

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

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

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

## *Thème*

**Isolement et caractérisation de souches d'*Erwinia amylovora*  
agent causal de la maladie du feu bactérien**

Présenté par :

**KAAELKAF Imane**

Devant le jury composé de :

Mme. AMMED F.	MCB	USDB1	Présidente
Mme. AIT SAADI N.	MAA	USDB1	Examinatrice
Mme. MAROK-ALIM N.	MAB	UDB-Khmis Miliana	Invitée
Mme. KRIMI Z.	Pr	USDB1	Promotrice
Melle. TAFIFET L.	MAA	UAMO-Bouira	Co-Promotrice

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2016 / 2017

# REMERCIEMENT

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

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à ma promotrice Mme. KRIMI Z. pour son encadrement scientifique, sa disponibilité et sa direction judicieuse a permis de me guider pour réaliser ce mémoire.*

*Je remercie sincèrement ma Co-promotrice Melle. TAFIFFET L. pour son aide, ses orientations, sa patience, sa disponibilité, et ses précieux conseils lors de la réalisation de ce mémoire.*

*J'exprime mes profonds remerciements à Mme. AMMED F. pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Je remercie vivement Mme. AIT SAADI N. et Mme. MAROK - ALIM N. qui me font l'honneur d'accepter juger mon travail.*

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

IMANE

# DEDICACE

*Je dédie ce travail :*

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

*A mes chères sœurs : Soumia et Sara, à mon frère Mouhamed El Tahar et à mon marie Mourad.*

*A mama Zina, papa Hsan, Amira, Khaled et Sara.  
A tous mes Oncles et mes tantes.*

*A Wafa, Hadjer, Soror, Islem et tous mes cousins et mes cousines.*

*A toute la famille Kaaelkaf, à la famille Faci et Zalani.*

*A toutes mes chères amies : Rahma, Lamia et tous mes amis (es) à l'option de biologie des interactions plantes microorganismes.*

*A tous mes amies de laboratoire de bactériologie :  
Siham, Hadjer, Ibtissem et Sara.*

*Imane*

**Isolement et caractérisation de souches d'*Erwinia amylovora*  
agent causal de la maladie du feu bactérien**

## **Résumé**

Cette étude a été effectuée afin d'isoler et caractériser l'agent causal de la maladie du feu bactérien *Erwinia amylovora* dans deux régions de la Mitidja L'Arbaa (Bakir Omar, Harzalloui Omar, Bakir Massaoud et Sbihi Mouhamed), et Médéa (la ferme pilote Ben Sidi Aisa, la ferme pilote Si Dhaoui, Souna Mouhamed et Kefaifi) au niveau des vergers de poirier, pommier et cognassier.

A partir de l'estimation de nombre et la taille des chancres en période de repos végétatif, et le taux d'infection d'*Erwinia amylovora* des vergers de L'Arbaa, le poirier s'est révélé plus sensible au feu bactérien il atteint 90% au L'Arbaa.

A partir du matériel végétal symptomatique (exsudats, rameaux, feuilles et bouquets floraux), les échantillons provenant des vergers des communes prospectées ont fait l'objet d'isolement et caractérisation de l'agent responsable de cette bactériose au laboratoire par une série des tests biochimiques et un test biologique.

Après la réalisation des tests d'identification, un total de 27 souches étant ceux d'*Erwinia amylovora-like*. Les résultats obtenus indiquent la présence du feu bactérien dans les régions d'étude en 2017.

**Mots clés :** *Erwinia amylovora*, feu bactérien, chancres, Rosaceae, Mitidja.

**Isolation and characterization of *Erwinia amylovora* strains  
causative agent of fire blight disease**

**Abstract**

This study was carried out to isolate and characterize the causative agent of fire blight disease *Erwinia amylovora* in two regions of Mitidja L'Arbaa (Bakir Omar, Harzalloui Omar, Bakir Massaoud and Sbihi Mouhamed) and Medea (la ferme pilote Ben Sidi Aisa, la ferme pilote Si Dhaoui, Souna Mouhamed and Kefaifi) Level of pear orchards, apple and quince.

Based on estimations of number and size of cankers during periods of vegetative rest, and the infection rate of *Erwinia amylovora* in L'Arbaa orchards, pear trees were more sensitive to fire blight, reaching 90% in L'Arbaa.

From the symptomatic plant material (exudates, twigs, leaves and floral bouquets), the samples from the orchards of the prospective communes were isolated and characterized by the agent responsible for this bacterial infection in the laboratory. A series of biochemical tests and a biological test.

After the identification tests, a total of 27 strains are those of *Erwinia amylovora-like*. The results obtained indicate the presence of fire blight in study areas in 2017.

**Key words:** *Erwinia amylovora*, fire blight, cankers, Rosaceae, Mitidja.

## ملخص

أجريت هذه الدراسة لعزل و توصيف العامل المسبب لمرض اللفحة النارية *Erwinia amylovora* في منطقتين في سهل متيجة, الأربعاء (بكير عمار, حرز لاوي عمار, بكير مسعود و صبيحي محمد), و المدية (مزرعة بن سيدي عيسى, مزرعة سيدي ضاوي, سونة محمد و كفايفي) على مستوى بساتين الإيجاص, التفاح و السفرجل.

انطلاقا من عدد و حجم القرحة في فترة من السكون, ومعدل إصابة البساتين مدينة الأربعاء, بساتين الإيجاص الأكثر عرضة للفة النارية حيث وصل معدل إصابة إلى 90% في الأربعاء. انطلاقا من عينات نباتية تحمل أعراض اللفة النارية (الإفرازات وأوراق النباتات و باقات من الزهور), قمنا بسلسلة من الاختبارات البيوكيميائية والبيولوجية في المختبر. بعد الانتهاء من اختبارات تحديد تمكنا من تنقية 27 مستأصلة *Erwinia amylovora*.

النتائج المتحصل عليها أكدت وجود اللفة النارية في مناطق الدراسة في عام 2017.

كلمة المفتاح : *Erwinia amylovora*, اللفة النارية, العزل, الأشجار المزهرة و متيجة .

## Sommaire

<b>Introduction</b> .....	2
<b>Chapitre I : Analyse bibliographique.</b>	
I.1. Agent causal.....	5
I.2. Généralité sur la maladie du feu bactérien.....	8
<b>Chapitre II : Matériel et Méthodes.</b>	
II.1. Présentation de la Mitidja .....	22
II.2. Présentation des régions d'étude .....	22
II.3. Etude climatique de la Mitidja .....	27
II.4. Mesure des chancres sur terrain .....	30
II.5. Echantillonnage .....	30
II.6. Isolement .....	31
II.7. Purification .....	32
II.8. Caractéristiques et identification de l'agent pathogène .....	32
II.9. Evaluation des symptômes du feu bactérien au repos végétatif.....	35
II.10. Analyses statistiques des résultats.....	35
<b>Chapitre III : Résultats et Discussion.</b>	
III.1. Résultats de l'étude symptomatologique du feu bactérien .....	37
III.2. Evaluation des symptômes du feu bactérien au repos végétative .....	39
III.3. Etude épidémiologique du feu bactérien .....	45
III.4. Résultats du diagnostic au laboratoire .....	47
<b>Discussion</b> .....	54
<b>Conclusion</b> .....	60
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes.</b>	

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Cellule virulente d' <i>E. amylovora</i> avec flagelle péritriches.....	6
<b>Figure 2:</b> Morphologie typique de colonies d' <i>Erwini amylovora</i> .....	6
<b>Figure 3:</b> Symptômes du feu bactérien.....	11
<b>Figure 4:</b> Cycle infectieux du feu bactérien.....	14
<b>Figure 5:</b> Voie d'entrée de la bactérie sur la fleur de pommier lors de l'infection.....	14
<b>Figure 6:</b> Représentation schématique du système de sécrétion de type III des bactéries pathogènes des plantes.....	16
<b>Figure 7:</b> Limite géographique de la Mitidja.....	22
<b>Figure 8:</b> Image satellite du verger de poirier à L'arbaa de BakirOmar.....	23
<b>Figure 9:</b> Image satellite du verger de poirier à L'arbaa de Harzalloui Omar.....	24
<b>Figure 10:</b> Image satellite du verger de poirier à L'arbaa de Bakir Massaoud.....	24
<b>Figure 11:</b> Image satellite du verger de pommier à L'arbaa de Sbihi Mouhamed.....	25
<b>Figure 12:</b> Image satellite du verger de poirier à Médéa de la ferme pilote Ben Sidi Aisa.....	25
<b>Figure 13:</b> Image satellite du verger de poirier à Médéa de la ferme pilote Si Dhaoui.....	26
<b>Figure 14:</b> Image satellite du verger de poirier à Médéa de Souna Mouhamed.....	26
<b>Figure 15:</b> Image satellite du verger de pommier à Médéa de Kefaifi.....	27
<b>Figure 16:</b> Image satellite du verger de cognassier à Médéa de Kefaifi.....	27
<b>Figure 17:</b> Diagramme ombrothèrmique de Gaussen de la Mitidja.....	28
<b>Figure 18:</b> Place de la Mitidja dans le climagramme d'Emberger.....	29
<b>Figure 19:</b> Symptôme du feu bactérien au période de dormance.....	36
<b>Figure 20:</b> Symptôme du feu bactérien au période de floraison.....	37
<b>Figure 21:</b> Nombre des chancres sur les troncs pour les quatre vergers.....	42
<b>Figure 22:</b> Nombre des chancres sur les rameaux pour les quatre vergers.....	43
<b>Figure 23:</b> Taux d'infection du feu bactérien dans les quatre vergers de L'Arbaa.....	46
<b>Figure 24:</b> Structure des colonies pures isolées sur milieu levane.....	47
<b>Figure 25:</b> Résultat du test de Gram avec la technique KOH.....	50
<b>Figure 26:</b> Résultat d'activité cytochrome oxydase.....	50
<b>Figure 27:</b> Résultat du test catalase.....	50
<b>Figure 28:</b> Résultat de fluorescence sur King B.....	50
<b>Figure 29:</b> Résultat d'oxydation / fermentation .....	51
<b>Figure 30:</b> Résultat du test de production d'indole.....	52
<b>Figure 31:</b> Résultat de croissance à 39°C.....	52
<b>Figure 32:</b> Résultat d'hypersensibilité sur tabac.....	53

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Plantes hôtes du pathogène <i>Erwinia amylovora</i> .....	8
<b>Tableau 2</b> : Matériel végétal prélevé des échantillons présentent des symptômes du feu Bactérien.....	31
<b>Tableau 3</b> : Evaluation de nombre de chancres de feu bactérien des vergers de poirier.....	39
<b>Tableau 4</b> : Evaluation de nombre de chancres de feu bactérien de verger de pommier.....	41
<b>Tableau 5</b> : Analyse de variance nombre des chancres sur les troncs pour les quatre vergers de L'Arbaa.....	42
<b>Tableau 6</b> : Analyse de variance nombre des chancres sur les rameaux pour les quatre vergers de L'Arbaa.....	42
<b>Tableau 7</b> : Evaluation de la taille des chancres (longueur et largeur) des vergers de poirier atteints par le feu bactérien.....	44
<b>Tableau 8</b> : Evaluation de la taille des chancres (longueur et largeur) des vergers de pommier atteints par le feu bactérien.....	44
<b>Tableau 7</b> : Taux d'infection de feu bactérien dans les quatre vergers de L'Arbaa.....	46
<b>Tableau 10</b> : Analyse de variance de taux d'infection du feu bactérien dans les quatre vergers de L'Arbaa.....	46
<b>Tableau 11</b> : Résultats des tests biochimiques et le test biologique .....	48

## Liste des annexes

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

**Annexe 2** : Composition de milieu Levane pour formuler 1L d'eau distillée.

**Annexe 3** : Composition de milieu Hugh et Leifson pour formuler 1 L d'eau distillée.

**Annexe 4** : Composition de milieu Indole pour formuler 1L d'eau distillée.

**Annexe 5** : Composition de milieu liquide 523 pour formuler 1 L d'eau distillée.

## Liste des abréviations

**OEPP** : Organisation Européenne de la Protection des plantes

**FoxR** : Récepteur de fer

**EPS** : exopolysaccharides

**LPS** : Lipopolysaccharide

**SST3** : Système de sécrétion de type III

**ams** : amylovoran synthesis

**hrp** : Hypersensitive response and pathogenicity

**km** : kilomètre

**ha** : hectare

**µl** : microlitre

**Kb** : Kilo-base

**T** : température

**P** : précipitation

: L'ensemble

**PCR** : Réaction Polymérase en Chaîne

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : le peroxyde d'oxygène

**V** : verger

**G.L.M** : Modèle Linéaire Global

## Introduction

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

Cette bactériose affecte les plantes de la famille des *Rosaceae*, sous famille des *Pomoïdeae* telles que pommier, poirier, cognassier, néflier,...etc.

Elle atteint aussi les plantes sauvages comme les arbustes d'ornement tels que *carataegus* sp, *sorbus* sp, *Pyracantha* sp, et *cotoneasters*. Parmi ces plantes hôtes le poirier, constitue l'hôte principal très sensible à cette maladie (**Balduque et al., 1996 ; OEPP, 2013**).

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

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

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

Les plantes les plus touchées au feu bactérien dans ces wilayas sont le poirier, pommier et cognassier. Il a été estimé que 60 vergers de poirier et pommier sont touchés dans la wilaya de Blida (**Nouni, 2013**).

Le but de ce travail consiste la recherche et la confirmation de la présence de la maladie du feu bactérien dans deux régions de Mitidja centre : Larbaa et Médéa.

Il s'agit de réaliser une étude symptomatologique de la maladie du feu bactérien sur terrain par la mesure de la taille et nombre des chancres en période de repos végétatif suivi de l'identification biochimique et biologique de l'agent causal au laboratoire.

### I.1. L'agent causal

#### I.1.1. Caractères morphologiques

*Erwinia amylovora* est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, elle est aéro-anaérobie facultative, non sporulante (**Hauben et al., 1998**).

*Erwinia amylovora* mesure environ 1,6 µm de longueur et 0,8 µm de largeur, et apparaît sous la forme de bâtonnet aux extrémités arrondies et mobile au moyen de plusieurs flagelles péritriches (Figure 1) (**Van Der Zwet et al., 2012**).

Le génome présente une taille de 3 8056 Kb, et a une teneur en G + C d'environ 53,5%. Il existe également deux plasmides, AMYP1 (28 Kb) et AMYP2 (71 Kb) (**Sebahia et al., 2010**).

C'est la première bactérie identifiée comme un pathogène des plantes (Burrill, 1883), la plupart des membres du genre *Erwinia* causent des maladies chez les plantes (**Hauben et al., 1998**).

Une fois identifiée, *E. amylovora* peut être mise en culture pure sur un milieu King B, sur lequel on peut observer de petites colonies blanches de 1 mm de diamètre, rondes et lisses, après 72h de croissance à 21°C (Figure 2) (**Agriréseau, 2014**).

#### I.1.2. Systématique

Domaine : *Bacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

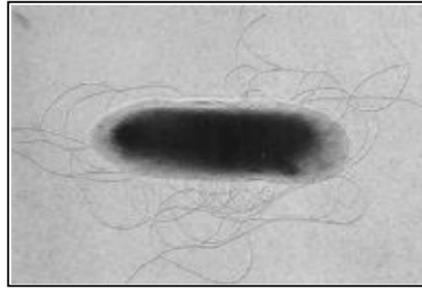
Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

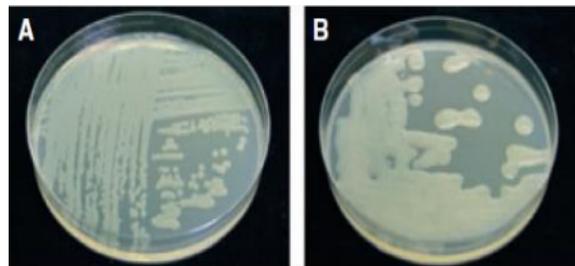
Genre : *Erwinia*

Espèce : *Erwinia amylovora*

(Burrill, 1882 ; Winslow et al., 1920).



