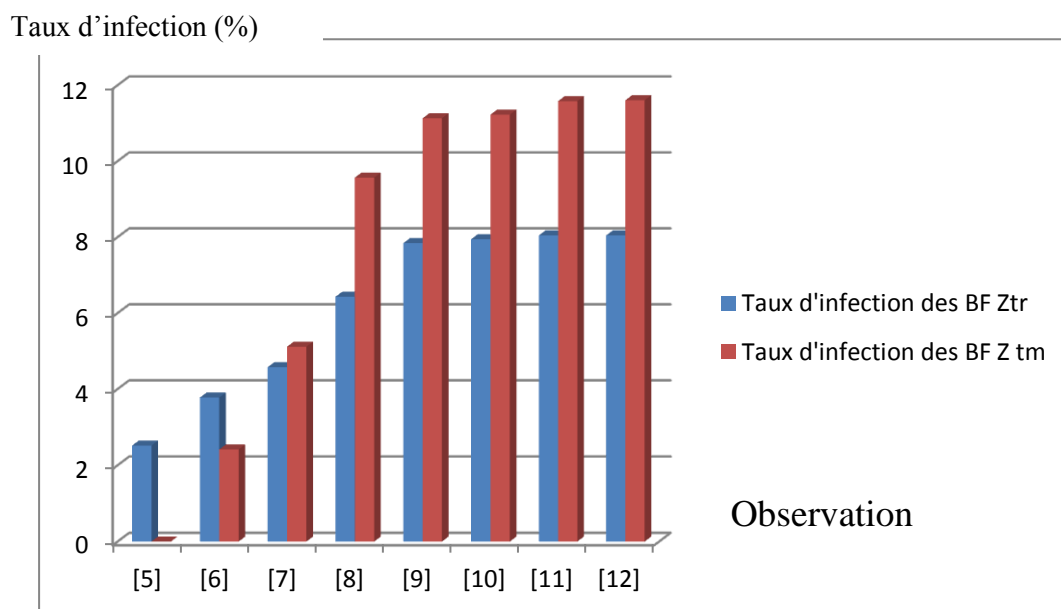
**Tableau 11 :** Evolution du nombre de bouquets floraux dans la zone traité et la zone non traitée

Observations	[1] <sup>*</sup>	[2]	[3]	[4]	[5] <sup>**</sup>	[6] <sup>***</sup>	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]
Date d'observation (2013)	3 et 4 Avril	06 Avril	09 Avril	13 Avril	16 Avril	20 Avril	23 Avril	04 Mai	11 Mai	14 Mai	25 Mai	28 Mai
Bouquet floraux Z tr	2714	4451	4869	5871	5880	5880	5880	5880	5880	5880	5880	5880
Bouquet floraux Z tm	2520	4164	4220	4223	4223	4223	4223	4223	4223	4223	4223	4223

L'infection a débuté 14 jours après l'apport du premier traitement au niveau des deux zones (traitées et non traitées) avec un taux faible de 3,77 % dans les zones traitées tandis qu'au niveau de la zone témoins il est de l'ordre de 2,41 %. Les taux d'infection ont augmentés 3 jours après l'apport du dernier traitement pour atteindre un taux de 8,04 % à la fin des observations au niveau des zones traitées, et jusqu'à 11,7 % au niveau des zone non traité (Tableau 12) (Figure 23).

**Tableau 12:** Evolution du taux d'infection des bouquets floraux dans la zone traité et non traité.

Observations	[1] <sup>*</sup>	[2]	[3]	[4]	[5] <sup>**</sup>	[6] <sup>***</sup>	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]
Date d'observation (2013)	3 et 4 Avril	06 Avril	09 Avril	13 Avril	16 Avril	20 Avril	23 Avril	04 Mai	11 Mai	14 Mai	25 Mai	28 Mai
Taux d'infection des BF Z tr (%)	0	0	0	0	2,517	3,7755	4,57483	6,4286	7,8401	7,9422	8,044	8,04
Taux d'infection des BF Z tm (%)	0	0	0	0	0	2,4153	5,11485	9,5667	11,13	11,224	11,58	11,6



BF Ztr : Bouquet floraux zone traités.

BF Ztm : Bouquet floraux zone témoin.

**Figure 23:** Evolution du taux d'infection (%) de bouquets floraux.

## 2.5 Sur fruits noués

Nous avons enregistré au cours de notre suivi du développement physiologique des arbres l'évolution du nombre de fruits noués qui atteint 15166 au

niveau de la zone traitée et 11498 au niveau de la zones non traité (témoin) et sur lesquels nous avons contrôlé l'apparition des symptômes (Figure 24) (Tableau 13)



**Figure 24** : Symptôme du feu bactérien sur fruits (Zone traité) (Originale : Avril 2013)

**Tableau 13**: Evolution du nombre de fruits noués dans la zone traité et non traité

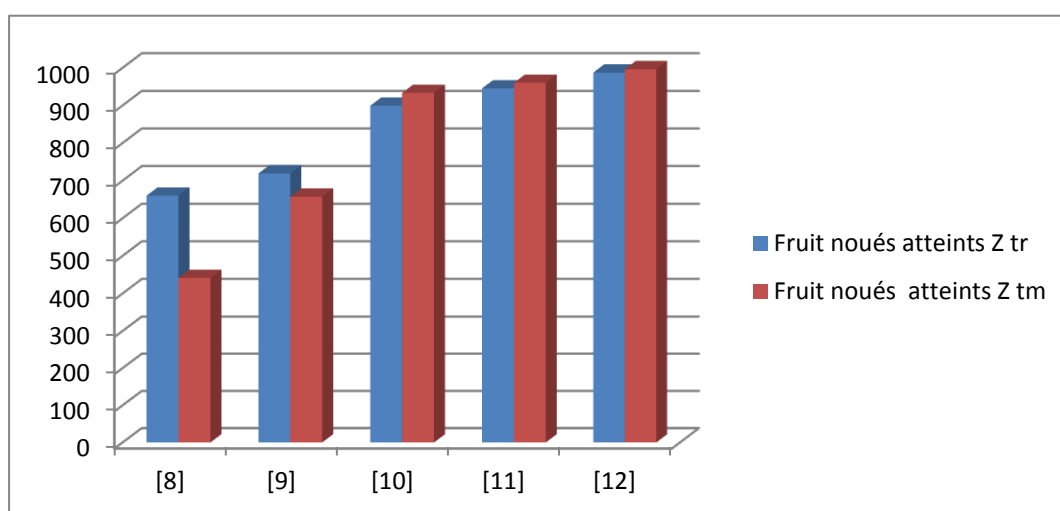
Observations	[3]	[4]	[5]**	[6]***	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]
Date d'observation (2013)	09 Avril	13 Avril	16 Avril	20 Avril	23 Avril	04 Mai	11 Mai	14 Mai	25 Mai	28 Mai
Fruit noués Z tr	0	293	293	1783	15110	15117	15119	15119	15124	15166
Fruit noués Z tm	0	149	149	3289	11440	11471	11476	11488	11494	11498

Les symptômes sont apparus après l'apport du troisième traitement, nous avons enregistré un nombre de fruits noués sur lesquels les symptômes sont visibles de 987 dans les zones traités et de 996 dans les zones non traités (Tableau 14) (Figure 25).

