

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955-سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955 SKIKDA



FACULTE DES SCIENCES

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vu de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Science Biologique.

Spécialité : Microbiologie Appliqué

Intitulé

**Isolement, identification et caractérisation d'agents pathogènes
bactériens responsables d'altérations chez une espèce fruitière
méditerranéenne**

Présenté par :

Aouissi Wafa

Chefri Chaima

Boughagha khaoula

Nadji Amel

Membre de jury :

Dr Benjazia Radia

MCA

Présidente

Univ. Du 20 Aout 1955 – Skikda

Dr Asma Labid

MCA

Promotrice

Univ. Du 20 Aout 1955 – Skikda

Dr Krouma Hamida

MCB

Examinatrice

Univ. Du 20 Aout 1955 – Skikda

Année Universitaire : 2024_2025

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

الملخص

Introduction :.....	1
1. présentation de l'olivier :	3
1.1. Histoire et origine:.....	3
1.2. Description d'olivier :	4
1.3. La production d'Olivier en Algérie:.....	5
1.4. La classification botanique de l'olivier:.....	7
1.5. L'oléiculture dans le monde :.....	7
1.6. Variétés des olives dans le monde:	8
1.7. L'oléiculture en Algérie :	8
1.8. L'importance nutritionnelle de l'olivier:.....	10
2. La tuberculose de l'olivier :	11
2.1 Définition de la tuberculose d'olivier :	11
2.2 Les symptômes de la tuberculose d'olivier :.....	11
2.3 L'agent causal de la tuberculose d'olivier :	12
2.4. Répartition géographique de la maladie :.....	12
2.5. Les principaux caractères du Pseudomonas :.....	12
2.5.1 Classification scientifique de la bactérie Pseudomonas	12
2.5.2 Les caractères morphologiques :	13
2.5.3 Caractères génétiques :	13
2.5.4 Les caractères biochimiques :.....	14
2.6. Cycle de la maladie:	14
2.7 L'effet de la tumeur sur le rendement de la maladie :.....	15
2.8 Les méthodes de lutte :.....	16
2.9 Le pouvoir pathogène :.....	18
2.10 L'interaction de <i>pseudomonas savantanoi</i> :.....	18
3. Matériels et méthode :.....	21
3.1 Objectif du Travail	21

3.2 Lieu et Période du Stage :	21
3.3 L'échantillonnage:	21
3.4 Isolation:	22
3.5 L'observation macroscopique:	25
3.6 L'observation microscopique:	25
3.7 Test de la catalase:	25
3.8 Test de la coagulase:	26
3.9 Test d'oxydase :	27
3.10 Test de l'activité pectinolytique:	27
3.11 L'hypersensibilité sur les feuilles de tabac:	28
3.12 Galerie API 20NE:	29
3.14 Test MEVAG	30
3.15 Test de Fluorescence et Identification des Souches de Pseudomonas :	31
4. résultats et discussion :	33
4.1 Isolation des souches bactériennes :	33
4.2 Purification des Souches Bactériennes:	34
4.4 Observation macroscopique :	35
4.5 Observation microscopique :	35
4.5 Test de levane:	37
4.6 Résultats du test MEVAG:	37
4.7 Test catalase:	38
4.8 Test coagulase:	39
4.9 Test oxydase :	40
4.10 Activité pectinase	41
4.11 Test d'hypersensibilité des feuilles de tabac :	42
4.12 Test de fluorescence:	44
4.13 Résumé des résultats des tests biochimiques (LOPAT) Fluorescence et Pathogénicité :	46
5. Discussion :	49
Conclusion :	51
Références bibliographiques :	52
ANNEXES	56

Remerciement

Nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir accordé la santé et la détermination nécessaires pour entamer et achever ce travail dans les meilleures conditions.