**Figure 1** : Cellule virulente d'*E. amylovora* avec flagelles péritriches abondants vue au microscope électronique (18 000 x) (Van Der Zwet *et al.*, 2012).



A : milieu King B ; B : milieu levane

**Figure 2** : Morphologie typique de colonies d'*Erwinia amylovora* (Delaubay-Cesbron, 2009).

### I.1.3. Composants de surface cellulaires et extracellulaires

#### I.1.3.1. La capsule

La bactérie *E. amylovora* est protégée par une capsule, formée par des exopolysaccharides (EPS) qui sont constitués principalement par deux types de polysaccharides l'amylovorane et le levane (Goodman *et al.*, 1987).

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

La capsule favorise à *E. amylovora* la survie et la protection contre les pertes d'eau et la reconnaissance par le système de défense de la plante hôte (Belleman *et al.*, 1992).

#### I.1.3.2. Le lipopolysaccharide (LPS)

La membrane externe de la bactérie est constituée par des lipopolysaccharides (LPS), ces derniers sont caractéristiques de toutes les bactéries à gram négatif. C'est une macromolécule tripartite composée d'un

lipide (le lipide A) ancré dans la membrane externe, d'un oligosaccharide et d'un polysaccharide appelé antigène-O (ou chaîne O) (**Raetz et Whitfield, 2002**).

Le LPS peut jouer le rôle d'une protection physique des cellules bactériennes qui contribue à réduire la perméabilité membranaire, et permettre la croissance bactérienne dans un environnement défavorable (**Kingsley et al., 1993**). Les mutants affectés dans la synthèse du LPS sont sensibles aux antibiotiques et ont une croissance limitée *in planta* (**Dow et al., 1995**).

### I.1.3.3. Les flagelles

La bactérie *E. amylovora* porte des flagelles péritriches nécessaires à la mobilité (2 à 7 par cellule), comme la plupart des Entérobactéries (**Raymundo et Ries, 1981**). Ces bactéries montrent un chimiotactisme qui permet de percevoir des composés chimiques du milieu et de se déplacer vers les produits attractifs ou de fuir les produits répulsifs (**Blair, 1995**).

Chez *E. amylovora*, le chimiotactisme dépend de la température et du pH avec un optimum situé entre 20 et 28°C et un pH de 6 à 8 (**Raymundo et Ries, 1980**). Ceci positif pour le nectar, pour un acide aminé (aspartate) et pour plusieurs acides organiques (fumarate, malate, maleate, malonate, oaxaloacétate et succinate) (**Raymundo et Ries, 1980**).

### I.1.4. Plantes hôtes

*Erwinia amylovora* provoque la maladie du feu bactérien qui affecte les Maloïdées (sous-famille des Rosacées), comprenant les arbres fruitiers à pépins (pommier, poirier...), des arbustes d'ornement (cotoneaster, *Pyracantha*...), et des arbustes sauvages (amélanchier, aubépine...) (Tableau 1) (**Paulin, 1982**).

C'est une maladie sporadique qui peut provoquer des dommages considérables, car elle est nécrogène et évolue très rapidement (**Van Der Zwet et Keil, 1979**).

**Tableau 1** : Plantes hôtes du pathogène *Erwinia amylovora* (Paulin, 1982).

	Noms latins (Genre)	Noms communs
les arbres fruitiers à pépins	<i>Malus</i>	Pommier et compris pommier d'ornement.
	<i>Pyrus</i>	Poirier et compris poirier d'ornement et nashi.
	<i>Cydonia</i>	Cognassier.
Arbustes d'ornement	<i>Chaenomeleles</i>	Cognassier de Japon.
	<i>Cotoneaster</i>	Cotoneaster.
	<i>Pyracantha</i>	Pyracantha au buisent ardent.
	<i>Mespilus</i>	Néflier d'Allemagne.
	<i>Eriobotryajaponica</i>	Néflier du Japon.
	<i>Photonia</i> ou <i>stranvaesia</i>	Stranvaesia.
Arbustes sauvages	<i>Crataegus</i>	Aubépine.
	<i>Sorbus</i>	Alisier et sorbier.
	<i>Amelanchier</i>	Amélanchier.

## I.2. Généralités sur la maladie du feu bactérien

### I.2.1. Historique et répartition géographique du feu bactérien

Le feu bactérien a été observé pour la première fois, en 1780 en Amérique du Nord au niveau de la vallée de l'Hudson. Au début des années 1900, il a été signalé au Canada, de l'Ontario à la Colombie-Britannique, dans le nord du Mexique, et aux États-Unis. En Océanie, la maladie a été signalée en New-Zélande en 1919. En Europe, elle a été introduite pendant les années 1975 à travers le Nord et l'Ouest, puis elle s'est propagée en Afrique à travers l'Egypte en 1964. En 1997, l'Australie a signalé la présence du feu bactérien dans les jardins botaniques d'Adélaïde et de Melbourne (**Van Der Zwet, 2002**). En 2006, le feu bactérien a été détecté au Maroc et a propagé rapidement dans les régions les plus importantes productrices de fruits à pépins. L'Amérique latine et une grande partie de l'Asie sont apparemment exemptes de la maladie (**Van Der Zwet et al., 2012**).

En Algérie, des symptômes similaires à ceux du feu bactérien ont été détectés dans plusieurs vergers en particulier pommier, poirier, néflier, et

cognassier de wilayas d'Alger, Blida, Tipaza et Boumerdès. Des échantillons ont été analysés au laboratoire et la présence d'*Erwinia amylovora* a été confirmée en 2011(OEPP, 2011).

### I.2.2. Symptomatologie

Le nom de la maladie est descriptif des symptômes du feu bactérien, induisant un noircissement des fleurs, des feuilles, des fruits et des tiges comme si ces organes ont été brûlés au feu (Van Der Zwet et Beer, 1995).

Sur pommier et poirier, les premiers symptômes apparaissent au début du printemps durant un temps chaud et humide au moment de la floraison qui constitue le point de départ de l'infection (Cambra et al., 2002).

La bactérie *E. amylovora* peut attaquer n'importe quelle partie de l'arbre des racines jusqu'aux feuilles (Figure 3) (Keith et al., 2012).

#### I.2.2.1. Brûlure des fleurs

Les premiers symptômes du feu bactérien sont visibles depuis 2 à 6 semaines après la floraison qui apparaissent d'abord imbibées d'eau (Figure 3-A), et plus tard commence à flétrir, et deviennent brunes ou noires (Figure 3-B) (Wettstein et al., 2002).

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

#### I.2.2.2. Brûlure des pousses et rameaux

Les premiers symptômes foliaires apparaissent comme une décoloration brune ou noire le long des pétioles et des nervures médianes, tandis que le reste du tissu foliaire reste vert. La présence des d'exsudats bactériens le long des nervures médianes et les tiges infectées est également fréquente (Van Der Zwet et Keil, 1979).

La forme caractéristique du feu bactérien est le recourbement en forme de crosse des jeunes pousses (Figure 3-C) **(Steiner, 1989)**.

### **I.2.2.3. Symptômes sur les fruits**

Les fruits attaqués avant maturation noircissent la partie attaquée revêt d'un aspect humide et huileux, devient brunâtre puis noirâtre (Figure 3-D) **(Agrios, 2004)**.

Des gouttelettes d'exsudat peuvent se former sur la surface des fruits c'est le symptôme le plus caractéristique du feu bactérien. Par la suite, les fruits se dessèchent prenant un aspect momifié et restent attachés aux rameaux (Figure 3-E) **(Bennet et Billing, 1980)**.

### **I.2.2.4. Les chancres**

Les chancres apparaissent d'abord brun à violacé. Finalement, ils se creusent, avec des marges de craquage. Le tissu sous l'écorce apparaît d'abord imbibé d'eau, éventuellement avec des rayures rouges et se tourne finalement au brun pendant les périodes pluvieuses ou très humides **(Dye, 1983)**.

En temps chaud et humide, la nécrose corticale se développe rapidement et peut évoluer en chancre avec une production abondante d'exsudats bactériens (Figure 3-F) **(Van Der Zwet et Keil, 1979)**.



**A** : Exsudats bactériens  
(Kent *et al.*, 2008).



**B** : Brûlure sur le bouquet floral  
(Kent *et al.*, 2008).



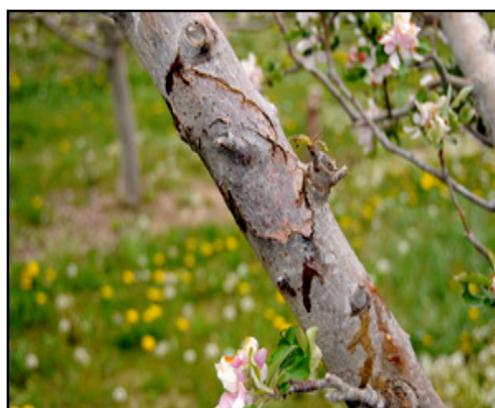
**C** : Pousses infectées formant  
une courbure en crocse (**Omafra**, 2011).



**D** : Noircissement des fruits de poirier  
(Nécrose) et exsudats bactériens  
(**Omafra**, 2011).



**E** : Fruits momifiés (**Omafra**, 2011).



**F** : Chancre du feu bactérien sur  
une branche d'un pommier  
(Kent *et al.*, 2008).

**Figure 3** : Symptômes du feu bactérien.

### I.2.3. Epidémiologie

Le cycle épidémiologique dans les vergers commence au printemps. Il est caractérisé par deux phases d'inoculation : primaire et secondaires, permettant à la bactérie de suivre un processus de contamination et des mouvements systémiques lors de son cycle infectieux (Figure 4) (**Vanneste, 2000**).

#### I.2.3.1. Sources de l'inoculum primaire

Les bactéries peuvent survivre l'hiver dans les tissus vivants de l'écorce, près des chancres qui servent d'inoculum pour le printemps suivant, qui, infectés, produisent un exsudat composé de bactéries viables. La dispersion s'effectue alors en direction des fleurs ouvertes (Figure 5) (**Philion, 2014**).

D'autres sources peuvent être responsables de l'infection primaire comme la pluie, par le biais d'éclaboussures depuis l'exsudat vers les fleurs, les feuilles, ou éventuellement les apex (**Thomson, 2000**).

Les fruits momifiés restant attachés à l'arbre peuvent aussi constituer une source d'inoculum primaire (**Van Der Zwet et Beer, 1995**). Les plantes réservoirs jouent également un rôle de réserve d'inoculum de la bactérie pendant l'hiver (**Momol et Aldwinckle, 2000**).

#### I.2.3.2. Dissémination et inoculum secondaire

La bactérie se dissémine à partir de lésions actives via des insectes pollinisateurs pendant la période de floraison, ou grâce à des phénomènes physiques (vent, pluie...). L'homme aussi peut provoquer la propagation de la maladie par les outils de travail (sécateur, scie) pour contaminer d'autres sites (**Crepel et al., 1996 ; Momol et al., 1998 ; Richter et al., 1999**).

Les abeilles parcourant de nombreux kilomètres dans la journée pour alimenter leur ruche, récoltent le pollen sur les étamines qui peut alors contenir des bactéries, susceptibles d'être disséminées aux fleurs suivantes (**Van Der Zwet et Keil, 1979 ; Thomson, 2000 ; Philion, 2014**).

Les oiseaux seraient aussi responsables d'une petite partie de la dissémination de la maladie au sein du verger. Par tous ces aspects, l'arrivée du pathogène sur les fleurs permet ensuite une multiplication et la dispersion aux autres fleurs rapidement (**Thomson, 2000**).

### I.2.3.3. Cycle de la maladie

Au printemps, la bactérie *E. amylovora* se multiplie épiphytiquement sur la surface des stigmates au niveau des fleurs et sa population s'amplifie rapidement. Le pathogène se déplace des surfaces stigmatiques aux nectaires, qui constituent la porte principale d'entrée aux tissus de la plante hôte (Figure 4 et 5) (**Vanneste, 2000**).

La bactérie pénètre dans les jeunes pousses et les jeunes feuilles par des voies multiples telles que les nectaires floraux, les stomates, les lenticelles, les hydathodes et les poils glandulaires brisés situés à la base des pétioles et des blessures (**Van Der Zwet, 1995 ; Thomson, 2000**).

Une fois la bactérie est à l'intérieur de la plante, elle se multiplie dans les espaces intercellulaires et se déplace rapidement à travers le parenchyme cortical mais elle peut aussi atteindre les vaisseaux du xylème où elle se déplace contre le flux ascendant de sève. À l'hiver l'infection progresse dans les tissus boisés et produit des chancres permettant l'hivernation de la bactérie (**Vanneste, 2000**).

La bactérie *E. amylovora* peut se conserver dans le verger sur des tissus vivants limitant les chancres au niveau des rameaux, des charpentières et du tronc sous forme de gouttelettes mucilagineuses de couleur crème brunâtre (**Blachinsky et al., 2003**).

Les fruits momifiés restant attachés à l'arbre peuvent aussi constituer une source d'inoculum primaire. Les bourgeons infectés l'année précédente constitueraient une source potentielle d'inoculum dans les vergers où il n'y a pas les chancres dormants. Il peut aussi survivre de façon épiphyte et endophyte sur les tissus (**Van Der Zwet et al., 1995**).

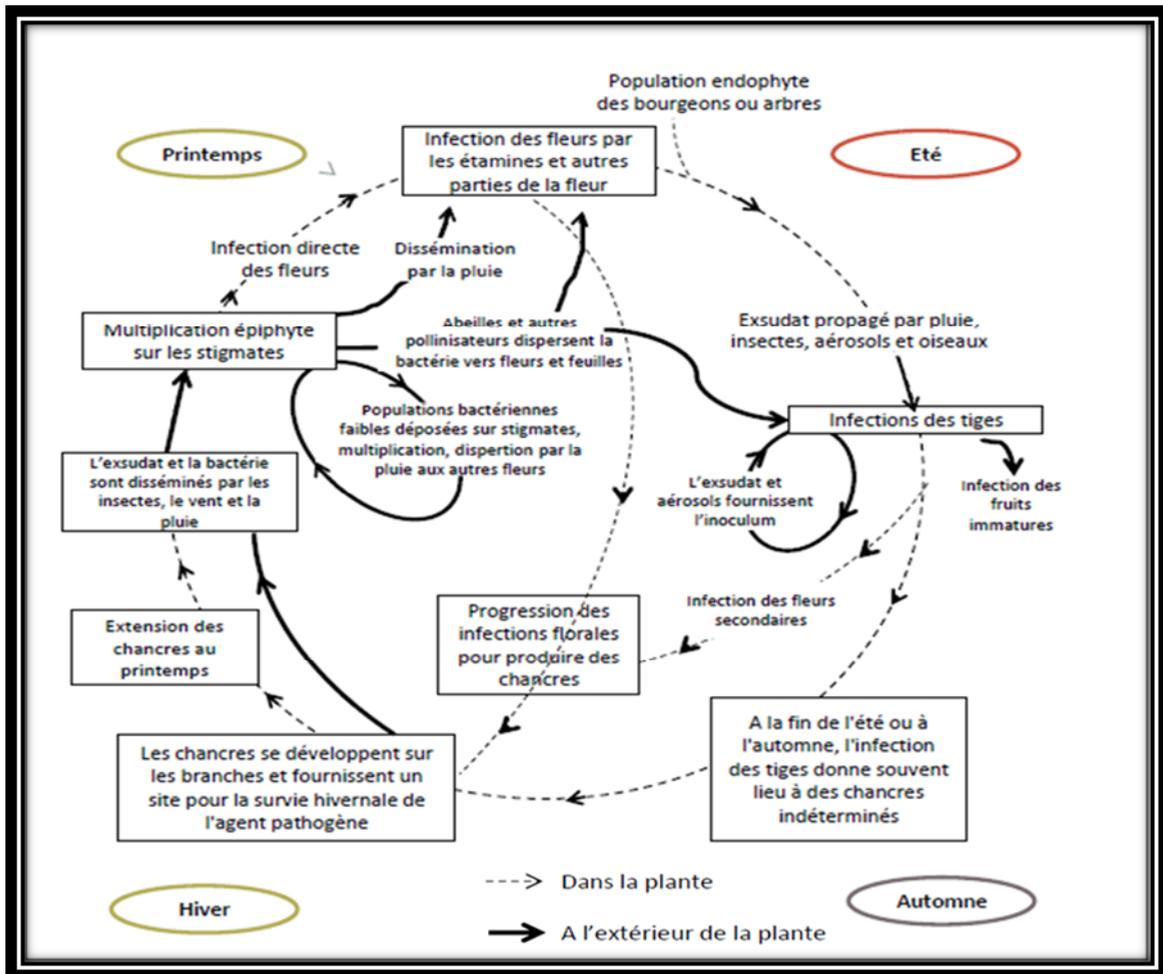


Figure 4: Cycle infectieux du feu bactérien (Vanneste, 2000).