**Tableau 14 :** Evolution du nombre de fruits noués atteint dans la zone traité et non traité

Observations	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]
Date d'observation (2013)	04 Mai	11 Mai	14 Mai	25 Mai	28 Mai
Fruits noués atteints Z tr	660	719	899	945	987
Fruits noués atteints Z tm	441	657	933	960	996

Nombre des fruits noués atteints



**Figure 25 :** Evolution du nombre de fruit noués des zones traités et non traités.

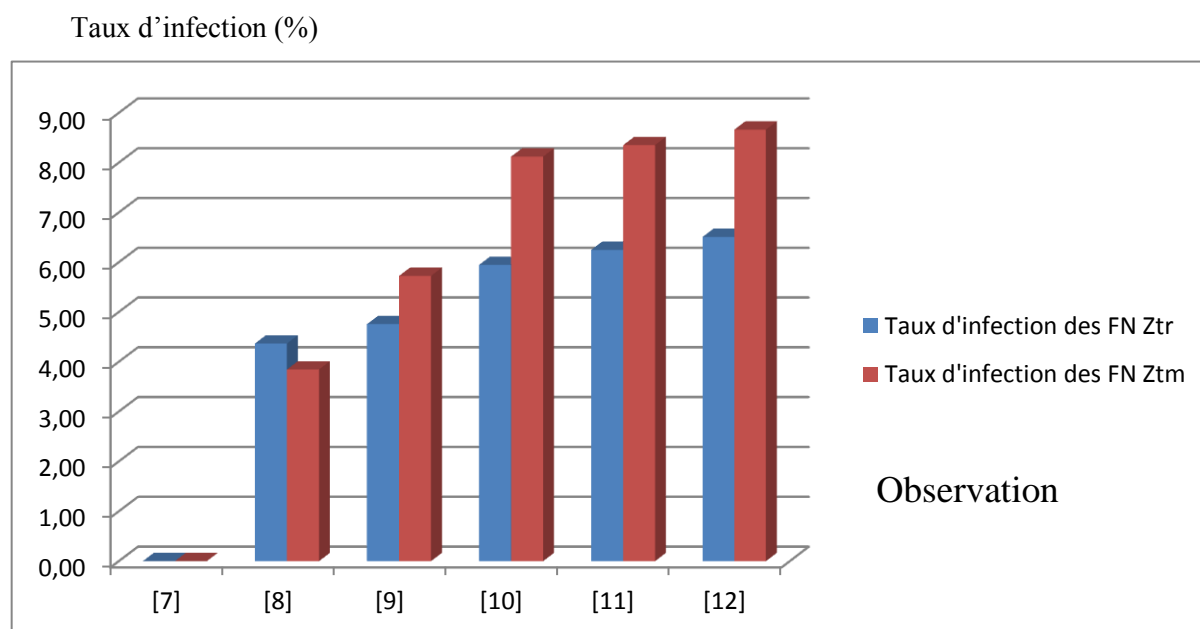
Sur la base des deux indices cités au paravent nous avons déterminé le taux d'infection des fruits noués.

Nous avons enregistré une augmentation continue de taux d'infection débuté après le troisième traitement. Un taux d'infection de 8,66 % repéré au niveau des zones non traitées (témoin) alors il est inférieur dans les zones traitées de l'ordre de 6,51 % (Tableau 15)(Figure 25).

**Tableau 15:** Evolution du taux d'infection des fruits noués dans la zone traité et non traité.

Observations	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]
Date d'observation (2013)	04 Mai	11 Mai	14 Mai	25 Mai	28 Mai
Taux d'infection des FN Ztr	4,37	4,76	5,95	6,25	6,51
Taux d'infection des FN Z tm	3,84	5,72	8,12	8,35	8,66

FN : Fruits noués.



FN Z tr : Fruits noués zone traitée  
 FN Z tm : Fruits noués zone témoin

**Figure 26 :** Evolution du taux d'infection dans le temps des fruits noués.

## 2.6 Sécrétion des exsudats

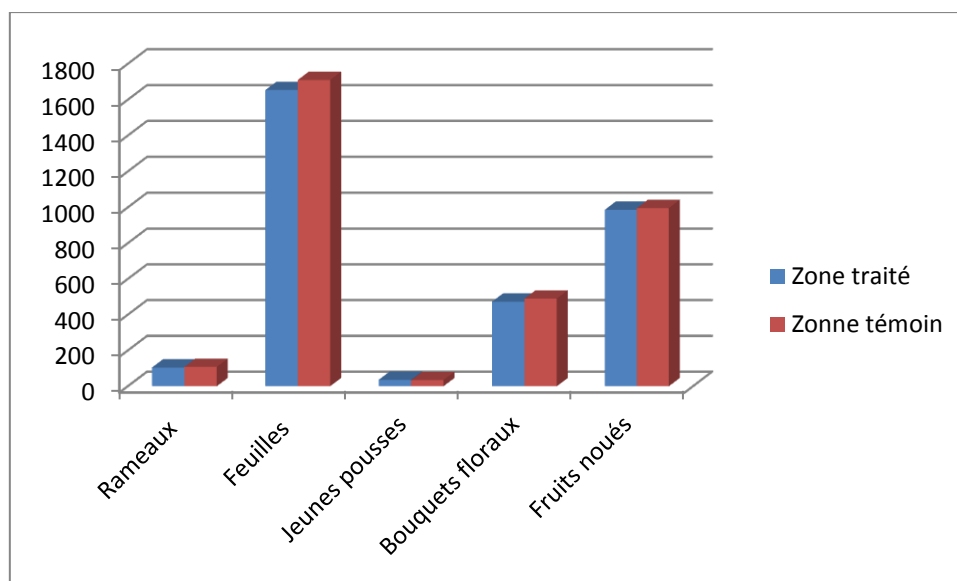
Au cours de notre suivi de l'évolution de la maladie nous n'avons observé aucune sécrétion des exsudats que ce soit dans les zones traitées ou les zones témoins.