Avant toute chose, nous exprimons notre profonde gratitude à Dr. Labid Asma, dont l'encadrement et l'accompagnement ont grandement enrichi ce travail. Nous la remercions sincèrement pour la qualité exceptionnelle de son encadrement, sa patience, sa rigueur et son dévouement tout au long de la préparation de ce mémoire.

Nous adressons également nos remerciements les plus sincères aux ingénieurs du laboratoire de l'université, qui nous ont apporté leur aide précieuse lors de nos travaux en laboratoire, avec beaucoup de bienveillance et de professionnalisme. Nous leur témoignons tout notre respect.

Nous tenons également à remercier chaleureusement les membres du jury pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail, un honneur que nous apprécions grandement.

Enfin, nous exprimons notre profonde reconnaissance à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation académique et qui ont joué un rôle essentiel dans notre parcours universitaire.

Dédicaces

Je dédie cette remise de diplôme, à ma maman pilier de ma vie et Source d'inspiration, de force et de courage. Tes conseils précieux et ta présence ont éclairé mon chemin. Cette réussite t'est dédiée, en témoignage de ma profonde gratitude et de mon amour éternel.

à mon père bien-aimé, que Dieu ait son âme. Ton absence se fait sentir en ce jour de joie, mais je sais que tu serais fier.

À mon cher mari, ton soutien inconditionnel et ta présence constante ont été ma plus grande force tout au long de ce parcours. Merci d'avoir cherché avec moi les échantillons nécessaires, d'avoir été mon pilier et mon plus grand soutien. Ce succès est aussi le tien. Avec tout mon amour et ma gratitude.

À mes filles chéries Nourssine , Jana et Nourhene, lumière de mes yeux et source infinie de bonheur.

À mes chères sœurs, Votre amour, votre soutien indéfectible et votre présence constante ont été une source de force inestimable tout au long de ce parcours. Merci d'avoir été mon roc et mon inspiration.

À mes frères , liens précieux de mon existence, ainsi qu'à leurs enfants et conjoints .

À notre groupe : NadjiAmel ,ChefriChaima et boughaghakhawla

Que cette réussite soit aussi la vôtre".

Wafa

Dédicaces

Par la grâce de Dieu, par qui les bonnes choses s'accomplissent, je dédie ce travail à:

À celle qui a été, après Dieu, la première source de mon courage et de ma persévérance, à celle qui a veillé sur moi et s'est sacrifiée pour que je sois ce que je suis aujourd'hui... À ma chère mère, toute ma gratitude et mon amour.

À l'âme pure de mon père, malgré ton absence, ta présence reste gravée dans mon cœur et tes prières m'ont accompagné(e) à chaque étape... Qu'Allah te fasse miséricorde et t'accorde une place au paradis.

À mes frères et sœurs bien-aimés, mon pilier et ma force dans la vie, merci pour votre soutien indéfectible.

À mes collègues de groupe, Chaima, Khaoula et Wafa, merci pour votre collaboration, votre esprit d'équipe et tous ces moments partagés.

À mon amie fidèle Khadidja, toujours présente avec son soutien et ses paroles sincères tout au long de ce parcours.

À Rouaya Lilian, cette petite fleur de notre famille, ta présence joyeuse illumine mes journées d'espoir.

*Et à celui qui a été mon appui, mon réconfort, et ma source de motivation dans les moments difficiles...
À mon fiancé bien-aimé, merci pour ton amour et ton soutien constant.*

Amel

Dédicaces

Que ce travail soit le témoignage de mon profond respect et de ma sincère gratitude:

À ma mère, pour qui je nourris une immense affection et une profonde estime, et qui n'a jamais cessé de me soutenir par sa tendresse, ses encouragements et ses sacrifices, m'aidant à surmonter tous les défis de la vie. Aucun mot ne saurait exprimer l'étendue de mes sentiments à son égard. Que Dieu la protège et lui accorde une longue vie.

À mon père, qui m'a transmis la force, la sagesse et la stabilité. Je lui exprime tout mon amour et ma profonde reconnaissance.