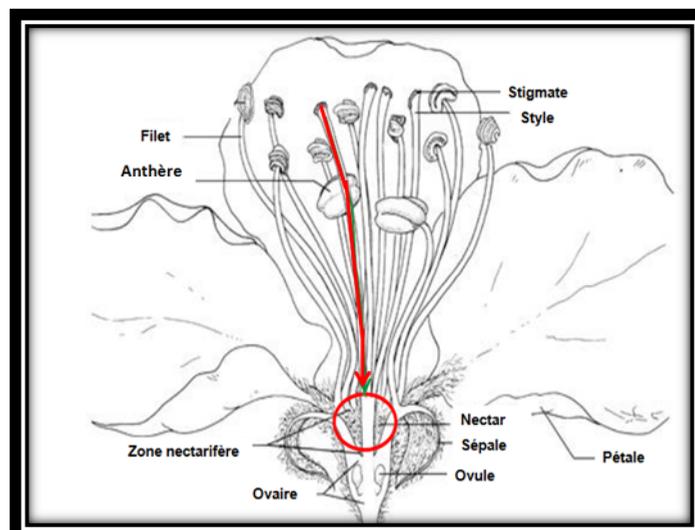


Figure 5: Voie d'entrée de la bactérie sur la fleur de pommier lors de l'infection (Davis, 2012).

### I.2.3.4. Les facteurs climatiques influant la pathogénicité

Au printemps, les bactéries se multiplient grâce à des conditions climatiques favorables en termes de température entre 24°C et 27°C, et l'humidité relative au dessus de 50%, sont les conditions optimales de croissance (**Van Der Zwet et Beer, 1995**).

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

### I.2.4. Les facteurs du pouvoir pathogène

La bactérie *E. amylovora* nécessite la présence de système de sécrétion de type III (T3SS), le système d'acquisition du fer, l'exopolysaccharide (L'EPS) et la formation de biofilm, pour infecter et causer une maladie sur les plantes hôtes (**Piqué N et al., 2015**).

#### I.2.4.1. L'exopolysaccharide (L'EPS)

La biosynthèse de l'exopolysaccharide requiert un grand nombre de gènes. La plupart de ces gènes sont localisés dans une région du chromosome d'environ 17kb appelée *ams* (amylovoran synthesis) (**Bugert et Geider, 1995**). Les quantités d'EPS synthétisées varient selon les souches mais aussi en fonction de la température, du pH, de la concentration en sels du milieu et de la source de carbone (**Delaubay-Cesbron, 2009**).

Les EPS ont un rôle clé dans le contournant du système de défense de la plante, en perturbant et l'obstruction du système vasculaire de la plante et dans la protection des bactéries contre l'eau et les pertes de nutriments dans des conditions sèches (**Piqué et al., 2015**).

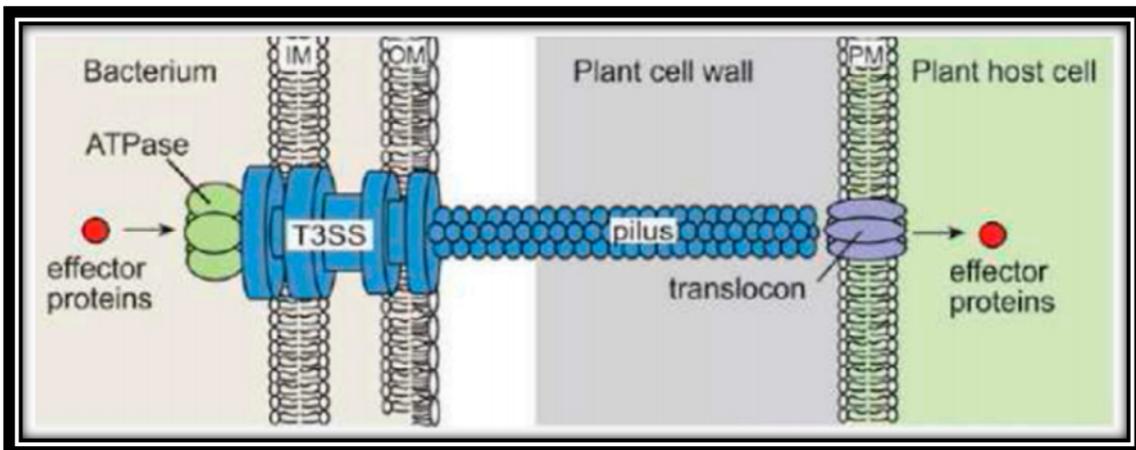
#### I.2.4.2. Le système de sécrétion de type III (SST3)

*E. amylovora* utilise le système de sécrétion de type III pour d'infecter l'hôte, et pour exporter des protéines effectrices dans le cytosol des cellules de

la plante hôte par l'intermédiaire d'une structure analogue à des pili, qui constitue le noyau central (Figure 7) (Piqué *et al.*, 2015).

Chez *E. amylovora*, l'expression des gènes *hrp* est activée *in planta* et en milieu minimum, et réprimée en milieu riche (Wei *et al.*, 1992). Les signaux environnementaux qui affectent l'expression des gènes incluent les sources de carbone et d'azote, le pH, la température et l'osmolarité (Gaudriault *et al.*, 1997).

Les gènes *hrp* codant pour l'appareil de SST3 peuvent être classés en trois catégories selon leur fonction : gènes de régulation, gènes de structure et gènes des protéines sécrétées. La plupart des mutations dans les gènes *hrp* conduisent à la perte de la virulence (Willis *et al.*, 1991).



**Figure 6** : Représentation schématique du système de sécrétion de type III des bactéries pathogènes des plantes (Büttner *et al.*, 2009).

### I.2.4.3. Système d'acquisition du fer

La bactérie *E. amylovora* possède un système d'acquisition du fer composé de sidérophores de type hydroxamate et d'un récepteur FoxR, important pour la survie de la bactérie en milieu carencé en fer comme l'apoplaste (Expert, 2000).

Le sidérophore majoritairement produit par *E. amylovora* est cyclique (DFO E) mais de petites quantités, elle est synthétisée d'autres sidérophores du même type, cycliques (DFO D, X) ou linéaires (DFO G) (Feistner *et al.*, 1993).

Le sidérophore se lie au Fe<sup>3+</sup> pour former la ferrioxamine et l'ensemble est réinternalisé grâce à FoxR (**Kachadourian et al., 1996**). Sur fleurs, les mutants *dfoA* et *foxR* montrent une capacité de colonisation des fleurs plus faible que la souche sauvage et induisent un niveau moindre de maladie. Ce système est donc impliqué dans l'agressivité de la bactérie (**Dellagi et al., 1998**).

#### I.2.4.4. Formation de biofilm

*E. amylovora* forme un biofilm *in vitro* et *in planta*, la pathogenèse et la formation de biofilm semble être liée entre eux, mais sans identifier des gènes codant pour des traits indépendants de la production d'amylovorane. Les mutants avec capacité réduite de formation de biofilm semblent incapables d'établir avec succès de grandes populations dans le xylème. La colonisation de xylème est critique pour le mouvement systémique de l'agent pathogène dans les plantes (**Piqué et al., 2015**).

#### I.2.5. Impact économique

En 1998, les pertes annuelles dues au feu bactérien ont été estimées à plus de 68 millions \$ en Washington et le nord d'Oregon (**Van Der Zwet et al., 2012**).

En 2000, l'épidémie la plus répandue du feu bactérien a eu lieu dans le sud du Michigan et les pertes ont été estimées à 42 millions \$, y compris le retrait de 300.000 arbres et le remplacement de 1.550 acres de jeunes vergers (**Longstroth, 2000**).

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

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

#### I.2.6. Stratégies de lutte contre le feu bactérien

Les méthodes de lutte actuelles sont diverses mais chacune est d'efficacité limitée (**Delaunay-Cebren, 2009**). Ces méthodes doivent être

accompagnées par des mesures d'éradication (suppression manuelle de pousses voire arrachage des arbres malades), mais la meilleure méthode pour protéger nos cultures c'est la lutte intégrée qui englobe toutes les méthodes de lutte (**Psallidas et Tsiantos, 2000**).

### **I.2.6.1. Lutte culturale**

Plusieurs possibilités s'offrent aux producteurs pour limiter les pertes dues au feu bactérien : l'élimination des chancres peut être réalisée avant la saison printanière en éliminant les branches porteuses de maladie. Puis dès l'apparition des symptômes, il faut éliminer rapidement les foyers d'infection pour limiter la propagation de la maladie, en coupant les pousses au moins 30 à 40 cm en amont des symptômes, éventuellement à l'aide de sécateurs stériles. Il existe des risques de contamination par les outils qui peuvent être réduits en les utilisant dans du bois sain et par temps sec. Les branches coupées sont ensuite jetées puis brûlées (**AGyours, 2014 ; Phillion, 2014**).

L'infection du porte-greffe peut avoir lieu dès l'apparition des premiers symptômes et peut être liée à la phase de mortalité de l'arbre, la plus destructrice (**Phillion, 2014**).

Les porte-greffes les plus résistants que d'autres au feu bactérien sont soit Budagovsky 9 (ou B9, ou BUD-9) ou bien les porte-greffes de la série Geneva (G41, G935 et G30), et concernant les greffons moins sensibles au feu bactérien sont: McIntosh, Liberty, Empire, McFee ou Délicieuse (**AGyours, 2014**).

En outre, il est préférable d'associer un cultivar qui est le moins sensible possible avec un porte-greffe résistant afin de réduire au maximum les risques de feu bactérien (**Phillion, 2014**).

### **I.2.6.2. Lutte chimique**

Les produits utilisables en traitement phytosanitaire contre les bactérioses sont les produits cupriques (par exemple la bouillie bordelaise), et n'ont d'efficacité que s'ils sont appliqués en préventif. L'action du cuivre est bactériostatique (**Psallidas et Tsiantos, 2000**).

L'hydroxyde de cuivre est le composé cuivré le plus utilisé, a prouvé son efficacité contre le feu bactérien à 88%. En raison de son accumulation dans les eaux et les sols, son utilisation pourrait avoir un impact négatif sur la biodiversité et la fertilité des sols (**Gusberti et al., 2015**).

L'utilisation des antibiotiques tels que Oxytetracycline et Kasugamycin, ce dernier a été récemment homologuée en Juin 2013 comme nouvel antibiotique sous le nom de Kasugamycin ou Kasumin 2L, elle est efficace contre les maladies bactériennes qui se développent sur les arbres cultivés (**Jurgens et Babadoost, 2013**).

### **I.2.6.3. Lutte génétique**

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

Différentes approches sont explorées. Elle consiste 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**), et des protéines cibles d'effecteurs modifiées (**Borejsza-Wysocka et al., 2006**).

Au-delà de l'acceptabilité sociétale du transgène, l'efficacité et la durabilité de la résistance conditionnent le succès de cette approche. C'est pourquoi il est important d'avoir une connaissance précise des mécanismes de l'interaction *E. amylovora*-plante hôte, qui conduisent à la résistance ou à la sensibilité. Aucune résistance monogénique n'a été identifiée à ce jour pour ce pathosystème. Les résistances seraient d'origine multigénique ou tout au moins oligogénique (**Delaubay-Cesbron, 2009**).

### **I.2.6.4. Lutte biologique**

Les organes les plus sensibles à l'infection par *E. amylovora* étant les fleurs, le contrôle biologique du feu bactérien cherche à établir des bactéries antagonistes au niveau de ces organes avant l'arrivée du pathogène. Il s'agit

donc d'un moyen préventif de combattre la maladie (**Delaubay-Cesbron, 2009**).

La bactérie *Pantoea agglomerans*, produit des composés inhibant la croissance d'*E. amylovora* (**Wodzinski et Paulin, 1994**). La souche de *P. agglomerans* C9-1 est commercialisée au Canada sous le nom de BlightBan C9-1 (**Wilson et Lindow, 1993**).

Des espèces de *Bacillus*, microorganismes de la rhizosphère présents aussi en surface des plantes, peuvent également inhiber la croissance d'*E. amylovora*. La souche QST 713 de *Bacillus subtilis* est commercialisé dans divers pays sous le nom de Serenade WPO (**Jock et al., 2002**).

D'autre part, l'utilisation des huiles essentielles qui sont extraites à partir des plantes aromatiques plus particulièrement de la famille des *Lamiaceae* (*Origanum sp*, *Thymus sp*, *Mellisa sp*, *Mentha sp*, et *Nepeta sp*) sont utilisées dans la lutte biologique contre le feu bactérien et ont montré une efficacité supérieure à celle de la streptomycine (**Kokoskova et al., 2011**).

### **I.2.6.5. Lutte intégrée**

L'application rationnelle d'une combinaison de mesures biologiques, biotechnologiques, chimiques, physiques, culturelles ou intéressant la sélection des végétaux dans laquelle l'emploi de produits chimiques phytopharmaceutiques est limité au strict nécessaire pour maintenir la présence des organismes nuisibles en dessous de seuil à partir duquel apparaissent des dommages ou une perte économiquement inacceptables (**INRA, 2012**).

## II.1. Présentation de la Mitidja

La Mitidja a une latitude Nord moyenne 36 à 48 degrés et une altitude moyenne de 20 à 50 m. Elle s'étend sur une longueur de 100 km et une largeur de 5 à 20 km, sa superficie est de 140 000 hectares (Figure 7) (Cheverry et Robert, 1998).

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

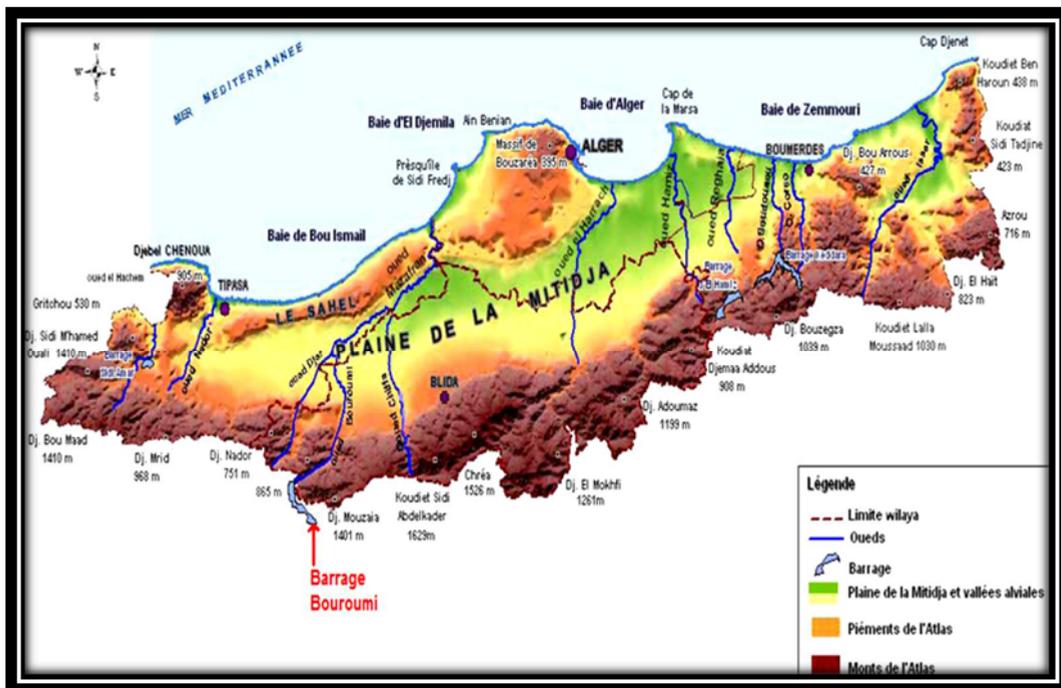


Figure 7 : Limite géographique de la Mitidja (Namane, 2009).