## 2.7 Evaluation de l'évolution de la maladie

Rappelant que les observations effectuées ont portées essentiellement sur les rameaux, les bouquets floraux, les fruits noués et les jeunes pousses sur lesquelles les symptômes sont visibles, nous avons enregistré une variation dans le nombre de ces parties atteintes qui ne diffère pas beaucoup entre les zones non traités ou témoin et les zones traités (Figure 27).

Les feuilles ont constitué les parties les plus atteintes estimées de 1654 au niveau de la zone traité et de 1710 dans la zone non traité, suivis par les fruits en stade de nouaison et de grossissement où le nombre est de 987 et 996 respectivement pour la zone traitée et la zone témoin. Alor qu'au niveau des rameaux ce sont en générale les chancres observés en hiver qui ont repris leur évolution à cela s'ajoute l'apparition d'un noircissement sur d'autre rameaux ce qui explique le nombre enregistré (105 pour la zone traitée et 108 pour la zone témoin) (Figure 27).

Aussi, nous avons enregistré un nombre faible de jeunes pousses qui ont développé le symptôme du feu bactérien qui est de 36 dans la zone traitée et 34 dans la zone non traitée.



**Figure 27** : Nombre des parties atteintes par le feu bactérien

A la fin de l'expérimentation tous les arbres présents dans les deux zones ont présentés des symptômes du feu bactérien observés beaucoup plus sur les feuilles et les fruits.

### **3. Interprétation des résultats**

La révélation de la présence du feu bactérien dans le verger de poirier à travers les différents tests réalisés au niveau de la station régionale de l'INPV Boufarik a incité les agriculteurs (membres de l'EAC 04 Kada issa) à faire face à cette bactérie qui fait partie des organismes de quarantaine contre laquelle plusieurs méthodes de lutte sont utilisées à l'exemple de Bion 50 WG utilisé dans notre expérimentation.

Nous avons entamé notre travail expérimental en période de repos végétatif durant le quel nous avons pu enquêter l'ensemble de la parcelle et de délimiter les zones les plus homogènes qui ont servi soit de zone témoins ou zones de traitement toutes en prenant en considération les façons d'entretien du verger et la présence des ruches d'abeilles qui serviront de facteurs de dissémination du feu bactérien.

Au début du mois d'Avril et avec la dominance de bouquets floraux nous avons réaliser notre premier rapport du produit Bion 50 WG qui est considéré comme un produit préventif utilisé comme un stimulateur des défenses naturelles des plantes contre certaines maladies bactériennes parmi lesquelles figure le feu bactérien (Maxson-Stein et *al.*, 2002 ; Soylu et *al.*, 2003).

Ce mois été caractérisé par une augmentation de température, en moyenne entre 14° C et 17°C, et de l'humidité permettant ainsi l'apparition de plus en plus des symptômes sur les différents organes de l'arbre.

Cependant nous avons réalisés encore notre deuxième et troisième apport du produit Bion 50 WG qui synchronise avec le stade plein floraison, jugé comme étant un stade très sensible envers l'infection bactérienne, et le stade nouaison (Delaunay-Cesbron, 2009).



Les premiers symptômes du feu bactérien que nous avons observés ont apparus sur les fleurs de la zone traitée N°2 sous forme d'un noircissement qui a touché l'ensemble des parties de la fleur sans qu'il y ait autres symptômes sur feuilles avoisinantes ou rameaux porteur. En même observation aucun développement de symptômes n'a été enregistré au niveau des autres zones traitées et la zone non traitée malgré la présence des chancres et des noircissements dans les rameaux de l'année précédente et qui sont considérés comme source de l'inoculum.

L'apparition des symptômes sur les fleurs est attribuée à la présence des stomates spécialisée des nectaires, qui secrètent le nectar dans l'hypanthium (réceptacle florale) et en présence de condition d'humidité et de température optimales l'hypanthium constitue un site favorable de l'invasion bactérienne chez le poirier (Pusey, 1999).

L'évolution de la maladie dans le temps, au niveau des zones traitées et les zones non traitées, a permis l'apparition sur les rameaux des chancres très secs avec une écorce détachée en longitude (Figure 28). Aussi des plages nécrotiques plus sombres ont été repérées sur les feuilles et les fruits en stade de nouaison ou en grossissement. Ces nécroses se propagent pour atteindre les pétioles et les tiges aboutissant à l'apparition de jeunes pousses en forme de crosse.



**Figure 28** : Aspect des chancres (Zone traitée).

Avec la mort des cellules de l'hôte avec lesquelles la bactérie a été en contact, cette dernière ne reste pas localisée au niveau de la nécrose et réussit à progresser dans les tissus encore sains adjacents, comme elle peut atteindre les parties distales où la capacité de migration est assurée par le système vasculaire de la plante et plus particulièrement le xylème, expliquant ainsi la progression des symptômes (Bogs et al., 1998 ; Bogs et al., 2004 ; Dugé, 2009).

La virulence de la bactérie traduite par l'apparition des symptômes est attribuée à la production de siderophores impliqués dans l'acquisition des molécules de fer à partir des tissus de l'hôte, le mécanisme de sécrétion type III (T3SS) aussi à la synthèse d'exopolysaccharides (Dellagi et al., 1998; Smits & Duffy, 2011).

En effet, les exopolysaccharides (EPS) d'*Erwinia amylovora* sont : Amylovoran, qui est le principal constitutif de l'exsudat bactérien, et selon Bellemann & Geider (1992) les souches de *Erwinia amylovora* qui n'ont pas la capacité de produire amylovoran sont non pathogènes et sont incapables de se propager dans les vaisseaux des plantes. Un autre EPS qui est synthétisé par *Erwinia amylovora* est le levane dont un manque de levane peut entraîner un développement lent des symptômes dans la plante hôte (Geier et Geider, 1993). Récemment Koczan et al. (2009) ont découvert que les EPS de *E. amylovora* sont également impliqués dans la formation de biofilms, qui permet aux bactéries de se fixer à plusieurs surfaces.

Étant donné que la prophylaxie est le moyen de lutte le plus couramment utilisé pour limiter la généralisation des symptômes, nous avons utilisé dans un essai le produit Bion 50 WG qui est considéré comme l'un des non toxiques inducteurs de la résistance systémique contre les agents pathogènes des plantes grâce à sa matière active l'Acibenzolar-S-méthyl (Kunz et al., 1997).

L'acibenzolar-S-méthyl est un analogue fonctionnel de l'acide salicylique utilisé comme éliciteur pour induire la résistance systémique acquise (SAR) un rôle démontrée chez plusieurs plantes cultivées comme le tabac (Cole, 1999), le blé (Gorlach et al., 1996), la tomate (Benhamou et Belanger, 1998), le concombre (Narusaka et al., 1999), le melon (Huang et al., 2000), le pois (Dann et Deverall, 2000) et le pommier (Brisset et al., 2000).