À mon frère Ahmed, qui a toujours été un soutien infaillible pour moi, par sa présence, ses paroles chaleureuses et son appui constant.

À mes chères sœurs Sabah et Amani, qui ont été pour moi une source d'affection, de soutien et d'inspiration tout au long de mon parcours. Ce travail est le fruit de leurs sacrifices et de leur amour.

J'espère être toujours à la hauteur de leur fierté, comme elles l'ont toujours été pour moi.

À mon fiancé, qui, par sa douceur, sa bienveillance et sa patience, a su m'offrir réconfort et soutien dans les moments difficiles. Merci pour son amour sincère, son appui discret et constant, et sa confiance en moi, même lorsque je doutais de mes propres capacités.

À mes professeurs, à qui je témoigne tout mon respect et ma profonde reconnaissance pour leur encadrement, leur patience et leurs précieux conseils.

À mes chères amies, avec qui j'ai partagé une grande partie de ma vie, pour leur amitié précieuse et leur complicité.

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment...

Et à la famille Boughagha.

Khaoula

Dédicaces

*Nous n'avons commencé les débuts que par Sa facilitation,
et nous n'avons atteint les fins que par Sa réussite,
et nous n'avons réalisé les objectifs que par Sa grâce.*

Louange à Allah qui m'a accordé la réussite de valoriser cette étape dans mon parcours universitaire.

Je dédie le fruit de mes efforts,

À moi-même ambitieuse, en premier lieu.

À ceux dont j'ai tant souhaité qu'ils assistent à mon jour de graduation,

"mon grand-père et ma grand-mère"

"Qu'Allah leur fasse miséricorde et les loge dans Son vaste paradis".

*À celle dont la prière fut le secret de mon succès, mon premier soutien et ma direction, de qui je puise
ma force.*

À celle en qui Dieu a résumé toutes les significations de la tendresse.

À cette femme exceptionnelle que j'ai toujours souhaité voir heureuse en un jour comme celui-ci...

"Ma chère maman"

À celui qui a consacré des années d'efforts pour que je gravisse les échelons du succès,

*à celui qui m'a appris que la volonté ne se brise pas et que le succès ne vient qu'avec la patience et la
persévérance,*

à celui qui a toujours été un soutien inébranlable, et dont je porte le nom avec fierté,

"Mon cher père"

*À celle envers qui j'éprouve une profonde reconnaissance pour ses encouragements constants à chaque
étape,*

la compagne du cœur et de l'âme.

tu as tout mon amour.

"Ma chère sœur"

Aux cœurs bienveillants dont le soutien reste inoubliable,

À ceux dont la présence a laissé une empreinte sincère tout au long de ce parcours.

À celui qui a été lumière et force dans les moments de faiblesse,

À ceux qui ont accordé la confiance,

cru en moi à chaque instant,

et semé l'espoir sans jamais rien attendre en retour.

"Merci du fond du cœur."

À chaque membre de ma honorable famille, aux amies fidèles, et aux mes collègues dans ce travail.

Merci d'avoir été à mes côtés et d'avoir partagé ma joie.

Je vous exprime à tous ma gratitude.

Avec vous, la joie était plus profonde et la réussite plus belle.

J'espère être une source de fierté pour vous, comme vous l'avez été pour moi, une source de force

Chaima

Liste des abréviations:

AIA : Acide Indole-3-Acétique.

BGN : Bacille Gram Négatif.

GN : Gélose Nutritive.

HDL : Lipoprotéines de Haute Densité.

hrp : Hypersensitive Response and Pathogenicity (gèneshrp).

J-C : Jésus-Christ.

KA : Milieu King A.

KB : Milieu King B.

LDL : Lipoprotéines de Basse Densité.

MEVAG : Milieu d'Étude de la Voie d'Attaque des Glucides.

pIAA : Plasmid Indole Acetic Acid.