## II.2. Présentation des régions d'étude

Dans notre travail d'isolement et caractérisation d'*Erwinia amylovora* agent pathogène de feu bactérien, nous sommes basés sur prendre les mesures des chancres, et prélève des échantillons qui présentent les symptômes du feu bactérien.

La prospection a été réalisée au niveau de deux régions L'Arbaa et Médéa, au total neuf vergers ont été visités dont six vergers de poirier variété Santa Maria, deux vergers de pommier variété Hanaa et Golden Délicious, et un verger de cognassier variété Géant du Portugal. Nos sorties sur terrain se sont déroulées pendant la période allant du mois de février jusqu'à juin 2017.

Les vergers prospectés de L'Arbaa sont les suivants :

- **Sahraoui** : Deux vergers de poirier variété Santa Maria ont été visités ; **Bakir Omar** âgé de 20 ans s'étend sur une superficie de 3 ha (Figure 8), et **Harzalloui Omar** âgé de 24 ans s'étend sur une superficie de 1 ha 20 (Figure 9).



**Figure 8** : Image satellite du verger de poirier à L'Arbaa de Bakir Omar (Verger 1) (36°35'45.88 Nord ; 3°10'53.59 Est) (Google – Earth, 2017).



**Figure 9** : Image satellite du verger de poirier à L'Arbaa de Harzalloui Omar (Verger 2) ( $36^{\circ}35'48.55$  Nord ;  $3^{\circ}10'13.93$  Est) (Google – Earth, 2017).

- **Bouchetab** : un verger de poirier variété Santa Maria a été visité **Bakir Massaoud (eac 2)** âgé de 14 ans s'étend sur une superficie de 4 ha (Figure 10).



**Figure 10** : Image satellite du verger de poirier à L'Arbaa de Bakir Massaoud (Verger 3) ( $36^{\circ}38'1.47$  Nord ;  $3^{\circ}9'2.67$  Est) (Google – Earth, 2017).

- **Haouch El Makhfi** : un verger de pommier variété Hanaa a été visité **Sbihi Mouhamed (eac 1)** âgé de 15 ans s'étend sur une superficie de 3 ha (Figure 11).



**Figure 11** : Image satellite du verger de pommier à L'Arbaa de Sbihi Mouhamed (Verger 4) ( $36^{\circ}38'19.50$  Nord ;  $3^{\circ}11'5.25$  Est) (Google – Earth, 2017).

Les vergers prospectés de Médéa sont les suivants :

- **Ouamri** : Deux vergers de poirier variété Santa Maria ont été visités ; la **ferme pilote Ben Sidi Aisa** âgé de 8 ans s'étend sur une superficie de 8 ha (Figure 12), et la **ferme pilote Si Dhaoui** âgé de 14 ans s'étend sur une superficie de 10 ha (Figure 13).



**Figure 12** : Image satellite du verger de poirier à Médéa de la ferme pilote Ben Sidi Aisa (Verger 5) ( $36^{\circ}11'50.79$  Nord ;  $2^{\circ}31'44.55$  Est) (Google – Earth, 2017).



**Figure 13** : Image satellite du verger de poirier à Médéa de la ferme pilote Si Dhaoui (Verger 6) ( $36^{\circ}12'2.89$  Nord ;  $2^{\circ}31'31.58$  Est) (Google – Earth, 2017).

- **Harbil** : un verger de poirier variété Santa Maria a été visité **Souna Mouhamed** âgé de 15 ans s'étend sur une superficie de 2 ha (Figure 14).



**Figure 14** : Image satellite du verger de poirier à Médéa de Souna Mouhamed (Verger 7) ( $36^{\circ}13'26.37$  Nord ;  $2^{\circ}38'1.96$  Est) (Google – Earth, 2017).

- **Ouled Brahim** : Deux vergers de **Kefafi (eac 4)** ont été visités ; un verger de pommier variété Golden Délicious âgé de 16 ans s'étend sur une superficie de 4 ha (Figure 15), et un verger de cognassier variété Géant du Portugal âgé de 16 ans s'étend sur une superficie de 2 ha (Figure 16).



**Figure 15 :** Image satellite du verger de pommier à Médéa de Kefaii (Verger 8) (36°12'25.45 Nord ; 2°54'45.00 Est) (Google – Earth, 2017).



**Figure 16 :** Image satellite du verger de cognassier à Médéa de Kefaii (Verger 9) (36°12'30.69 Nord ; 2°54'42.17 Est) (Google – Earth, 2017).

### II.3. Etude climatique de la Mitidja

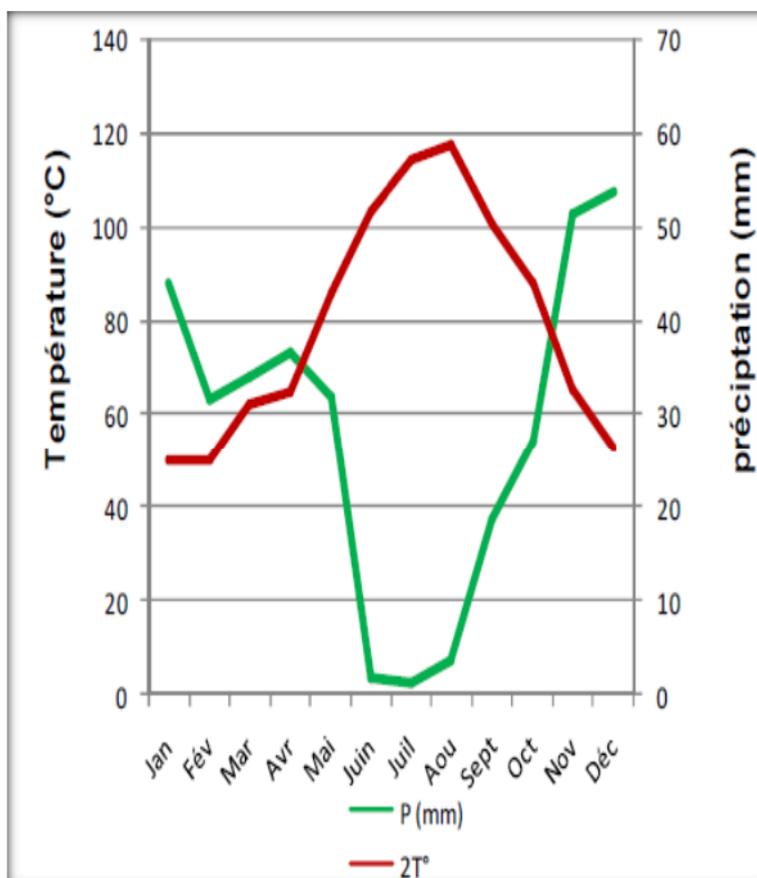
La Mitidja est caractérisée par un climat méditerranéen à hiver doux à froid et pluvieux avec une précipitation moyenne de 600 mm et à été chaud et secs (Namane, 2009), ce sont des conditions optimales et favorables pour le développement de plusieurs maladies comme le feu bactérien.

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

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

### II.3.1. Diagramme ombrothermique de Gausсен de la Mitidja sur une période de 10 ans (2004-2014)

A fin d'obtenir le diagramme ombrothermique de Gausсен qui met en évidence de la période sèche de l'année, nous devons présenter les précipitations mensuelles (P) en mm et les températures (T) sur un même graphe en ordonnée avec  $P=2T$  (Figure 17) (**Bagnouls et Gausсен, 1953**).



**Figure 17** : Diagramme ombrothermique de Gausсен de la Mitidja sur une période de 2004-2014 (**Anonyme, 2015**).

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

### II.3.2. Climagramme d'Emberger

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

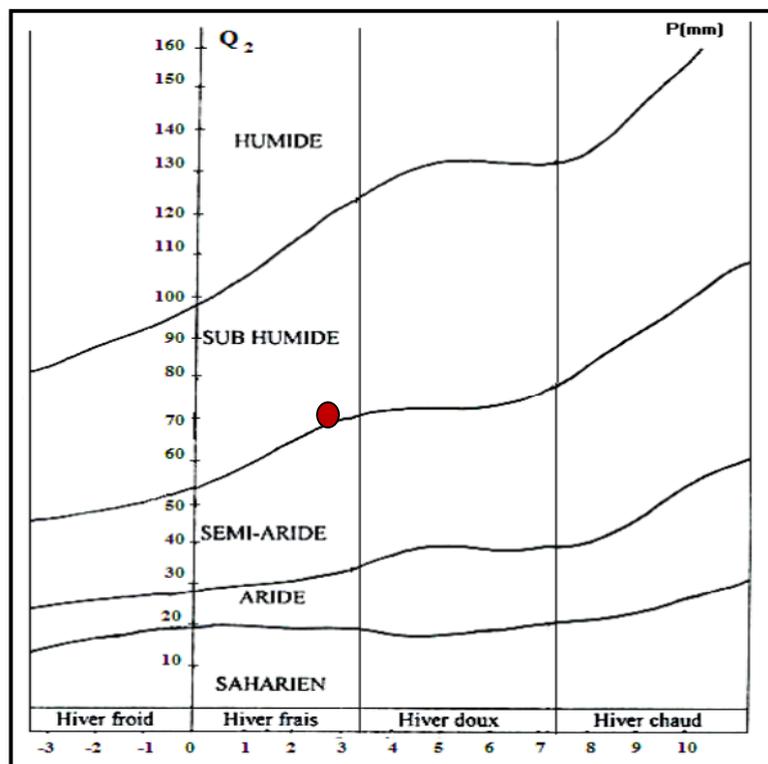
$$Q_2 = \frac{3.43 P}{M - m}$$

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

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

**P** : précipitations annuelles en mm.

Le Q2 d'Emberger de Mitidja sur la période (2004-2014) qui est de 72,3, montre que cette région est située dans l'étage bioclimatique Sub humide (Figure 18).



**Figure 18** : Place de la Mitidja dans le climagramme d'Emberger (**Anonyme, 2015**).

Durant la campagne 2014–2015, les mois les plus froids sont le mois de décembre et le mois de janvier avec une température moyenne respectivement 11,5°C et 13,4°C par contre les mois les plus chauds sont respectivement les mois de juillet et septembre avec 26,6°C, 24,9°C.

Les mois les plus pluvieux sont le mois de mars et novembre avec 158,0 mm et 195,1 mm (**Anonyme, 2015**).

### **II.4. Mesure des chancres sur terrain**

Des études comparatives ont été effectuées dans la commune de L'Arbaa, sur la maladie du feu bactérien entre les vergers de poirier et de pommier.

Un total de quatre vergers, dont trois vergers de poirier et un verger de pommier. Ces vergers s'étendent sur des superficies qui varient entre deux et quatre hectares ce qui correspond à un nombre d'arbre entre 1500 et 3600 arbres.

Nous avons réalisé des mesures de 60 arbres atteints du feu bactérien choisi aléatoire, nous avons calculé les nombres des chancres sur les troncs et les rameaux pour chaque arbre, ainsi que la mesure de la longueur et la largeur des chancres sur ces derniers à l'aide d'un double décimètre.

### **II.5. Echantillonnage**

Il a été effectué au mois de Mai 2017 dans deux régions L'Arbaa et Médéa. Les prospections réalisées ont visé le prélèvement des échantillons présentant les symptômes du feu bactérien (exsudats sur les jeunes pousses, rameaux, feuilles et bouquets floraux).

Les prélèvements ont été effectués au hasard sur plusieurs arbres (Tableau 2), pour en sélectionner à la fin 17 échantillons représentatifs

Les échantillons sont coupés à l'aide d'un sécateur désinfecté à l'eau de javel après chaque prélèvement, après sont placés dans des sachets en plastique stériles, sur lesquels on a mentionné toutes les coordonnées du prélèvement (date, site, commune), puis les échantillons sont conservés à 4°C réfrigérateur.

**Tableau 2:** Matériel végétal prélevé des échantillons présentent des symptômes du feu bactérien (exsudats, bouquets floraux, rameaux et feuilles).

	<b>Verger</b>	<b>Date de prélèvement</b>	<b>Plantes</b>
L'Arbaa	Bakir Omar	09/05/2017	Poirier variété Santa Maria
	Harzalloui Omar	09/05/2017	Poirier variété Santa Maria
	Bakir Massaoud (eac2)	12/05/2017	Poirier variété Santa Maria
	Sbihi Mouhamed (eac1)	13/05/2017	Pommier variété Hanaa
Médéa	La ferme pilote Ben Sidi Aisa	30/06/2017	Poirier variété Santa Maria
	La ferme pilote Si Dhaoui	30/06/2017	Poirier variété Santa Maria
	Kefaifi (eac 4)	30/06/2017	Pommier variété Golden Délicious
		30/06/2017	Cognassier variété Géant du Portugal
	Harbil	30/06/2017	Poirier variété Santa Maria

## II.6. Isolement

L'isolement est la première étape du diagnostic au laboratoire consiste à isoler la bactérie à partir des tissus végétaux présentant des symptômes du feu bactérien ou des organes attaqués par le feu bactérien comme les bouquets floraux et des exsudats.

### II.6.1. Isolement à partir des exsudats

Nous avons prélevé à l'aide d'une anse àensemencer flambée des exsudats, qui sont mis dans des tubes à essai contenant 2 ml d'eau distillée stérile, après agitation à l'aide d'un vortex.

Une goutte de la suspension étalée en secteurs sur des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture levane. Ces boîtes sont mises en incubation à l'étuve à 27°C pendant 72h.

### II.6.2. Isolement à partir du fragment malade

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

A l'aide d'une pince stérile, les fragments coupés sont mis en macération dans un flacon contenant l'eau distillée stérile sous agitation horizontale pendant 20 à 30 min. A l'aide de micropipette on prélève un volume de 100 µl de la solution obtenue qui est étalé en boîtes de Pétri par la technique d'étalement sectoriel sur le milieu de culture levane à l'aide d'une anse à ensemer flambée.

## II.7. Purification

Après incubation, nous avons purifié les colonies les plus proches aux caractéristiques culturelles d'*Erwinia amylovora* jusqu'à obtention des souches pures pour faire les tests d'identification biochimiques et biologiques (OEPP, 2012).

## II.8. Tests d'identification de l'agent pathogène :

### II.8.1. Les tests biochimiques

#### II.8.1.1. Test de Gram

Selon la méthode KOH (Suslow *et al.*, 1982), simple et rapide en utilisant une solution à 3% d'hydroxyde de potassium pour la distinction entre les bactéries Gram-positifs et Gram-négatifs. Une goutte de KOH à 3% d'hydroxyde sur une lame et à l'aide d'une pipette Pasteur la crème bactérienne est récupérée ; la bactérie est considérée comme gram négatif s'il y a formation de filet visqueux.

### II.8.1.2. Test de fluorescence sur milieu King B

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

### II.8.1.3. Test catalase

Ce test permet de déterminer la présence de l'enzyme catalase chez la bactérie servant à décomposer le peroxyde d'oxygène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). A l'aide d'une pipette pasteur stérile déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène (10V) sur une lame en verre stérile. Une culture bactérienne âgée de 24 heures est déposée dans la solution de peroxyde d'hydrogène à l'aide d'une anse à ensemencer en plastique stérile. Après 2 minutes, la présence de bulles révèle le dégagement d'oxygène et par conséquent une réaction positive (**Dickey, 1988**).