Ce type de résistance (SAR) systémique s'exprime dans tous les organes de la plante et peut persister plusieurs jours. Dans l'état actuel des connaissances, trois hormones interviennent dans le processus de l'induction de la résistance systémique il s'agit de l'acide salicylique (AS), l'acide jasmonique (JA) et l'éthylène (ET) (Durrant et *al.*, 2004). Ces hormones impliquées dans l'interaction plante-pathogène agissent indépendamment ou en synergie (Pieterse et *al.*, 2009 thèse), et souvent une augmentation de la concentration d'acide salicylique endogène est repérée à la fois localement au niveau du site d'infection et aussi de manière systémique dans les tissus distants (Jourdan et *al.*, 2008).

En effet, l'acide salicylique joue un rôle dans l'inhibition de la catalase ce qui induit à l'accumulation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> provoquant ainsi la mort des cellules. En outre l'acide salicylique intervient dans l'activation de l'expression des gènes PR, qui induit la synthèse de protéines de défense PR (*pathogenesis related* ou protéines liées à la pathogénicité) reconnues principalement par leur activité antimicrobienne (Schneider et *al.*, 1996 ; Friedrich et *al.*, 1996).

Des études histochimiques faite sur les plants d'haricots et de tomate ont montré que les mêmes fonctions ont été induites lors de l'application de l'acibenzolar-S-Methyl (Iriti et Faoro, 2003 ; Soylu et *al.*, 2003)

Lors de l'interaction *Erwinia amylovora* plante hôte, *Erwinia amylovora* est reconnue par cette plante hôte comme un agent pathogène incompatible ce qui conduit à la génération de réactives de l'oxygène (ROS : reactive oxygen species) par la plante parmi lesquels les molécules de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) semblent paradoxalement nécessaire pour une colonisation bactérienne réussite (Venisse et *al.* , 2001). Ce qui peut contribuer à coté des facteurs de pouvoir pathogène de la bactérie à surmonter la résistance de la plante hôte induite par acidbenzolar-s-methyl.

En ce qui concerne les protéines PR peu de recherches scientifiques ont mis en évidence lors leur implication dans l'interaction *Erwinia amylovora* avec plantes hôte (Vrancken et *al.*, 2013)

L'application des produits considérés comme stimulateurs de défenses naturelles des plantes présente Une grande difficulté de pénétration sur un feuillage adulte tout comme une plus faible réceptivité et réactivité des plantes lorsqu'elles

sont soumises à de nombreuses et diverses contraintes environnementales (Anonyme, 2013). ce qui explique le taux d'infection que nous avons obtenu étant presque identique dans les deux types de zones étudiés et il est remarquablement faible.

Pour mieux évaluer l'efficacité d'un tel produit, il est recommandé d'engager des études sur les mécanismes d'action de ce produit tout en prenant en considération les facteurs de virulence de la bactérie et son interaction avec la plante hôte.

Les travaux d'entretien effectués par les agriculteurs depuis l'apparition de la maladie au niveau du verger choisi en 2010 et qui consiste essentiellement à la taille sévère des parties malade avec un matériel désinfecté, la pratique de l'arrachage et incinération des plants les plus atteints et l'utilisation des insecticides et des fongicides dans les moments nécessaires ont contribué à la réduction dans l'évolution de la gravité de la maladie au niveau de tout le verger le malgré le climat qui régné pendant le départ de la végétation jusqu'à la fin de l'expérimentation.

# **CONCLUSION**

Le feu bactérien est une maladie dangereuse des Rosacées incluant des arbustes ornementaux (Aubépine) et des arbres fruitiers à pépins économiquement important (Pommier, Poirier, Cognassier), est causée par *Erwinia amylovora*, une bactérie nécrogène. Cette maladie s'exprime essentiellement par des nécroses évolutives et des dessèchements des parties aériennes qui restent attachées à l'arbre. Les jeunes pousses atteintes ont tendance à se recourber en crosse. En forte attaque des gouttelettes d'exsudat, mélange d'exopolysaccharides et de bactéries, sont émises fréquemment à la surface des tissus infectés. Le pathogène peut provoquer la mort de l'arbre dans le cas de variétés très sensibles. Tell est le cas de la variété *Santa maria* qui a présenté une sensibilité par rapport aux autres variétés cultivées en Algérie. Plusieurs méthodes de lutte sont envisagées mais jusqu'à présents il n'y a pas de possibilité de lutte directe.

L'utilisation dans notre expérimentation du produit Bion 50 WG, connu par ces capacités d'induire chez les plantes hôte de certaines maladies bactériennes une résistance systémique, n'a présenté aucun effet de limitation de l'expression de la maladie. Cela est traduit par le même comportement observé concernant l'apparition des symptômes dans les zones traitées et les zones non traitées reflété par le nombre obtenu des parties les plus atteintes à savoir les feuilles, bouquets floraux , fruits noués, et expliqué par la forte capacité d'*Erwinia amylovora* de s'exprimer grâce à son pouvoir pathogène qui repose essentiellement sur deux facteur important à savoir les exopolysaccharides, et les effecteurs de type III de surmonter les défenses naturelle de l'hôte.

En revanche, il convient de multiplier les essais en utilisant Bion 50 WG pour mieux situer l'efficacité de ce produit en interaction avec la bactérie et la plante hôte toute en prenant en considération les différents paramètres physiopathologiques résultant de son mode d'action et qui doivent être recherchées et étudiées au niveau de laboratoire.