Psv : *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

UV : Ultra-Violet.

Liste des figures :

Figure 1 : Les feuilles de l'olivier (Ch-Mazurelle ; 2023).

Figure 2 : Le tronc de l'olivier (Ch-Mazurelle ; 2023).

Figure 3 : Les fleurs de l'olivier (Ch-Mazurelle ; 2023).

Figure 4: fruit d'olivier à différents stades de maturation (Ch-Mazurelle ; 2023).

Figure 5 : tumeur observées sur les rameaux d'olivier prélevés a la briqueterie est (prise personnelle)

Figure 6 : Échantillons de tumeur de l'olivier (*Olea europaea*) (Prise personnelle).

Figure 7 : Ensemencement direct sur le milieu GN, King A et King B (Prise personnelle).

Figure 8 : Ensemencement indirect sur le milieu GN, King A et King B (Prise personnelle).

Figure 9 : Repiquage (Prise personnelle).

Figure 10 : Conservation des souches obtenues (Prise personnelle).

Figure 11 : Quelques frottis bactériens après coloration de Gram (Prise personnelle).

Figure 12 : Test de la catalase (Prise personnelle).

Figure 13 : Test de la coagulase (Prise personnelle).

Figure 14 : Test de l'oxydase (Prise personnelle).

Figure 15 : Test pectinolytique (Prise personnelle).

Figure 16 : Hypersensibilité sur les feuilles de tabac (Prise personnelle).

Figure 17 : Galerie API 20NE (Prise personnelle).

Figure 18 : Échantillon 1 (Prise personnelle).

Figure 19 : Échantillon 2 (Prise personnelle).

Figure 20 : Résultat de purification sur GN (Prise personnelle).

Figure 21 : Résultats de conservation sur GN (Prise personnelle).

Figure 22 : Résultat du test Levane des souches (Prise personnelle).

Figure 23 : Résultats du test MEVAG (Prise personnelle).

Figure 24 : Résultats du test catalase (Prise personnelle).

Figure 25 : Résultats du test oxydase (Prise personnelle).

Figure 26 : Résultats de l'activité pectinase (Prise personnelle).

Figure 27 : Résultats du test de fluorescence : résultat positif pour les souches M3 et M2, négatif pour les souches M1 et M8 (Prise personnelle).

Figure 28 : La souche N4 et M3 avant l'ajout du réactif (Prise personnelle).

Figure 29 : La souche M3 et N4 après l'ajout du réactif (Prise personnelle).

Liste des tableaux :

Tableau 1: Classification botanique de l'olivier selon (Lazzeri ;2009).

Tableau 2:Classification scientifique de *Pseudomonas savastanoi* (Janas ;1982).

Tableau 3: réduction du rendement en fonction du nombre de tumeurs par branche d'olivier (Schroth *et al* ;1973).

Tableau 4 : caractéristiques des oliviers étudiés.

Tableau 5 : Résultats macroscopique des 18 souches isolat.

Tableau 6 : résultats microscopique des isolats des BGN

Tableau 7: résultats microscopique des isolats des bacilles gram positif.

Tableau 8 : résultats microscopique des isolats des cocci positif.

Tableau 9 : résultats test catalase souche 1.

Tableau 10 : résultats test catalase souche 2.

Tableau 11 : résultats test coagulase.

Tableau 12 : résultats test oxydase.

Tableaux 13 : résultats activité pectinase.

Tableau 14 : résultats du test d'hypersensibilité des feuilles de tabac..

Tableau 15 : résultats du test de fluorescence

Tableau 16 : Résumé des résultats des tests biochimiques (LOPAT), fluorescence et test de Pathogénicité

Résumé :

L'olivier (*Olea europaea L.*), arbre emblématique du bassin méditerranéen, est apprécié pour ses nombreuses qualités nutritionnelles et médicinales. En Algérie, cette culture est confrontée à plusieurs menaces, notamment la tuberculose de l'olivier, une maladie bactérienne causée par *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi*, responsable de la formation de nodules (galles) sur les parties aériennes de l'arbre.