### II.8.1.4. Test d'activité cytochrome oxydase

Le test oxydase permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme cytochrome C oxydase. Nous avons utilisé une goutte de réactif de N, N, diméthylparaphénylène diamine sur un papier buvard, pour réaliser une émulsion immédiate à l'aide de l'anse de culture sur le buvard imbibé. Le test est considéré positif si une couleur rose violacée est apparue, Le test est négatif en l'absence de la coloration (**Klement et al., 1990**).

### II.8.1.5. Métabolisme du glucose (oxydation /fermentation)

Une culture bactérienne âgée de 24 à 72 heures est ensemencée sur le milieu Hugh et Leifson (Hugh et Leifson, 1953). Ce milieu semi solide est utilisé pour différencier entre la voie oxydative et la voie fermentative des bactéries phytopathogènes (**Schaad et al., 1988**).

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

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

### II.8.1.6. Test de production d'indole

Une culture bactérienne âgée de 24 à 72 heures est déposée à l'aide d'une anse à ensemencer sur le milieu Indole liquide. A la suite de l'incubation, trois gouttes de réactif de Kovac's sont ajoutées. La lecture est immédiate, la présence d'un anneau rouge en surface indique une production de l'indole par la bactérie à partir d'un acide aminé qui est le tryptophane, une réaction négative montre un anneau jaune à la surface (**Schaad et al., 1988**).

### II.8.1.7. Croissance à 39°C

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

## II.8.2. Test biologique

### II.8.1.1. Test d'hypersensibilité sur tabac

Le test biologique montre que les 27 isolats inoculés sont phytopathogènes. Ce test d'hypersensibilité sur tabac (*Nicotiana tabacum* var. *Xanthi* au stade 5 feuilles) permet de mettre en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie par nécrose des zones d'inoculation (**Schaad et al., 2001**).

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

Le témoin négatif consiste à infiltrer de l'eau distillée stérile au niveau du limbe foliaire. Le test est considéré positif s'il apparaît au bout de 24 à 72 heures une plage nécrotique correspondant à la zone infiltrée. Si le résultat est inverse c'est-à-dire aucune réaction, il est négatif (**Schaad et al., 2001**).

### **II.9. Evaluation des symptômes du feu bactérien au repos végétatif**

Dans les quatre vergers de L'Arbaa. Nous avons établi une relation entre les nombres des chancres provoqués par la bactérie et l'arbre. Ce diagnostic a permis de déceler la maladie en amont de l'apparition des symptômes (Lamine *et al.*, 2008).

### **II.10. Analyses statistiques des résultats**

Les analyses statistiques ont été faites en utilisant la procédure décrite par le SYSTAT vers. 12, SPSS 2009. Nous avons alors utilisé le modèle linéaire global (G.L.M) dans le but de comparer l'incidence de la maladie du feu bactérien entre les quatre vergers de L'Arbaa.

## Résultats

### III.1. Résultats de l'étude symptomatologique du feu bactérien

Les caractéristiques des symptômes sur poiriers, pommiers et cognassier ont été effectuées à partir du mois de mars 2017, étant la période de dormance jusqu'à la période de floraison allant du mois mars au mois de mai de la même année.

➤ **Période de repos végétatif :**

Le mois de mars représente la fin de période dormance. Pendant cette période, nous avons remarqué des chancres et des noircissements sur les troncs et les rameaux (Figure 19-A et B), et sous ces chancres nous avons remarqué des nécroses (Figure 19-C). Nous avons remarqué aussi des fruits momifiés qui restent attachés sur l'arbre (Figure 19-D).



**A :** Chancres sur le tronc.



**B :** Chancres sur les rameaux.



**E :** Nécroses sous les chancres.



**D :** Fruits momifiés.

**Figure 19:** Symptôme du feu bactérien au période de repos végétatif sur le poirier (Photos personnelles).

➤ **Période de floraison (avril /mai) :**

Durant cette période nous avons observé un brunissement et noircissement des pousses et des bouquets floraux (Figure 20-A et B), qui vont se prolonger vers le pédoncule floral avec l'apparition des exsudats sur ce dernier (Figure 20-C), nous avons remarqué aussi un recourbement en forme de crosse des pousses(Figure 20-D).



**A :** Brûlure des pousses sur le poirier.



**B :** Brûlure et noircissement de bouquet floral sur le poirier.



**C :** Exsudats bactériens sur le poirier.



**D :** Courbure en crosse des pousses sur le cognassier.

**Figure 20 :** Symptôme du feu bactérien au période de floraison (Photos personnelles).

### III.2. Evaluation des symptômes du feu bactérien au repos végétatif

Les tableaux d'échelle d'évaluation des symptômes dont le nombre et la taille des chancres de feu bactérien (Tableau 3-4-5 et 6) permettent tout d'abord d'apprécier la dépendance entre les caractères : le nombre des chancres sur les troncs et les rameaux des vergers de poirier et le verger de pommier et l'état de l'arbre et la taille (largeur et longueur) des chancres sur le tronc et le rameaux.

#### III.2.1. Evaluation du nombre des chancres sur les troncs et les rameaux

Le nombre des chancres dans les quatre vergers est classé en quatre classes (Lamine *et al.*, 2008).

Les résultats indiquent que lorsqu'il n'y a pas des symptômes, aucun chancre n'a été détecté. Dans les cas d'observation des symptômes, la présence des chancres a été détectée dans L'Arbaa et les quatre vergers, mais l'état de l'arbre dépend de la gravité des chancres par l'arbre. A partir les tableaux d'évaluation de nombre des chancres, nous avons enregistré 518 chancres sur les troncs et 584 chancres sur les rameaux pour le niveau 2 qui présente un nombre très élevé des chancres. Dans ce cas l'état de l'arbre sévèrement attaqués par le feu bactérien.

Cependant, le niveau 4 constitue le nombre des chancres faible dont 31 chancres observés sur les troncs et 97 chancres sur les rameaux. Ces résultats sont observés dans les vergers de poirier (Tableau 3).

Toutefois, l'élévation de nombre des chancres de feu bactérien dans le verger de pommier, nous avons permis de noter un grand nombre des chancres pour le niveau 2 dont 146 chancres sur les rameaux et 135 chancres sur les troncs. Contrairement au niveau 4 avec 10 chancres sur les troncs et 23 chancres sur les rameaux (Tableau 4).

Ces résultats ont montré que la situation de la maladie est très grave dans les vergers de poirier. Ceci est dû au fait que les bactéries sont décelées beaucoup plus dans les vergers de poirier en présentant des grands nombre des chancres dans les dernières classes lorsque les arbres sont fortement atteints. Cela se traduit par une forte incidence de la maladie sur les vergers de poiriers.

**Tableau 3** :Evaluation de nombre de chancres de feu bactérien des **vergers de poirier**.

<b>Classe</b>	<b>Chancres/ troncs</b>	<b>Chancres/ rameaux</b>	<b>Description de l'état de l'arbre et symptômes</b>
<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de chancres.</li> <li>• Arbre sain.</li> </ul>
<b>1</b>	<b>1-3</b> (145 chancres)	<b>1-3</b> (39 chancres)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le nombre de chancres de 1-3 sur les troncs et sur les rameaux 1-3 est moins élevé.</li> <li>• Arbre peu attaqué par le chancre dans la classe 1.</li> </ul>
<b>2</b>	<b>4-6</b> (518 chancres)	<b>4-6</b> (584 chancres)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le nombre de chancres de 4-6 sur les troncs et sur les rameaux 4-6 est plus élevé.</li> <li>• Arbre attaqué par le chancre dans la classe 2.</li> </ul>
<b>3</b>	<b>7-9</b> (233 chancres)	<b>7-10</b> (428 chancres)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le nombre de chancres de 7-9 sur les troncs et sur les rameaux 7-10 est élevé.</li> <li>• Arbre plus attaqué par le chancre dans la classe 3.</li> </ul>
<b>4</b>	<b>11-12</b> (31 chancres)	<b>11-15</b> (97 chancres)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le nombre de chancres de 11-12 sur les troncs et sur les rameaux 11-15 est moindre.</li> <li>• Arbre sévèrement attaqué par le chancre dans la classe 4.</li> </ul>

**Tableau 4 :** Evaluation de nombre de chancre de feu bactérien de **verger de pommier**.

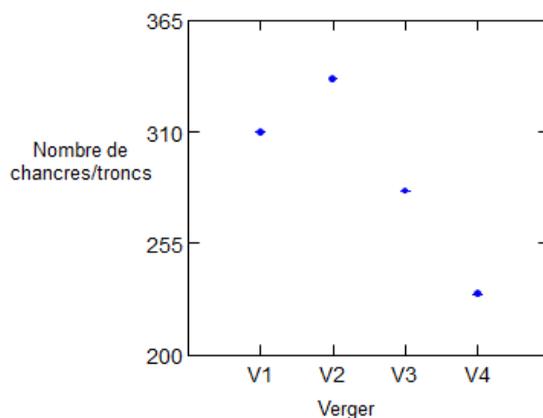
<b>Classe</b>	<b>Chancres/ troncs</b>	<b>Chancres/ rameaux</b>	<b>Description de l'état de l'arbre et symptômes</b>
<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de chancres.</li> <li>• Arbre sain.</li> </ul>
<b>1</b>	<b>1-3</b> (44 chancres)	<b>1-3</b> (40 chancres)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le nombre de chancres de 1-3 sur les troncs et sur les rameaux 1-3 est élevé</li> <li>• Arbre peu attaqué par le chancre dans la classe 1.</li> </ul>
<b>2</b>	<b>4-6</b> (146 chancres)	<b>4-6</b> (135 chancres)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le nombre de chancres de 4-6 sur les troncs et sur les rameaux 4-6 est plus élevé.</li> <li>• Arbre attaqué par le chancre dans la classe 2.</li> </ul>
<b>3</b>	<b>7-9</b> (30 chancres)	<b>7-10</b> (43 chancres)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le nombre de chancres de 7-9 sur les troncs et sur les rameaux 7-10 est moins élevé.</li> <li>• Arbre plus attaqué par le chancre dans la classe 3.</li> </ul>
<b>4</b>	<b>11-12</b> (10 chancres)	<b>11-15</b> (23 chancres)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le nombre de chancres de 11-12 sur les troncs et sur les rameaux 11-15 est moindre.</li> <li>• Arbre sévèrement attaqué par le chancre dans la classe 4.</li> </ul>

Concernant le nombre des chancres sur les troncs, nous avons noté une grande progression pour les vergers de poirier (V1, V2 et V3), dont le nombre des

chancres entre 281 et 336, par contre le verger de pommier (V4) présente 230 chancres sur les troncs (Figure 21).

**Tableau 5** : Analyse de variance nombre des chancres sur les troncs pour les quatre vergers de L'Arbaa.

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
<b>VERGER\$</b>	6194.750	3	2064.917	.	.
<b>Error</b>	0.0	0	.		



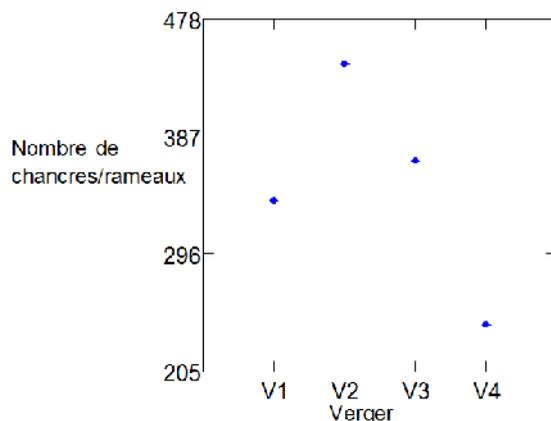
**V1** : verger de Bakir Omar ; **V2** : verger de Harzzellai Omar ; **V3** : verger de BakirMassaoud ; **V4** : verger de SbihiMouhamed.

**Figure 21** : Nombre des chancres sur les troncs pour les quatre vergers (G.L.M).

Concernant le nombre des chancres sur les rameaux, nous avons noté une grande progression pour les vergers de poirier (V1, V2 et V3), dont le nombre des chancres entre 337 et 443, par contre le verger de pommier (V4) présente 241 chancres sur les rameaux (Figure 22).

**Tableau 6** : Analyse de variance nombre des chancres sur les rameaux pour les quatre vergers de L'Arbaa.

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
<b>VERGER\$</b>	20992.750	3	6997.583	.	.
<b>Error</b>	0.000	0	.		



**V1** : verger de Bakir Omar ; **V2** : verger de Harzzelloui Omar ; **V3** : verger de BakirMassaoud ; **V4** : verger de SbihiMouhamed.

**Figure 22** : Nombre des chancres sur les rameaux pour les quatre vergers (G.L.M).

### III.2.2. Evaluation du la taille des chancres sur les troncs et les rameaux

Dans les quatre vergers de L'Arbaa, des mesures de longueur et largeur des chancres des troncs et des rameaux ont été réalisée sur les arbres atteints par le feu bactérien de chaque verger.

A partir les résultats de la taille (longueur et largeur) des chancres dans les vergers de poirier présente des petites de taille dans la première classe sur les troncs de longueur 651 chancres et la largeur de 687 chancres, mais sur les rameaux pour la première classe la longueur de 976 chancres et la largeur de 972. Pour la dernière classe la taille des chancres est grande avec la longueur de 7 chancres et la largeur de 26 chancres sur les troncs, et la taille sur les rameaux la longueur de 7 chancres et la largeur de 4 chancres (Tableau 5).

La taille des chancres dans le verger du pommier présente dans la première classe de longueur 202 chancres et 137 chancres de largeur sur les troncs, et 222 chancres de longueur avec 213 chancres de largeur. Pour la dernière classe sur les troncs la longueur est 1 chancre et largeur 1 chancre, et sur les rameaux 1 chancre de longueur avec 1 chancre de largeur (Tableau 6).

Avec la comparaison entre les vergers de poirier et le verger de pommier, nous avons trouvé une grande différence lorsque la taille des chancres est grande sur les troncs et les rameaux pour les vergers de poirier par rapport le verger de pommier.

**Tableau 7:** Evaluation de la taille des chancres (longueur et largeur) des **vergers de poirier** atteints par le feu bactérien.

Classe	Troncs		Rameaux		Description de l'état de l'arbre et symptômes
	Long	Larg	Long	Larg	
<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	-Pas de chancres.
<b>1</b>	<b>1cm-25cm (651)</b>	<b>0cm-12,5cm (687)</b>	<b>0cm-12,5cm (976)</b>	<b>0cm-3,5cm (972)</b>	-Tronc avec chancre de longueur <b>651</b> et de largeur <b>687</b> chancres. -Rameau avec chancre de longueur <b>976</b> et de largeur <b>972</b> chancres.
<b>2</b>	<b>25cm-50cm (222)</b>	<b>12,5cm -25cm (84)</b>	<b>12,5cm -25cm (92)</b>	<b>3,5cm -7cm (95)</b>	-Tronc avec chancre de longueur <b>222</b> et de largeur <b>84</b> chancres. -Rameau avec chancre de longueur <b>92</b> et de largeur <b>95</b> chancres.
<b>3</b>	<b>50cm-75cm (48)</b>	<b>25cm-37,5cm (33)</b>	<b>25cm-37,5cm (9)</b>	<b>7cm-10,5cm (5)</b>	-Tronc avec chancre de longueur <b>48</b> et de largeur <b>33</b> chancres. -Rameau avec chancre de longueur <b>9</b> et de largeur <b>5</b> chancres.
<b>4</b>	<b>75cm-100cm (7)</b>	<b>37,5cm-50cm (26)</b>	<b>37,5cm-50cm (7)</b>	<b>10,5cm-14cm (4)</b>	- Tronc avec chancre de longueur <b>7</b> et de largeur <b>26</b> chancres. -Rameau avec chancre de longueur <b>7</b> et de largeur <b>4</b> chancres.