En parallèle il sera plus judicieux de rechercher d'autres solutions pour faire face à cette maladie, telle que l'utilisation de variétés moyennement sensibles, la création de variétés résistantes de poirier par sélection variétale, en plus de délimiter les aires de présence de cette pathologie.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anonyme 2004 — the Revised Draft IRA Report for Importation of Apples from New Zealand (2004), Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry.
- Anonyme, 2013 — défenses naturelles chez les plantes. Magazine référence de l'actualité jardin. 5Pp.
- Anderson H.W., 1956 — Diseases of fruits crops. MC Graw-Hill book company INC- New York
- Agrios G.N., 1997 — Plant pathology 4th Edition academic press. London.
- Agrios GN, 2004 — Plant Pathology. New York, USA: Academic Press.
- Baker. K. F., 1971 — Fire blight of pome fruits : the genesis of the concept that bacteria can be pathogenic to plants. *Halgadia*, 40: P603-633.
- Beer, S. V.; Kim J.; Gustafson H. L.; Zumoff C. H. ; Molol T.; Bogdanove A. G.; Laby R. J.; Tani A.; Tamura O. and Aldwinckle H. S., 1996 — Characterisation of bacteria that cause "bacterial shoot blight of pear" in Japan. *Acta Horti* 411:79-181.
- Belleman P. & Geider K., 1992 — Localization of transposon insertions in pathogenicity mutants of *Erwinia amylovora* and their biochemical characterization. *J Gen Microbiol* 138, 931–940.
- Benhamou N. et Belanger P.R., 1998 — Induction of systemic resistance to *Pythium* damping-off in cucumber plants by benzothiadiazole: ultrastructure and cytochemistry of the host response. *Plant j.* 14: 13-21
- Billing E., 1987 — Bacteria as plant pathogens. Van Nostrand reinhold. Workingham, Berkshire, UK. 79p.
- Bogs J., Bruchmüller I., Erbar C. et Geider K., 1998 — Colonization of host plants by the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* marked with genes for bioluminescence and fluorescence. *Phytopathol.*, 88:416-421.
- Bogs J., Richter K., Kim W.-S., Jock S. et Geider K., 2004. Alternative methods to describe virulence of *Erwinia amylovora* and host plant resistance against fireblight. *Plant Pathol.*, 53:80-89.



- Bonn W.G. et Van der Zwet T., 2000 — Distribution and economic importance of fire blight. Page 37-53 in Vanneste, J.L (ed) Fire Blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CABI Publishing. London, UK. 370
- Brisset M.N., Cesbron S., Thomson S.V., Paulin J.P. 2000 — Acibenzolar-S-methyl induces the accumulation of defense-related enzymes in apple and protects from fire blight. *Eur J Plant Pathol* 106:529-536.
- Brisset MN, Chartier R, Didelot F, Parisi L, Paulin JP, Robert P, Tharaud M, Lemarquand A, Orain G, Toubon JF, Brun L, Derridj S, Sauphanor B., 2005 — Inducteurs de défenses naturelles des plantes : Potentialité contre les bioagresseurs du pommier et du poirier. *Phytoma LDV* 581:20-24
- Buban T., Földes L., Kormany A., Hauptmann S., Stammner G., Rademacher W., 2003 — Prohexadione-Ca in apple trees: control of shoot growth and reduction of fire blight incidence in blossoms and shoots. *J Appl Botany* 77:95-102
- Bugert P. et Geider K. (1995) — Molecular analysis of the *ams* operon required for exopolysaccharide synthesis of *Erwinia amylovora*. *Mol Microbiol* 15:917-933.
- Clark G. G., Hickey K. D., Travis J W., 1991 — Fire blight management: evaluation of the role of aphids in transmission of bacteria and development of a computerized management system for growers. *Penn Fruit News*. 71:43–44.
- Crepel C, Geenen J, Maes M, Bonn W G., 1996 — The latent survival of *Erwinia amylovora* in hibernating shoots. *Acta Horticulturae*. 411:Pp21–25.
- Cole D.L., 1999 — The efficacy of acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance against bacterial and fungal disease of tobacco. *Crop. Prot.* 18: 267-273.
- Cosgrove D.J., 2005 — Growth of the plant cell wall. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, 6:850-861.
- Dangl J.L. et Jones J.D.G., 2001— Plant pathogens and integrated defense responses to infection. *Nature*, 411:826-833.
- Dann D.K. et Deverall B.J., 2000— Activation of systemic disease resistance in pea by an avirulent bacterium or benzothiadiazole, but not by a fungal leaf spot pathogen. *Plant pathol.*, 49 : 324-332.

- 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. Thèse de doctorat Biologie cellulaire et moléculaire végétale. UMR 077 Pathologie Végétale INRA-Agrocampus Ouest-Université d'Angers. 83p
- Dellagi A., Brisset M.-N., Paulin J.-P. et Expert D., 1998 — Dual role of desferrioxamine in *Erwinia amylovora* pathogenicity. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 11:734-742.
- Dugé de Bernonville T., 2009 — Caractérisations histologique, moléculaire et biochimique des interactions Compatible et incompatible entre *erwinia amylovora*, agent du feu bactérien, Et le pommier (*malus x domestica*) Thèse de doctorat UMR077 Pathologie Végétale INRA-Agrocampus Ouest-Université d'Angers Ed N° 495, 216Pp.
- Dulbecco, R. et al., 1954 — *Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses*. In: *J. Exp. Med.* vol. 99 (2), pp. 167-182.
- Durrant W.E. & Dong X., 2004 — Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 42, 185-209.
- Dutta K., Shampa S. et Veeranki V.D., 2009 — Production, characterization and applications of microbial cutinases. *Process Biochem.*, 44:127-134.
- Chiou C.S. et Jones A.L., 1993 — Nucleotide sequence analysis of a transposon (Tn5393) carrying streptomycin resistance genes in *Erwinia amylovora* and other Gram-negative bacteria. *J Bacteriol* 175:732-740
- 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
- Eden-Green S.J. and Billing E., 1974 — Fire blight. *Rev. Plant Pathol.* 53, 353–365.
- OEPP/EPPO Bulletin 2013 — PM 7/20 (2)\* *Erwinia amylovora*. 43 (1), 21–45
- Etchebar C, Trigalet-Demery D, van Gijsegem F, Vasse J, Trigalet A., 1998 — Xylem colonization by an *hrcV* mutant of *Ralstonia solanacearum* is a key factor for

- the efficient biological control of tomato bacterial wilt. *Mol Plant-Microbe Interact* 11:869-877
- Fatmi M., Bougsiba M., Saoud H., 2008 — First report of fireblight caused by *Erwinia amylovora* on pear, apple and quince in Morocco. *Plant Disease*, Pp92-93, 314p. INPV d'Algérie, 2010 — Bulletin d'information phytosanitaire N°23. Pp 1. 4p.
- Faize M, Brisset MN, Paulin JP, Tharaud M., 1999 — Secretion and regulation *hrp* mutants of *Erwinia amylovora* trigger different responses in apple. *FEMS Microbiol Lett* 171:173-178
- Faize M, Brisset MN, Perino C, Vian B, Barny MA, Paulin JP, Tharaud M (2006— Protection of apple against fire blight induced by an *hrpL* mutant of *Erwinia amylovora*. *Biol Plantarum* 50:667-674
- Friedrich L., Lawton K., Ruess W., Masner P., Specker N., Rella M.G., Meier B., Dincher S., Staub T., Uknes S., Métraux J.P., Kessmann H., Ryals J., 1996 — A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. *Plant J* 10:61-71
- Feistner G.J., Stahl D.C., Gabrik A.H., 1993 — Proferrioxamine siderophores of *Erwinia amylovora*. A capillary liquid chromatographic/electrospray tandem mass spectrometry study. *Org Mass Spectrom* 28:163-175
- Gausсен H., Leroy J.F., et Ozenda P., 1982 — Précis de Botanique II. Végétaux supérieurs 2<sup>nd</sup> Ed. masson, Paris : 329-334.
- Ge Q, van der Zwet T et Bonn W G., 1996 — Persistence and recovery of endophytic *Erwinia amylovora* in apparently healthy apple tissues. *Acta Horticulturae*. 411:29–33.
- Geier G. et Geider K (1993) — Characterization and influence on virulence of the Evansucrase gene from the fireblight pathogen *Erwinia amylovora*. *Physiol Mol Plant Pathol* 42:387-404
- Geider K., 2000 — Exopolysaccharides of *Erwinia amylovora*: structure, biosynthesis, regulation and role in pathogenicity of amylovoran and levan. In: Vanneste J, ed. *Fire Blight: the Disease and its Causative Agent Erwinia amylovora*. Wallingford, UK: CABI Publishing, 117-140.