**Tableau8** : Evaluation de la taille des chancres (longueur et largeur) des **vergers de pommier** atteints par le feu bactérien.

Classe	Troncs		Rameaux		Description de l'état de l'arbre et symptômes
	Long	Larg	Long	Larg	
<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	-Pas de chancres.
<b>1</b>	<b>1cm-25cm (44)</b>	<b>0cm-12,5cm (137)</b>	<b>0cm-12,5cm (222)</b>	<b>0cm-3,5cm (213)</b>	- Tronc avec chancre de longueur <b>44</b> et de largeur <b>137</b> chancres. - Rameau avec chancre de longueur <b>222</b> et de largeur <b>213</b> chancres.
<b>2</b>	<b>25cm-50cm (19)</b>	<b>12,5cm -25cm (2)</b>	<b>12,5cm -25cm (6)</b>	<b>3,5cm -7cm (16)</b>	-Tronc avec chancre de longueur <b>19</b> et de largeur <b>2</b> chancres. -Rameau avec chancre de longueur <b>6</b> et de largeur <b>16</b> chancres.
<b>3</b>	<b>50cm-75cm (1)</b>	<b>25cm-37,5cm (1)</b>	<b>25cm-37,5cm (2)</b>	<b>7cm-10,5cm (1)</b>	-Tronc avec chancre de longueur <b>1</b> et de largeur <b>1</b> chancres. - Rameau avec chancre de longueur <b>2</b> et de largeur <b>1</b> chancres.
<b>4</b>	<b>75cm-100cm (1)</b>	<b>37,5cm-50cm (1)</b>	<b>37,5cm-50cm (1)</b>	<b>10,5cm-14cm (1)</b>	-Tronc avec chancre de longueur <b>1</b> et de largeur <b>1</b> chancres. - Rameau avec chancre de longueur <b>1</b> et de largeur <b>1</b> chancres.

### III.3. Etude épidémiologique du feu bactérien

#### III.3.1. Diffusion de la maladie ou taux d'infection

C'est l'expression du pourcentage (%) des arbres présentant un chancre, en connaissent le nombre total des arbres malades (classe 1, 2, 3 et 4). Le taux de diffusion de feu bactérien est calculé par la formule suivante (Lamine, 2010) :

$$D(\%) = \frac{\sum ni}{N} \times 100$$

- **D (%)** : Taux d'infection
- **ni** : le nombre d'arbre recevant malades la note i (i=1 à 4).
- **N** : le nombre total des arbres de verger.

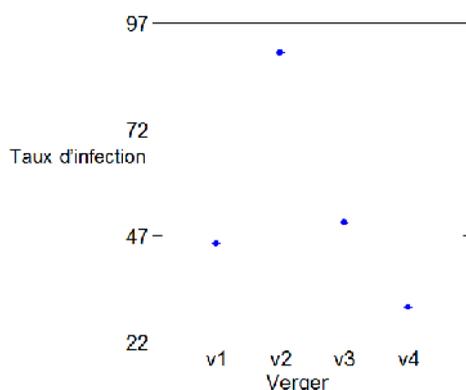
**Tableau 9** :Taux d'infection de feu bactérien dans les quatre vergers de Larbaa.

Vergers	V1	V2	V3	V4
D (%)	45	90	50	30

Le taux d'infection présente des valeur différentes pour les quatre vergers, mais un peu détecté dans le verger de pommier V4, le taux d'infection pour les vergers de poirier V1, V2 et V3 très.On peut dire que l'infection des vergers de poirier par le feu bactérien est plus importante par rapport à le verger de pommier (Figure 23).

**Tableau 10** : Analyse de variance de taux d'infection du feu bactérien dans les quatre vergers de L'Arbaa.

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
VERGER\$	1968.750	3	656.250	.	.
Error	0.0	0	.		



**V1** : verger de Bakir Omar ; **V2** : verger de Harzzellai Omar ; **V3** : verger de BakirMassaoud ; **V4** : verger de SbihiMouhamed.

**Figure 23** : Taux d'infection du feu bactérien dans les quatre vergers de Larbaa (G.L.M).

## III.4. Résultats du diagnostic au laboratoire

### III.4.1. Isolement et obtention des isolats bactériens

Après le prélèvement des échantillons symptomatiques des vergers prospectés de poirier, pommier et cognassier, nous avons pu isoler sur le milieu de culture levane, un total de 39 isolats bactériens purs obtenus à partir : des exsudats, bouquets floraux, rameaux et feuilles.

### III.4.2. Caractères morphologiques des isolats obtenus

D'après les observations macroscopiques des colonies bactériennes des 39 isolats obtenus sur les boîtes de Pétri, nous avons sélectionné 27 isolats bactériens purs ressemblant macroscopiquement aux caractères d'*Erwinia amylovora* en les comparant à la souche de référence.

Les caractères les plus apparents et fréquents sur le milieu levane chez *Erwinia amylovora* ; de couleur blanchâtre, circulaires, bombées, lisses, muqueuses, brillantes (Klos et Ishimaru, 1984; OEPP, 2013). Ces caractères des cultures bactériennes sont similaires aux isolats collectés, et de diamètre variant de 3 à 8 mm (Figure 24).



**Figure 24:** Structure des colonies pures isolées sur milieu levane  
(Photos personnelles).

### III.4.3. Résultats des tests biochimiques

Les résultats des tests d'identification (biochimiques, biologique) sont mentionnés dans le tableau 11.

**Tableau 11 : Résultats des tests biochimiques et le test biologique**

Tableau 11				Tests biochimiques							Test biologique
Région	vergers	Plante	Souches	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
			Souches de référence	-	-	+	-	FL	-	-	+
Larbaa	Bakir Omar	Poirier	SB11	-	-	+	-	FL	-	-	+
			SB12	-	-	+	-	FL	-	-	+
			SB21	-	-	+	-	FL	-	-	+
			SB22	-	-	+	-	FL	-	-	+
			SB31	-	-	+	-	FL	-	-	+
			SB32	-	-	+	-	FL	-	-	+
	Harzalloui Omar	Poirier	SH11	-	-	+	-	FL	-	-	+
			SH12	-	-	+	-	FL	-	-	+
			SH22	-	-	+	-	FL	-	-	+
			SH31	-	-	+	-	FL	-	-	+
			SH31	-	-	+	-	FL	-	-	+
	Bakir Massaoud	Poirier	B11	-	-	+	-	FL	-	-	+
			B12	-	-	+	-	FL	-	-	+

			<b>B21</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>B22</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>B31</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>B32</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
	<b>Sbihi Mouhamed</b>	<b>Pommier</b>	<b>P11</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>P12</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>P13</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>P14</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
<b>Médéa</b>	<b>Kefaifi</b>	<b>Cognassier</b>	<b>C11</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>C12</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>C13</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>C21</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>C22</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+
			<b>C23</b>	-	-	+	-	<b>FL</b>	-	-	+

**T1** : Test de Gram KOH, **T2** : Test d'activité cytochrome oxydase, **T3** : Test catalase, **T4** : Test de fluorescence sur King B, **T5** : Test oxydation/Fermentation, **T6** : Test production indole, **T7** : Test de croissance à 39°C, **T8** : Hypersensibilité sur tabac.

**FL** : fermentatif lent, + : Réaction positive, - : Réaction négative

- Toute la collection bactérienne et la souche de référence sont à Gram négatif se traduisant par la formation de filet visqueux (Figure 25).
- Le test de production de cytochrome oxydase est négatif pour toute la collection des isolats bactériens, donc les bactéries ne synthétisent pas de l'enzyme cytochrome C oxydase (Figure 26).



**Figure 25** : Résultat du test de Gram avec la technique KOH (Photo personnelle).



**Figure 26** : Résultat d'activité cytochrome oxydase (Photo personnelle).

- Pour le test de catalase, l'ensemble des souches bactériennes et la souche de référence ont montré une réaction positive se traduisant par l'effervescence et production de l'enzyme catalase (Figure 27).
- Le résultat du test de fluorescence sur King B est négatif pour toute la collection bactérienne et la souche de référence (Figure 28).

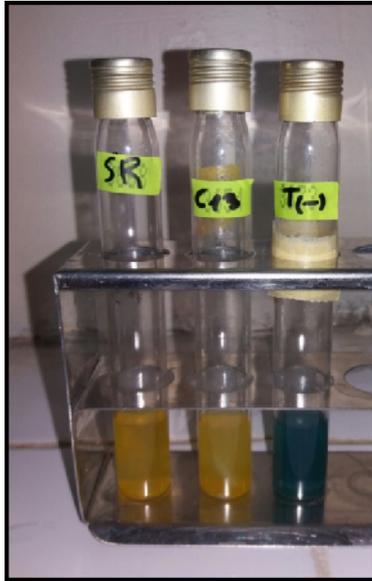


**Figure 27** : Résultat du test catalase (Photo personnelle).



**Figure 28** : Résultat de fluorescence sur King B (Photo personnelle).

- La conséquence du test d'oxydation/fermentation est positive pour l'ensemble des isolats étudiés (Figure 29-A et B). Les souches bactériennes utilisent le glucose en présence et absence de l'air.



**A** : Résultat d'oxydation.

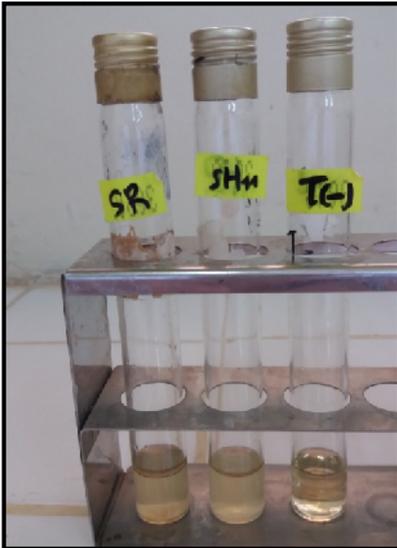


**B** : Résultat de fermentation.

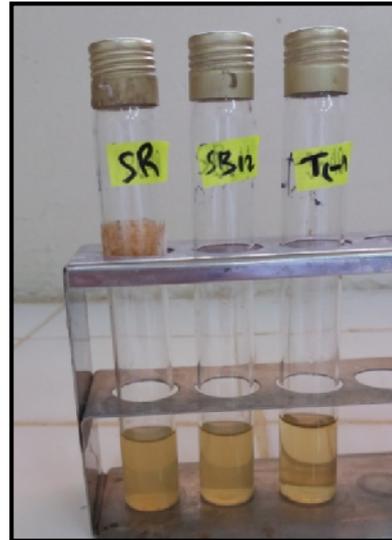
**Figure 29** : Résultat d'oxydation / fermentation (Photos personnelles).

- Le résultat du test de production d'indole est négatif pour l'ensemble des souches isolées et la souche de référence, les bactéries isolées n'ont pas synthétisé l'enzyme tryptophanase qui dégrade l'acide aminé Tryptophane (Figure 30) (**Schaad et al., 1988**).

- Nous avons obtenu des résultats négatifs pour toute la collection, se traduisant par l'absence de croissance des colonies bactériennes à 39°C (Figure 31).



**Figure 30** : Résultat du test de production d'indole (Photo personnelle).



**Figure 31** : Résultat de croissance à 39°C (Photo personnelle).

#### **III.4.4. Résultat du test biologique (Hypersensibilité sur tabac) :**

Les résultats sont positifs pour l'ensemble d'isolats après infiltration du tabac montrent des zones foliaires légèrement translucides à un aspect humide, ce qui confirme que les isolats sont pathogènes.

Après 24 heures d'inoculation un dessèchement gagne les tissus inoculés et 72 heures après l'inoculation des nécroses sont évidentes (Figure 32-A et B). Le résultat de témoin est négatif (Figure 32-C).



**A** : Résultat d'hypersensibilité de la souche de référence après 72 heures d'inoculation.



**B** : Résultat d'hypersensibilité d'une souche isolée après 72 heures d'inoculation.



**C** : Témoin négatif inoculé à l'eau distillée stérile

**Figure 32** : Résultat d'hypersensibilité sur tabac (Photos personnelles).

### Discussion

Notre travail a été réalisé durant la période début du mois de février jusqu'au mois de juin 2017, afin d'établir une étude comparative de l'épidémiologie du feu bactérien des vergers de poirier et de pommier au repos végétatif, et la caractérisation et identification la présence de l'agent causal au laboratoire dans la région de Mitidja plus précisément dans la commune de L'Arbaa (Sahraoui, Bouchetab et Haouch El Makhfi), et Médéa (Ouamri, Harbil et Ouled Brahim).

Le diagnostic visuel des vergers visités (poirier, pommier et cognassier), montrent des symptômes similaires du feu bactérien à savoir la présence des chancres où la bactérie *Erwinia amylovora* se conserve durant l'hiver, les feuilles et fruits momifiés qui restent attachés aux arbres, brûlures des bouquets floraux, formation d'exsudats et le symptôme caractéristique courbure en crosse. Ces symptômes correspondaient exactement à ceux du feu bactérien qui ont été décrits en bibliographie (**Van der Zweet et Beer, 1995**).

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

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

Selon **Todd et al., 2017**. Il est important de noter que l'estimation des chancres provoqués par le feu bactérien au repos végétatif est importante et ceci après introduction de la bactérie à la phase de croissance estival et au même temps provoquant des symptômes hivernales.

En effet, les infections hivernales causées par le feu bactérien sur les poiriers et les pommiers, ont été évaluées par des mesures du nombre et la taille (longueur et largeur) des chancres sur les vergers atteints par le feu bactérien dans la région de L'Arbaa, dans cette étude ont été évalué le nombre et la taille des chancres et nous avons trouvé dans le verger de pommier le nombre des chancres sur les troncs est 230 chancres et sur les rameaux 241 chancres.

En revanche, dans les vergers de poirier, le nombre des chancres dans les troncs varie entre 281 pour V3 et 336 pour V2 chancres, et sur les rameaux le nombre des chancres varient entre 337 pour V1 et 443 pour V2. Alors les vergers de poirier se révèlent plus touchés et sensible au feu bactérien.

L'estimation de la taille (longueur et largeur) sur les troncs et les rameaux plus bas pour les premières classes, mais la tailles des chancres très élevé pour les dernières classes et en comparant entre les vergers de poirier et le verger de pommier, nous avons enregistré la taille des chancres soit la longueur ou la largeur plus grande dans les dernières classe pour les vergers de poirier. Donc les attaques des arbres par le feu bactérien est très graves dans les vergers de poirier.

D'après **Johnson et al., 2004**. Il a été difficile d'estimer une valeur commune pour les symptômes hivernaux tels qu'il a été marqué pour le cas de l'analyse du taux de croissance bactérienne pour *Erwinia amylovora*. Dans cette étude, 60 arbres atteints ont été choisis pour réaliser des analyses statistiques des résultats de chaque verger. Il a été montré que l'allongement des chancres au repos végétatif est plus fréquent dans les vergers de poirier.

Le climat de Mitidja est favorable pour le développement de cette maladie en particulier durant la période de la période de floraison, surtout pendant le mois d'avril et mai. En effet, la température inférieur ou égale 18°C et humidité inférieur à 50% sont les conditions optimales pour la croissance de la bactérie *Erwinia amylovora* et la formation des symptômes bien visibles sur les organes des plantes (**Van der Zweet et Beer, 1995 ; Thomson, 2000**).

Il a été enregistré durant la période de floraison 2016-2017, une température moyenne de 19,7°C avec une pluviométrie de 101,5 mm. Ces conditions climatiques sont très optimales et favorables pour la multiplication et la dissémination de la maladie.

La sensibilité des plantes hôtes envers le feu bactérien, dépend de la variété et l'âge de la plante. En effet, parmi les plantes hôtes du feu bactérien le poirier, plus précisément la variété Santa Maria s'avère la plus sensible et pour l'âge, généralement les plantes âgées de plus de 20 ans, sont plus sensible à cette maladie et les autres maladies phytopathogène (**Diop, 2007 ; Granatstein et al., 2011**).