- Goodman R.N., 1967— Protection of apple stem tissue against *Erwinia amylovora* infection by avirulent strains and three other bacterial species. *Phytopathology* 57: 22-24
- Gorlach J., Volrath S., Knauf-Beiter G., Hengy G., Behave U., Kogel K.H., Oostendrop M., Staub T., Ward E. et Kesssmann H., 1996 — Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant cell*. 8 : 629-643.
- Harvey S., et Ralph L., 1997 — The search for rules for non tariff barriers : fire blight of apples. Pp2-3, 20p.
- Huang Y., Deverall B.J., Tang W.H., Wang W et Wu F.W., 2000 — Foliar application of acibenzolar-S-methyl and protection of post harvest rock melons and Hami melons from disease. *Eur. J. Plant pathol.* 106 : 651-656
- Hückelhoven R., 2007 — Cell wall-associated mechanisms of disease resistance and susceptibility. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 45:101-127.
- Hugh R. et Leifson E., 1953 — The taxonomic significant of fermentative versus oxydative matabolism of carbohydraiesb y variousg ram-negativeb acteria. *J. Bact.*, 66:24-26.
- Iriti M., Faoro F., 2003 — Benzothiadiazole (BTH) induces celldeath independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. *Journal of Phytopathology* 151: 171–180.
- Jakovljevic V., Du Z., Jock S., Geider K., 2006 — Epiphytic *Erwinias* to control fire blight. *Acta Hortic* 704:289-292
- Jock S., Völksch B., Mansvelt L., Geider K., 2002 — Characterization of *Bacillus* strains from apple and pear trees in south africa antagonistic to *Erwinia amylovora*. *FEMS Microbiol Lett* 211:247-252
- Jones, A.L. et Aldwinckele, H.S., 1990 — compendium of apple and pear diseases. The american phytoathological society. Minnesota
- Johnson K.B., 2000 — Fire blight of apple and pear. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-0726-01 Updated 2005.

- Jourdan E., Ongena M. Et Thonart P., 2008 — Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. Article. 21Pp.
- Kingsley M.T., Gabriel D.W., Marlow G.C., Roberts P.D., 1993 — The *opsX* locus of *Xanthomonas campestris* affects host range and biosynthesis of lipopolysaccharide and extracellular polysaccharide. J Bacteriol 175:5839-5850.
- Koczan J. M., Lenneman B. R., McGrath M. J. & Sundin, G. W., 2011— Cell surface attachment structures contribute to biofilm formation and xylem colonization by *Erwinia amylovora*. Appl Environ Microbiol 77, 7031–7039.
- Kunz W., Schurter R., Maetzke T., 1997— The chemistry of benzothiadiazole plant activators. Pestic Sci 50:275-282
- Lateur M., 2002 — Perspectives de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépins au moyen de substances naturelles inductrices d'une résistance systémique *Revue Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* Pp 67–77.
- MacGhee Gayle C, Schnabel E.L, Maxson-Stein K., Stromberg V. K., Lacy G.H., Jones A.L., 2002— Relatedness of Chromosomal and Plasmid DNAs of *Erwinia pyrifoliae* and *Erwinia amylovora* Appl Environ Microbiol. 68(12): 6182–6192
- MacManus P.S. and Jones A.L.,1994 — Epidemiology and genetic analysis of streptomycin-resistant *Erwinia amylovora* from Michigan and evaluation of oxytetracycline for control. Phytopathology 84:627-633
- MacManus P.S., Stockwell V.O., Sundin G.W., Jones A.L., 2002 — Antibiotic use in plant agriculture. Annu Rev Phytopathol 40:443-465
- Malnoy M., Faize M., Venisse J.S., Geider K., Chevreau E., 2005 — Expression of viral EPS-depolymerase reduces fire blight susceptibility in transgenic pear. Plant Cell Rep 23:632-638.
- Manulis S., Kleitman F., Shtienberg D., Shwartz H., 2003 — Changes in the sensitivity of *Erwinia amylovora* populations to streptomycin and oxolinic acid in Israel. Plant Dis 87:650-654

- Maxson-Stein K., He S.Y., Hammerschmidt R., Jones A., 2002 — Effect of treating apple trees with acibenzolar-S-methyl on fire blight and expression of pathogenesis-related protein genes. *Plant Dis* 86:785-790
- McGhee G.C., Jones A.L., 2000 — Complete nucleotide sequence of ubiquitous plasmid pEA29 from *Erwinia amylovora* strain Ea88: gene organization and intraspecies variation. *Appl Environ Microbiol* 66: 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 (abstract)
- Momol et Aldwinckle ,2000 — Genetic diversity and host range of *Erwinia amylovora*. In: Vanneste J (ed) *Fire blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. CABI Publishing, Oxon, pp55-72.
- Moss W.P., Byrne J.M., Campbell H.L., Ji P., Bonas U., Jones J.B., Wilson M., 2007 — Biological control of bacterial spot of tomato using *hrp* mutants of *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*. *Bio Control* 41:199-206
- Mourgues F., Brisset M.N., Chevreau E., 1998 — First evidence for improved resistance to fire blight in transgenic pear expressing the attacin E gene from *Hyalophora cecropia*. *Trends Biotech* 16:203-210.
- Mudgett M.B., 2005 — New insights to the function of phytopathogenic bacterial type III effectors in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56: 509-531.
- Narusaka Y., Narusaka M., Horio T. et Ishii H., 1999 — comparison of local and systemic induction of acquired disease resistance in cucumber plants treated with benzothiadiazole or salicylic acid. *Plant cell physiol.* 40 : 388-395
- Nawrath C., 2006 — Unraveling the complex network of cuticular structure and function. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 9:281-287.
- Norelli J. L., Jones A. L. et Aldwinckle H. S., 2002 — Fire Blight Management in the Twenty-first Century Using New Technologies that Enhance Host Resistance in Apple. *Plant Disease / Vol. 87 No. 7* : 756-765.
- Nürnberg T., Brunner F., Kemmerling B. et Piater L., 2004 — Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. *Immunol. Rev.*, 198:249-266.

- Ogawa J.M. et English H., 1991 — Disease of temperate zone tree fruit and nut crops. University of California, division of agriculture and natural resources, Okland CA. Publication.
- Paulin J.P., 1982 — Fruit tree bacterial diseases: economic importance, present means of control (*Xanthomonas corylina*, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae*). *Phytiatrie phytopharmacie J.* 31 : 55-62.
- Pieterse C.M.J., Leon-Reyes A., Van der Ent S. et Van Wees S.C.M., 2009. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chem. Biol.*, 5:308-316.
- Psallidas PG. et Tsiantos J., 2000 — Chemical control of Fire Blight. Pp 199-234 in Vanneste, J.L (ed) *Fire Blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. CABI Publishing. London, UK. pp199-234. 370p.
- Psallidas and Tsiantos, 2000 — Chemical control of fire blight. In: Vanneste J (ed) *Fire blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. CABI Publishing,
- Pusey, P. L., 1999 — Effect of nectar on microbial antagonists evaluated for use in control of fire blight of pome fruits. *Phytopathology* 89:39-46.
- Rademacher W., 2000 — Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 51:501-531
- Raetz C.R.H., Whitfield C., 2002 — Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem* 71:635-700.
- Ray T.C., Smith A.R., Wait R., Hignett R.C., 1987 — Structure of the sidechain of lipopolysaccharide from *Erwinia amylovora* T. *Eur J Biochem* 170:357-361
- Roberts, R.G., Hale, C.N., van der Zwet, T., Miller, C.E., Redlin, S.C., 1998 — The potential for spread of *Erwinia amylovora* and fire blight via commercial apple fruit; a critical review and risk assessment. *Crop Protection* 17, 19e28.
- Roemmelt S., Zimmermann N., Rademacher W, Treutter D., 2003 — Formation of novel flavonoids in apple (*Malus domestica*) treated with the 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase inhibitor prohexadione-Ca. *Phytochemistry* 64:709-716

- 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. 37-43.
- Scheffer R. P., 1997 — The nature of disease in plants. Cambridge university Press. Cambridge.
- Schneider M., Schweizer P., Mewly P. et Mtraux J.P., 1996 — Systemic acquired resistance in plants. Int. J. cytol. 168 : 303-340.
- Schumann G.L., 1991 — Plant diseases : their biology and social impact. APS. Minnesota.
- Seemüller E.A. et Beer S.V., 1976 — Absence of cell wall polysaccharide degradation by *Erwinia amylovora*. *Phytopathol.*, 66:433-436.
- Shtienberg D., Zilberstaine M., Oppenheim D., Herzog Z., Manulis S., Shwartz H., Kritzman G., 2001— Efficacy of oxolinic acid and other bactericides in suppression of *Erwinia amylovora* in pear orchards in Israel. *Phytoparasitica* 29:143-154.
- Smits T. H. M. & Duffy B. ,2011 — Genomics of iron acquisition in the plant pathogen *Erwinia amylovora*: insights in the biosynthetic pathway of the siderophore desferrioxamine E. *Arch Microbiol* 193,693–699
- Soylu E.M., Soyly S. et Baysal Ö., 2003 — Induction of disease resistance and antioxidant enzymes by Acid benzolar-s-methyl againts bacterial cankers (*Clavibacter michiganensis* subsp *mehiganensis*) in tomato *Journal of Plant Pathology* , 85 (3), 175-181
- Spinelli F., Speakman J.B., Rademacher W., Halbwirth H., Stich K., Costa G., 2005 — Luteoforol, a flavan 4-ol, is induced in pome fruits by prohexadione-calcium and shows phytoalexin-like properties against *Erwinia amylovora* and other plant pathogens. *Eur J Plant Pathol* 112:133-142
- Starr. M. P., Chatterjee. A. K., 1972 — The genus *Erwinia* : Enterobacteria pathogenic to plants and animals, *Annual Review of Microbiology*, 26: Pp 389-526.
- Tharaud M., Laurent J., Faize M., Paulin JP., 1997— Fire blight protection with avirulent mutants of *Erwinia amylovora*. *Microbiology* 143:625-632



- Triplett L.R., Zhao Y., Sundin G.W., 2006—Genetic differences between blight-causing *Erwinia* species with differing host specificities, identified by suppression subtractive hybridization. *Appl Environ Microbiol* 72:7359-7364
- van der Zwet T., 1994 — The various means of dissemination of the fire blight bacterium *Erwinia amylovora*. *Bull EPPO*. 24:209–214.
- van der Zwet, T., 1996 — Present world wide distribution of fire blight. *Acta Horticulturae* . 411:7-8.
- Van der Zwet, T., 2002 — Present worldwide distribution of fire blight. *Acta Horticulturae*. 590 : 33-34.
- Van der Zwet T. et Beer S.V., 1995 — the fire bight, its nature, prevention and control. United states department of Agriculture information bulletin number 631.
- Van der Zwet T. et Bonn W.G., 1999 — Recent spread and current worldwide distribution of fire blight. *Acta Horticulturae*. Pp 33-34. 590 p.
- Van der Zwet T, Keil H.L., 1979 — Fire Blight : A Bacterial Disease of Rosaceous Plants . Agriculture handbook no . 510 . Washington : US Government Printing Office .Van der Zwet, T.; Thomson, S.V.; Covey, R.P.; Bonn, W.G., 1990 — Population of *Erwinia amylovora* on external and internal apple fruit tissues. *Plant Disease* 74, Pp 711–716.
- Venisse J. S., Gullner G. et Brisset M. N., 2001 — Evidence for the involvement of an oxidative stress in the initiation of infection of pear by *Erwinia amylovora*. *Plant Physiol* 125, 2164–2172.
- Vanneste, J.L., 2000 — Fire Blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CABI Publishing. London, UK. 370 p.
- Vrancken K., Holtappels M., Schoofs H., Deckers T. et Valcke R, 2013 — Pathogenicity and infection strategies of the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* in Rosaceae: State of the art *Microbiology* 159, 823–832.
- Ye Z.-H., York W.S. et Darvill A.G., 2006 — Important new players in secondary wall synthesis. *Trends Plant Sci.*, 11:162-164.