A partir du diagnostic de la maladie sur terrain durant la campagne 2016 - 2017, nous avons observé des symptômes similaires et plus fréquents du feu bactérien au niveau des vergers de poirier sur la variété la plus présente qui est la Santa Maria, sachant que cette variété est très répandue en Algérie.

Plusieurs facteurs peuvent être impliqués dans la dissémination de la maladie par des facteurs comme le vent, la pluie et les insectes surtout les abeilles lorsque les abeilles récoltent le pollen, l'utilisation des outils du travail sans désinfection comme le sécateur durant la taille. De plus la taille mal pratiquée par ce que nous avons trouvé dans les vergers de la région de L'Arbaa et le verger Kefai fi de cognassier de la région de Médéa des débris qui ne sont pas ramassés, ni brûlés, ainsi les fruits momifiés de l'année précédente restent attachés aux arbres ce qui constitue une source d'inoculum primaire responsable à l'infection.

A partir de nos résultats sur l'étude épidémiologique du feu bactérien au repos végétatif, le taux d'infection de la population bactérienne ont été détecté dans tous les quatre vergers de L'Arbaa, mais à des pourcentages différents et relativement élevés qui peuvent atteindre jusqu'à 90% dans les vergers de poirier. Le taux d'infection détecté est plus prononcé dans les vergers de poirier.

Après le diagnostic au terrain, il était nécessaire de passer au laboratoire par l'utilisation du matériel végétal symptomatique (exsudats, bouquets floraux, rameaux et feuilles), pour isoler et identifier l'organisme à l'origine des symptômes induits **(OEPP, 2013)**.

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

Ces souches caractérisées par voie macroscopiques ressemblants aux caractères culturels des souches *Erwinia amylovora* de forme circulaire lisse, bombées et biantes **(Klos et Ishimaro, 1984 ; OEPP, 2013)**.

Après l'observation macroscopique nous avons trouvé que les souches de la région de L'Arbaa ressemblent aux caractères culturels des souches *Erwinia amylovora*, mais les souches des vergers de Médéa ne ressemblent pas aux caractères culturels des souches *Erwinia amylovora*, sauf les souches de verger de Kefai fi de cognassier qui ressemble à ces caractères.

La confirmation au laboratoire s'effectue par la réalisation de plusieurs tests biochimiques (test de Gram, fluorescence sur milieu King B, catalase, activité cytochrome oxydase, oxydation /fermentation, production d'indole, croissance à 39°C), et par le test biologique (test d'hypersensibilité sur tabac) **(OEPP, 2012)**.

La conséquence des résultats à partir la série des tests biochimiques et le test biologique, sur les colonies isolées et purifiées, a révélé la présence des 27 souches ont été identifiées comme *Erwinia amylovora-like* ayant montré des résultats similaire à ceux de la souche de référence en comparaison avec le témoin négatif.

La présence du feu bactérien en Algérie a été signalée en 2011. Mais la maladie persiste jusqu'à ce jour en 2017. Nous n'avons pas constaté l'adoption d'une stratégie de la lutte coordonnés entre les arboriculteurs et les instances concernées. Nous avons également remarqué qu'il y a un manque de professionnalisme chez les arboriculteurs et l'absence des annonces soit sur les journaux ou par des média (TV et les radios). Ce dernier permet un manque d'empressement des agriculteurs à suivre les conseils qui leur sont prodigués et d'appliqué les méthodes de protection de nos vergers.

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

Pour contrôler une maladie de quarantaine comme le feu bactérien, il faut appliquer plusieurs méthodes de lutte avec une cascade des itinéraires techniques pour limiter l'épidémie de ce fléau. La première technique, il utile de contrôle chaque année toutes les espèces ornementales, les vergers et les pépinières de variétés fruitiers très sensibles au feu bactérien **(Paulin, 1982)**.

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

Il est obligatoire d'appliquer des lois strictes interdisant le transport du matériel végétal d'un endroit où la maladie existe déjà vers un autre indemne et d'empêcher

le déplacement des ruches pendant la période de la floraison pour protéger les vergers sains (**Fransesco, 2002**).

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

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

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

## Conclusion

Le feu bactérien est une crise commerciale, il cause un grand problème phytosanitaire surtout pour les arbres fruitiers à pépins et plus particulièrement sur les plants de poirier, pommier et cognassier dans plusieurs régions du monde (**OEPP, 2013**).

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

Le développement des symptômes de cette maladie est lié aux facteurs climatiques particulièrement l'humidité, la sensibilité variétale et la présence des vecteurs potentiels surtout les abeilles pour la propagation de la bactériose (**OEPP, 2013**). En effet, dans les vergers de poiriers sont les plus attaqués et on a enregistré une perte de rendement plus précisément des variétés cultivées à grande échelles qui sont très sensibles comme Santa Maria.

Au terme de notre travail d'identification de la maladie du feu bactérien, nous avons prospecté des vergers différents de : poirier, pommier et cognassier dans la région de Mitidja dans deux régions : L'Arbaa et Médéa.

A partir du diagnostic sur terrain, on a observé les symptômes spécifiques du feu bactérien : des chancres et noircissement des bouquets floraux et présentation des exsudats bactériens.

D'après les mesures des chancres au période de repos végétative, nous avons trouvé que le nombre et la taille des chancres dans les vergers de poirier et plus grand que dans le verger de pommier, et le taux d'infection d'*Erwinia amylovora* dans les vergers de poirier et très élevé que dans le verger de pommier il atteint 90% au L'Arbaa, ce qui confirme que le poirier est très sensible au feu bactérien que le pommier.

D'après l'isolement de l'agent pathogène au laboratoire à partir des échantillons symptomatiques sur le milieu de culture levane, nous avons collectées 39 isolats bactériens purs.

Ces isolats ont fait l'objet d'une série de tests biochimiques et le test d'hypersensibilité sur tabac. Ce diagnostic a révélé 27 souches d'*Erwinia amylovora-like* présentes dans les vergers de poirier des zones (sahraoui, Bouchetab, Haouch El Makhfi, Ouled Brahim). Ces souches possèdent le

même profil décrit dans le protocole suivi durant notre expérimentation et celui de la souche de référence.

Le feu bactérien, est une maladie causée par la bactérie *Erwinia amylovora* qui fait partie des organismes nuisibles de quarantaine réglementés (liste A2 de l'OEPP), contre laquelle la lutte est obligatoire (OEPP, 1983). C'est pour cela qu'il faut choisir une lutte adéquate à l'agent causal de cette maladie.

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

Cette étude a confirmé la présence d'*Erwinia amylovora* dans la région de Mitidja exactement dans L'Arbaa et Médéa en 2017, ces résultats donnent des informations très importantes sur les vergers étudiés qui sont atteints dans des endroits différents pour lutter et éviter la propagation de la maladie à l'échelle nationale.

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

- **Agrios, 2004.** Plant pathology, Elsevier Academic Press. ISBN 0-12-044565-4. Ed 05. p 641-647.
- **Agriréseau**, laboratoire de diagnostic en phytoprotection. Vézina L., Lacroix M. Fiche: un test pour la détection de la résistance de *Erwinia amylovora* à la streptomycine, MAPAQ du Québec. <http://www.agrireseau.qc.ca/lab/documents/Streptomycine.pdf> (consulté le 15/04/2014).
- **AGyours, 2014.** Insectes et maladies dans la pomme. <http://www.agyours.com/?portfolio=insecteset-maladies-dans-la-pomme> (consulté le 14/05/2014).
- **Anonyme, 2015.** Agence Nationale des Ressources Hydrauliques (ANRH).
- **Bagnouls F., Gaussen H., 1953.** Saison et indice xérothermique .Doc .Cart .Prod.Vég.Serv.Gén.II.I.art.VIII.Toulouse:47P.
- **Balduque R., M., Cambra A., Lozano C., 1996.** El fuego bacteriano de las Rosáceas (*Erwinia amylovora*). Informaciones Técnicas, 1/1996. Dirección General de Tecnología Agraria, Departamento de Agricultura, Gobierno de Aragón.
- **Belleman P., Geider K., 1992.** Localization of trasposon insertions in pathogenicity mutants of *Erwinia amylovora* and their biochemical characterization. *Journal of General Microbiologt* 138: 931-940.
- **Bennet R.A., Billing E., 1980.** Evidence of two virulence determinats in the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*. *Journal of general Microbiology* 116: 351-56.
- **Blachinsky D., Shtienberg D., Zamski E., Weinthal D., Manulis S., 2003.** Effects of pear tree physiology on fire blight progression in perennial branches and on expression of pathogenicity genes in *Erwinia amylovora*. *Eur J Plant Pathol* 116: 315–324.
- **Blair D.F., 1995.** How bacteria sense and swim. *Annu Rev Microbiol* 49:489-522.
- **Bonn W.G., Van der zwet T., 2000.** Distribution and economic importance of fire blight: 37-54. En: J.L. Vanneste (ed.). *Fire blight. The disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. CABI Publishing, Wallingford, UK. ISBN: 0-85199-294-3.

- **Borejsza E.E., Malnoy M., Beer S.V., Aldwinckle H.S., 2006.** Increased resistance to fire blight in apple plants by silencing DspE-interacting proteins. *Phytopathology* 96:176.
- **Bugert P., Geider K., 1995.** Molecular analysis of the *ams* operon required for exopolysaccharide synthesis of *Erwinia amylovora*. *Mol Microbiol* 15:917-933.
- **Burrill T.J., 1882.** New species of *Micrococcus*. *Am. Naturalist*. 17: 319. Byrd.
- **Büttner D., He S.Y., 2009.** Type III protein secretion in plant pathogenic bacteria. *Plant Physiol.* 2009;150:1656–1664. doi: 10.1104/pp.109.139089.
- **Cambra, 2002.** Diagnostico y deteccion de bacterias fitopatogenas, *Patologia Vegetal*. Sociedad Espanola de fitopatologia.
- **Chevery C., Robert M. 1998.** La dégradation des sols irrigués et de la ressource en eau : une menace pour l'avenir de l'agriculture et pour l'environnement des pays au sud de la Méditerranée. *Étud. Gestion Sols*, 5(4), 217-226.
- **Crepel C., Geenen J., Maes M., 1996.** The latent survival of *Erwinia amylovora* in hibernating shoots. *Acta Horticulturae* 411 :21-25.
- **Davis U.C., 2012.** Anatomy of Common Tree Fruit & Nut Crops. [http://fruitandnuteducation.ucdavis.edu/generaltopics/AnatomyPollination/Anatomy\\_Tree\\_Fruit\\_Nut\\_Crops/](http://fruitandnuteducation.ucdavis.edu/generaltopics/AnatomyPollination/Anatomy_Tree_Fruit_Nut_Crops/) (consulté le 12/05/2014).
- **Delaubay-Cesbron S., 2009.** Interaction entre des mutants *hrp* d'*erwinia amylovora*, agent du feu bactérien, le parent pathogène et la plante hôte : recherche de mécanisme modulant la compatibilité, université d'Angers. thèse doct N° d'ordre 931 :3-15.
- **Dellagi A., Brisset M.N., Paulin J.P., Expert D., 1998.** Dual role of desferrioxamine in *Erwinia amylovora* pathogenicity. *Mol Plant Microbe Interact* 8:734-742.
- **Dichey R.S., 1988.** Description émise du peigne *Enterobacter cancerogenus*. Nov. (Anciennement *Erwinia cancerogena*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 38 (4), 371-374.
- **Diop C.S, 2007.** Identification de l'agent causal du feu bactérien des rosacées à pépins au Maroc *Erwinia amylovora*, *Institut Agronomique et Vétérinaire HassanII*. Mémoire de Troisième cycle: 6-9.

- **Dow J.M., Osbourn A.E., Wilson T.J.G., Daniels M.J., 1995.** A locus determining pathogenicity of *Xanthomonas campestris* is involved in lipopolysaccharide biosynthesis. *Mol Plant-Microbe Interact* 8:768-777.
- **Dye D.W., 1983.** *Erwinia* : The «*amylovora* » and «*herbicola* » groups. In P.C. Fahy and GJ Persley ed. *Plant bacterial diseases. A diagnosis guide.* Academic Press, Syd.
- **Expert D., Dellagi A., Kachadourian R., 2000.** Iron and fire blight: role in pathogenicity of desferrioxamineE, the main siderophore of *Erwinia amylovora*. In: Vanneste J (ed) *Fire blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora.* CABI Publishing, Oxon, pp179-195.
- **Fatmi M., Bougsiba M., Saoud H., 2008.** First report of fire blight caused by *Erwinia amylovora* on pear, apple and quince in Morocco. *Plant Disease*, 92, 314.
- **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.
- **Francesco S., 2002.** Changes in plant metabolism induced by dioxygenase inhibitors and their effect on the epiphytic microbial community and fire blight (*erwinia amylovora*) control, Università degli Studi di Bologna thèse de doctorat : 11-28.
- **Gautier M., 1988.** La culture fruitière: les productions fruitières, 01947.Vol.2:156-157.
- **Gaudriault S., Malandrin L., Paulin J.P., Barny M.A., 1997.** DspA, an essential pathogenicity factor of *Erwinia amylovora* showing homology with AvrE of *Pseudomonas syringae*, is secreted via the Hrp secretion pathway in a DspB-dependent way. *Mol Microbiol* 26:1057-1069.
- **Geider K., Geier G., Bernhard F., Belleman P., Bugert P., Schmidt A., Chang J. R., Metzger M., 1992.** Exopolysaccharides in pathogenicity of *Erwinia amylovora* in *Plant Pathogenic Bacteria*, Versailles (France), June 9-12, 1992 Ed. INRA, Paris1994 (Les Colloques, n° 66): 485-489.
- **Giraud M., Gendrier J.P, Orts R and Baudry O., 1996.** Protection intégrée Pommier-Poirier: CITFL, 23-27 p.

- **Google – Earth, 2016.** Images satellite des vergers.
- **Goodman R.N., Butrov D., Gidley M., 1987.** Structure and proposed mode of action for amylovorin. *Acta Horticulture*, 217: 157-160.
- **Granatstein D., Smith T., Peck G., 2011.** The Role of Tree Genetics in Controlling Fire Blight in Apples and Pears
- **Gusberti M., Urs K., Matthias S., Meier, Monika M., Hunger-Glaser, 2015.** Fire Blight Control: The Struggle Goes On. A Comparison of Different Fire Blight Control Methods in Switzerland with Respect to Biosafety, Efficacy and Durability. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 12:11422-11447.
- **Hauben L., Moore E.R.B., Vauterin L., Steenackers M., Mergaert J., Verdonck L., Balançoires J., 1998.** Position phylogénétique des phytopathogènes au sein des entérobactéries. *Systematic and Applied Microbiology* 21: 384-397.
- **Houari L., 2011.** Tipasa Arboriculteurs en colère. journal Le Soir d'Alger. Edition d'Alger - ISSN IIII – 0074 :22.
- **Hugh R. Leifson E., 1953.** The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *Journal of bacteriology* 66, 24-26.
- **INRA, 2012.** Bilan de 10 ans d'essai de systèmes de culture en protection intégrée.
- **Jakovljevic V., Du Z., Jock S., Geider K., 2006.** Epiphytic *Erwinias* to control fire blight. *Acta Hort* 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.
- **Jurgens A.G., Babadoost M., 2013.** Sensitivity of *Erwinia amylovora* in Illinois apple orchards to streptomycin, oxytetracycline, kasugamycin, and copper. *Plant Dis.* 97:1484-1490.
- **Kachadourian R., Dellagi A., Laurent J., Bricard L., Kunesch G., Expert D., 1996.** Desferrioxamine-dependent iron transport in *Erwinia amylovora* CFBP1430: cloning of the gene encoding the ferrioxamine receptor FoxR. *Biometals* 9:143-150.