- Wael L., de Greef M., van Laere O., 1990 — The honeybee as a possible vector of *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.* Acta Hort. 1990;273:107–113.
- Walton J.D., 1994 — Deconstructing the cell wall. Plant Physiol., 104:1113-1118.
- Wei Z.-M., Kim J.F. et Beer S.V., 2000 — Regulation of hrp genes and type III protein secretion in *Erwinia amylovora* by HrpX/HrpY, a novel two-component system and HrpS. Mol. Plant Microbe Interact. : 13: 1251-1262.
- Whetzel H.H., 1925 — Laboratory outlines in plant pathology. 2<sup>nd</sup> Edition. W.B. Saunders company. Philadelphia.
- Wilson E.E. et Ogawa J.M., 1979 — Fungal bacterial and certain nonparasitic diseases of fruit and nut crops in California. The regents of the university of California
- Wilson M. and Lindow S.E., 1993 — Interactions between the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* A506 and *Erwinia amylovora* in pear blossoms. Phytopathology 83:117-123
- Winslow, C.E.A., Broadhurst, J., Buchanan, R.E., 1920 — The families and genera of the bacteria; Erwiniae. J. Bacteriol. 5, 209.
- Wodzinski R.S. and Paulin J.P., 1994 — Frequency and diversity of antibiotic production by putative *Erwinia herbicola* strains. J Appl Microbiol 76:603-607
- Wright S.A., Zumoff C.H., Schneider L., Beer S.V., 2001— *Pantoea agglomerans* strain EH318 produces two antibiotics that inhibit *Erwinia amylovora* in vitro. Appl Environ Microbiol 67:284-292
- Zamski E., Blachinsky D., Shtienberg D., Weinthal D., Manulis S., 2008 — Effects of pear tree physiology on fire blight progression in perennial branches and on expression of pathogenicity genes of *Erwinia amylovora*. Acta Horticulturae 793, 305–9.

# **ANNEXE**

## Annexe 1 : milieux de cultures.

### Milieu CCT (Ishimaru et Klos, 1984)

Milieu differential pour *Erwinia amylovora*.

	g/L
Sucre de table	100.000
Sorbitol	10.000
Tergitol anionic 7 (Solution de 1%)	30.0 ml
Crystal violet (Solution de 0,1 % dans éthanol)	2.0 ml
Nutrient agar	23.000
Cycloheximide	0.050
Eau distillée	1.0 L

pH= 7.2, autoclavage 15mn à 121°C.

### Milieu LPGA (Levure-Peptone-Glucose-Agar) (Schaad et al., 1988)

	g
Extrait de Levure	05
Peptone	05
Gélose	10
Glucose	10
Eau distillée	1 L

### Milieu Hugh et Leifson (Hugh R. et Leifson E.I, 1953).

	g
Bacto peptone	02
NACL	05
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,3
Glucose	10
Bleu de Bromothymol	0,03
Eau distillée	1 L

**Tampon PBS (*phosphate buffered saline*) (Dulbecco, R. et al., 1954)**

**g**

NaCl	08
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,2
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,15
KCl	0,2
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 12 H <sub>2</sub> O	03
Eau distillée	1 L

## SOMMAIRE

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
المخلص	
Abstract	
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Analyse bibliographique</b>	
1. Le Feu bactérien : Maladie de quarantaine.....	3
1.1 Historique.....	3
1.2 Symptomatologie.....	4
1.2.1 Sur les fleurs.....	4
1.2.2 Sur les jeunes pousses .....	4
1.2.3 Sur les feuilles.....	6
1.2.4 Sur les Fruits.....	6
1.2.5 Sur les branches, charpentières et le tronc.....	7
1.3 Agent causal de la maladie .....	8
1.3.1 Classification .....	8
1.3.2 Morphologie .....	9
1.3.3 Composants de surface cellulaires .....	9
1.3.4 Répartition Géographique.....	10
2. Interaction <i>Erwinia amylovora</i> plantes hôtes .....	12
2.1 Diversité génétique et gamme d'hôtes .....	13
2.2 Mécanismes d'action d' <i>Erwinia amylovora</i> .....	13
2.3 Les barrières physiques des plantes.....	16
2.3.1 La cuticule .....	16
2.3.2 La paroi cellulaire .....	16
3. Cycle de la maladie .....	17
4. Moyen de lutte Contre le Feu Bactérien .....	19
4.1 Lutte chimique .....	19
4.2 Lutte biologique .....	21
4.3 Lutte génétique .....	22
4.4 Stimulation des défenses naturelles de l'hôte .....	22
<b>Matériel et méthodes</b>	
1. Matériel végétal.....	24
2. Description de la station d'étude.....	24
3. Identification de l'agent causal.....	28
3.1 Caractérisation macromorphologique.....	28

3.2 Réaction d'hypersensibilité (HR).....	28
3.3 Tests biochimiques.....	28
3.3.1 Coloration Gram (test à la potasse KOH3%).....	28
3.3.2 Test Oxydase.....	29
3.3.3 Test Catalase.....	29
3.3.4 Test Hugh et Leifson (HL).....	30
3.4 Test sérologique : immunofluorescence (IF).....	30
3. Essai de Bion 50 WG.....	31
4.1 Présentation du produit.....	31
4.2 Application du traitement .....	33
4.3 Dispositif expérimental .....	34
4.4 Paramètres étudiés.....	35

## Résultats et discussion

1. Identification de l'agent causal .....	36
1.1 Aspect des colonies.....	36
1.2 Réaction d'hypersensibilité (HR).....	36
1.3 Caractérisation biochimique.....	36
1.3.1 Coloration Gram (test à la potasse KOH3%).....	36
1.3.2 Test Oxydase.....	36
1.3.3 Test Catalase.....	36
1.3.4 Test Hugh et Leifson (HL).....	37
1.4 Identification par test sérologique : immunofluorescence (IF) .....	37
1.5 Caractères de la bactérie identifiée.....	37
2. Evaluation du développement du Feu bactérien.....	38
2.1 Sur les rameaux.....	38
2.2 Sur les feuilles.....	40
2.3 Sur les jeunes pousses.....	42
2.4 Sur bouquets floraux .....	44
2.5 Sur fruits noués.....	46
2.6 Sécrétion des exsudats.....	49
2.7 Evaluation de l'évolution de la maladie.....	50
3. Interprétation des résultats.....	51

<b>Conclusion.....</b>	<b>56</b>
------------------------	-----------

<b>Référence bibliographique.....</b>	<b>57</b>
---------------------------------------	-----------

## Annexe 01