- **Keith S., Douglas G., Pfeiffer J., Christopher B., Mizuho N., 2012.** Disease and insects. P8.
- **Kent E., Erin F., Taun B., Mike P., Maggie S., Alicia M., 2008.** Fire Blight, Adapted from “Fire Blight of Pears and Apples”, Utah State University Extension and Utah Plant Pest Diagnostic Laboratory, No. 27, 1pp.
- **Khanfouci M.S., 2005.** Contribution a l'etude de la fructification et de la regeneration du cedre de l'atlas (*cedrus atlanticam*) dans le massif du belezma. Mémoire Online.
- **King E.O., Ward M.K., Raney D.E., 1954.** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*: 44, 301-307.
- **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.
- **Klement Z., Rudolph K., Sands D.C., 1990.** *Methods in phyto bacteriology. Akademiai Kiad 568p. Budapest (HG).*
- **Klos E.J., Ishamru C., 1984.** New medium for detecting *Erwinia amylovora* and its use in epidemiological studies. *Phytopathology* vol. 74: 1342-1345.
- **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.* 2011;77:7031–7039.
- **Kokoskova B., Pouvova D., Pavela R., 2011.** Effectiveness of plant essential oils against *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and associated saprophytic on/in host plants, *Journal of Plant Pathology*, 93 (1), 133-139.
- **Lamine S., Fadil D., Benchabane M., 2008.** Diagnostic du dépérissement des agrumes dans la Mitidja (Algérie). Séminaire national sur les interactions faune-flore et impact des changement globaux, 02 et 03 décembre 2008, Blida, Algérie.

- **Longstroth M., 2000.** Fire blight epidemic strikes SW Michigan. Fruit Grow News July, pp 17–18.
- **Mabagala R.B., Saettler A.W., 1992.** An improved semi selective medium of recovery of *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli*. Plant Dis. 76:443-446.
- **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.
- **Momol M.T., Norelli J.L., Piccioni D.E., Momol E.A., Gustafson H.L, Cummins J.N., Aldwinckle H.S., 1998.** Internal movement of *Erwinia amylovora* through symptomless apple scion tissues into the rootstock. Plant Disease 82 (6):646-650.
- **Momol M.T., Aldwinckle H. S., 2000.** Genetic diversity and host range of *Erwinia amylovora* (pp. 55-72). Wallingford, UK: CABI Publishing.
- **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.
- **Mutin G., 1977.** La Mitidja décolonisation est espèces géographique. Ed. O.P.U., Alger, 607p.
- **Namane L., 2009.** Suivi des irrigations dans une exploitation agricole de la Mitidja Ouest commune de Mouzaïa ENSA- Ingénieure d'état en Hydraulique, pp 03.
- **Nouni S., 2013.** Isolement et identification d'*Erwinia amylovora* agent du feu bactérien dans des vergers de poirier et de pommier de la Wilaya de Blida. Thèse d'ingénieur.
- **OEPP/EPPO, 1983.** Fiches informatives sur les organismes de quarantaine No. 52, *Erwinia amylovora*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 13.
- **OEPP/EPPO, 2011.** Service d'information No. 6, Premier signalement d'*Erwinia amylovora* en Algérie. Paris, pp : 2.
- **OEPP/EPPO Global Data base, 2012.** *Erwinia amylovora* (ERWIAM) distribution for *Erwinia amylovora*.
- **OEPP/EPPO, 2013.** 43 (1), 21–45, PM 7/20 (2) *Erwinia amylovora*.

- **Omafra S., 2011.** Fire blight, Integrated Pest Management for Apples. Ministry of Agriculture, Canada, 310.
- **Palacio-Bielsa A., Cambra M.A., López M.M., Ordax M., Peñalver J., Gorris MT., Cambra M., Marco-Noales E., Llop P., Biosca E.G., Roselló M., Montesinos E., Llorente I., Badosa E., Cabrefiga J., Bonaterra A., Ruz L., Moragrega C., Francés J., Díaz C., 2009.** El fuego bacteriano de las rosáceas (*Erwinia amylovora*). ed. Ministerio de medio ambiente y medio rural y marino, p97.
- **Paulin J.P., 1982.** Fire blight. Spread in Europe. XXIst. Int. Host. Congress Hamburg : 138-149.
- **Phillion V., 2012.** Intégration de la détection des populations bactériennes d'*Erwinia amylovora* en verger et d'un modèle de prévision du feu bactérien, Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA).
- **Phillion V., 2014.** Fiches 104 - 106, Le feu bactérien. In : Guide de référence en production fruitière intégrée pour les producteurs de pommes du Québec. Edition CFP, Pageau C. F. ; IRDA, Poulin D., Québec, pp ; 403-422.
- **Pierstorff A.L., 1931.** Studies on the Fire Blight Organism, *Bacillus amylovorus*. Cornell University Agricultural Experiment Station Memoir 136, Ithaca, New York.
- **Piqué N., Miñana-Galbis D., Merino S., Tomás J.M., 2015.** Virulence Factors of *Erwinia amylovora*: A Review. Int J Mol Sci. 2015 Jun 5; 16(6):12836-54.
- **Powney R., Smits T.H.M., Sawbridge T., Frey B., Blom J., Frey J.E., Plummer K.M., Beer S.V., Lick J., Duffy B., Rodoni B., 2011.** Genome sequence of an *Erwinia amylovora* strain with pathogenicity restricted to *Rubus* plants. J Bacteriol 193:785–786.
- **Psallidas P.G., Tsiantos J., 2000.** Epidemiology of Fire Blight. In: Vanneste JL, editor. Fire Blight: The Disease and Its Causative Agent, *Erwinia amylovora*. London: CAB International. pp. 199–234.
- **Raetz C.R.H., Whitfield C., 2002.** Lipopolysaccharide endotoxins. Annu Rev Biochem 71:635-700.
- **Raymundo K., Ries S.M., 1980.** Chemotaxis of *Erwinia amylovora*. Phytopathology 70:1066-1069.

- **Raymundo K., Ries S.M., 1981.** Motility of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 71:45-49.
- **Richter K., Momol M.T., Saygili H., 1999.** Detection of *Erwinia amylovora* cells in apple shoots. *Acta Horticulturae* 489 : 511-514.
- **Saoud H., Mniai D., 2010.** Gestion de la crise feu bacterien au maroc. Direction Régionale de l'ONSSA, Région Meknès.
- **Sebahia M., Bocsanczy A.M., Biehl B.S., Quail M.A., Perna N.T., Glasner J.D., DeClerck G.A., Cartinhour S., Schneider D.J., Bentley S.D., Parkhill J., Beer S.V., 2010.** Complete genome sequence of the plant pathogen *Erwinia amylovora* strain ATCC 49946. *Journal of bacteriology*, Vol. 192 (7).
- **Schaad, N.W., 1994.** Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Am. Phytopath. Society Press, St. Paul, Minnesota, pp. 157.
- **Schaad N.W., Hildebrand D.C., Schoth M.N., Sands D.C., 1988.** In plant pathologic bacteria, laboratory guide for identification. ed N°02. N. W. APS Minnesota. USA. 37- 53.
- **Schaad N. W., Jones J. B., Chun W., 2001.** *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. APS Press. Third edition 373p. St Paul, Minnesota 15(12), 1468-80.
- **Schroth M.N., Thomson S.V., Hildebrand D.C. and Moller W.J., 1974.** Epidemiology and control of fire blight. *Annual Review of Phytopathology* 12: 389-412.
- **Solymár B.D., Walker G., Carter N., Bonn G., 2002.** Brûlure bactérienne de la pomme et de la poire en Ontario. Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales de l'Ontario, Agdex. 634/210.
- **Steiner P.W., 1989.** Predicting canker, shoot and trouma blight phases of apple fire blight epidemics using MARYBLYT model. *Acta Horticulturae* 273: 149-394.
- **Steiner P.W., 2000.** Integrated orchard and nursery management for the control of fire blight. pp. 339-358. In: Vanneste, J.L. (ed.). *Fire Blight. The Disease and its Causative Agent, Erwinia amylovora*. CABI Publishing. Wallingford. UK.

- **Suslow T.V., Schroth M.N., Isaka M., 1982.** Application of a rapid method for Gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. *Phytopathology*, 72: 9117-918.
- **Thomson S.V., 1986.** The role of the stigma in fire blight infections. *Phytopathology* 76:476-482.
- **Thomson S.V., 2000.** In : Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CABI.
- **Todd N., Virginia O., Stockwell P., Lawrence P., Kenneth B., 2017.** Evaluation of likelihood of Co-Occurrence of *Erwinia amylovora* with mature fruit of winter 97:1263-1273.
- **Van Der Zwet T., Keil H., 1979.** Fire blight: A bacterial disease of rosaceous plants. U.S. Dept. Agric., Agriculture Handbook 510. P200.
- **Van Der Zwet T., Beer S.V., 1995.** Fire blight – Its Natural. Prevention, and Control. A Practical Guide to Integrated Disease Management, US Departement of Agriculture. Agriculture Information Bulletin No. Washington27, pp5.
- **Van Der Zwet T., 2002.** « Present world-wide distribution of fire blight». *Acta Horticulturae* 590: 33-34.
- **Van Der Zwet T., Orolaza-Halbrendt N., Zeller W., 2012.** Fire blight: history, biology, and management. APS Press, St Paul, MN 420 pp.
- **Vanneste J.L., 2000.** Migration of *Erwinia amylovora* in host plant tissues. Pp 73-83 in: Vanneste J.L. (ed) Fire blight the disease and its causative agent *Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford 370pp. ISBN 0 85 199 2943.
- **Vöegele R.T., Kunz S., Olbrecht L., Hinze M., Weißhaupt S., Schmid A., Mendgen K., 2010.** Monitoring *E. amylovora* using real time PCR. In 14th International Conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing. FÖKO eV Weinsberg, FÖKO eV (pp. 110-117).
- **Wei Z.M., Laby R.J., Zumoff C.H., Bauer D.W., He S.Y., Collmer A., Beer S.V., 1992.** Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. *Science* 257:85-88.

- **Wettstein B., Bûnter M., Popow G., 2002.** Feu bactérien dans les jardins familiaux, Office fédéral de l'agriculture (OFAG). p1
- **Willis D.K., Rich J.J., Hrabak E.M., 1991.** hrp genes of phytopathogenic bacteria. *Mol Plant-Microbe Interact* 4:132-138.
- **Winslow C.E.A., Broadhurst J., Buchanan R.E., Krumwiede C.J.R., Rogers L.A., Smith G.H., 1920.** The families and genera of the bacteria; *Erwineae*. *Journal of Bacteriology*, 5: 191-229.
- **Wilson M., Lindow S.E., 1993.** Interactions between the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* A506 and *Erwinia amylovora* in pear blossoms. *Phytopathology* 83:117-123.
- **Wodzinski R.S., Paulin J.P., 1994.** Frequency and diversity of antibiotic production by putative *Erwinia herbicola* strains. *J Appl Microbiol* 76:603-607.

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

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

pH =7.

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

**Annexe 2 :** Composition de milieu Levane pour formuler 1L d'eau distillée  
(Schaad et al., 1988).

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

PH = 7,2

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

**Annexe 3 :** Composition de milieu Hugh et Leifson pour formuler 1 L d'eau distillée  
(Hugh et Leifson, 1953).

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

PH = 7

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

**Annexe 4** : Composition de milieu Indole pour formuler 1L d'eau distillée  
(Schaad *et al.*, 1988).

Peptone.....	20g
NaCl.....	5g

pH =7,2

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

**Annexe 5** : Composition de milieu liquide 523 pour formuler 1 L d'eau distillée  
(Schaad *et al.*, 1994).

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

pH =7,2

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

## Table des matières

<b>Introduction</b> .....	<b>2</b>
<b>Chapitre I : Analyse bibliographique.</b>	
I.1. Agent causal.....	5
I.1.1. Caractères morphologiques .....	5
I.1.2. Systématique.....	5
I.1.3. Composants de surface cellulaires et extracellulaires .....	6
I.1.3.1. La capsule.....	6
I.1.3.2. Le lipopolysaccharide (LPS) .....	6
I.1.3.3. Les flagelles .....	7
I.1.4. Plantes hôtes .....	7
I.2. Généralité sur la maladie du feu bactérien.....	8
I.2.1. Historique et Répartition géographique du feu bactérien .....	8
I.2.2. Symptomatologie.....	9
I.2.2.1. Brûlure des fleurs .....	9
I.2.2.2.Brûlure des pousses et rameaux .....	9
I.2.3.3.Symptômes sur les fruits .....	10
I.2.2.4. Les chancres.....	10
I.2.3. Epidémiologie .....	12
I.2.3.1.Sources de l'inoculum primaire .....	12
I.2.3.2.Dissémination et inoculum secondaire .....	12
I.2.3.3.Cycle de la maladie .....	13
I.2.3.4. Les facteurs climatiques influant la pathogénicité.....	15
I.2.4. Les facteurs du pouvoir pathogène .....	15
I.2.4.1. L'exopolysaccharide (L'EPS) .....	15
I.2.4.2. Le système de sécrétion de type III (SST3) .....	15
I.2.4.3. Système d'acquisition du fer .....	16
I.2.4.4. Formation de biofilm .....	17
I.2.5. Impact économique .....	17
I.2.6. Stratégies de lutte contre le feu bactérien .....	17
I.2.6.1.Lutte culturale .....	18

I.2.6.2. Lutte chimique .....	18
I.2.6.3. Lutte génétique .....	19
I.2.6.4. Lutte biologique .....	19
I.2.6.5. Lutte intégrée .....	20

## **Chapitre II : Matériel et Méthodes**

II.1. Présentation de la Mitidja .....	22
II.2. Présentation des régions d'étude .....	22
II.3. Etude climatique de la Mitidja .....	27
II.3.1. Diagramme ombrothermique de Gaussen de la Mitidja sur une période de 10 ans (2004-2014) .....	28
II.3.2. Climagramme d'Emberger .....	29
II.4. Mesure des chancres sur terrain .....	30
II.5. Echantillonnage .....	30
II.6. Isolement .....	31
II.6.1. Isolement à partir des exsudats .....	31
II.6.2. Isolement à partir du fragment malade .....	32
II.7. Purification .....	32
II.8. Caractéristiques et identification de l'agent pathogène .....	32
II.8.1. Les tests biochimiques .....	32
II.8.1.1. Test de Gram .....	32
II.8.1.2. Test de fluorescence sur milieu King B .....	33
II.8.1.3. Test catalase .....	33
II.8.1.4. Test d'activité cytochrome oxydase .....	33
II.8.1.5. Métabolisme du glucose (oxydation /fermentation) .....	33
II.8.1.6. Test de production d'indole .....	34
II.8.1.7. Croissance à 39°C .....	34
II.7.2. Test biologique .....	34
II.7.2.1. Test d'hypersensibilité sur tabac .....	34
II.9. Evaluation des symptômes du feu bactérien au repos végétatif.....	35
II.10. Analyses statistiques des résultats.....	35

## **Chapitre III : Résultats et Discussion.**

III.1. Résultats de l'étude symptomatologique du feu bactérien .....	37
--	----

III.2. Evaluation des symptômes du feu bactérien au repos végétative .....	39
III.2.1. Evaluation du nombre des chancres sur les troncs et les rameaux .....	39
III.2.2. Evaluation de la taille des chancres sur les troncs et les rameaux .....	43
III.3. Etude épidémiologique du feu bactérien .....	45
III.3.1. Diffusion de la maladie ou taux d'infection .....	45
III.4. Résultats du diagnostic au laboratoire .....	47
III.4.1. Isolement et obtention des isolats bactériens .....	47
III.4.2. Caractères morphologiques des isolats obtenus .....	47
III.4.3. Résultats des tests biochimiques .....	47
III.4.4. Résultat du test biologique (Hypersensibilité sur tabac) .....	52
Discussion .....	54
<b>Conclusion</b> .....	<b>60</b>
<b>Références bibliographiques.</b>	
<b>Annexes.</b>	