Cette étude a porté sur l'isolement et l'identification de l'agent pathogène à partir de galles prélevées sur des oliviers infectés dans les vergers d'Emjez Dchich et de Briqueterie Est (wilaya de Skikda). L'analyse phénotypique a été réalisée à l'aide du test LOPAT et des galeries API 20 NE. Au total, 17 souches pures ont été isolées : trois cocci à Gram positif (N6, N8, M7), quatre bacilles à Gram variable (N1, N2, M5, M6), et dix bacilles à Gram négatif (N3, N7, N9, M2, M8, M1, N4, M3, M4, N10). Parmi ces dernières, deux souches (M8 et N9) ont été identifiées comme *Pseudomonas fluorescens*, deux autres (M3 et N4) comme *Pseudomonas savastanoi*, et la souche M1 comme *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats obtenus confirment la diversité bactérienne associée aux galles d'olivier et soulignent l'importance d'une identification rigoureuse pour mieux comprendre les interactions pathogène-hôte et envisager des stratégies de lutte plus ciblées.

Mots-clés: Tuberculose de l'olivier, galles, *Pseudomonas savastanoi*, test LOPAT, bactéries endophytes, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Abstract:

The olive tree (*Olea europaea L.*), an emblematic tree of the Mediterranean basin, is valued for its many nutritional and medicinal properties. In Algeria, this crop faces several threats, notably olive knot disease, a bacterial infection caused by *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi*, which is responsible for the formation of nodules (galls) on the aerial parts of the tree

This study focused on the isolation and identification of the pathogenic agent from galls collected from infected olive trees in the orchards of Emjez Dchich and Briqueterie Est (Skikda province). Phenotypic analysis was carried out using the LOPAT test and API 20 NE galleries

A total of 17 pure strains were isolated: three Gram-positive cocci (N6, N8, M7), four Gram-variable bacilli (N1, N2, M5, M6), and ten Gram-negative bacilli (N3, N7, N9, M2, M8, M1, N4, M3, M4, N10)

Among the latter, two strains (M8 and N9) were identified as *Pseudomonas fluorescens*, two others (M3 and N4) as *Pseudomonas savastanoi*, and strain M1 as *Pseudomonas aeruginosa*

The results obtained confirm the bacterial diversity associated with olive galls and highlight the importance of rigorous identification in order to better understand pathogen-host interactions and to consider more targeted control strategies.

Keywords: Olive knot disease, galls, *Pseudomonas savastanoi*, LOPAT test, endophytic bacteria, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*

الملخص:

شجرة الزيتون (*Olea europaea* L)، الشجرة الرمزية لحوض البحر الأبيض المتوسط، تُقدَّر لما تتمتع به من خصائص غذائية وطبية عديدة. في الجزائر، تواجه هذه الزراعة عدة تهديدات، من بينها مرض التدرن الزيتوني، وهو مرض بكتيري تسببه *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*، المسؤول عن تكوّن التورمات (العقد) على الأجزاء الهوائية من الشجرة.

تناولت هذه الدراسة عملية عزل وتحديد العامل الممرض انطلاقاً من التورمات المأخوذة من أشجار زيتون مصابة في بساتين أمجاز ديشيش ومفرزة الأجور الغربية (ولاية سكيكدة). وقد تم إجراء التحليل الظاهري باستخدام اختبار LOPAT والشرائط البيوكيميائية API 20 NE.

في المجمل، تم عزل 17 عزلة نقية: ثلاث مكورات موجبة لصبغة غرام (M7، N8، N6)، وأربع عصويات متغيرة لصبغة غرام (M6، M5، N2، N1)، وعشر عصويات سالبة لصبغة غرام (M3، N4، M1، M8، M2، N9، N7، N3).

من بين هذه الأخيرة، تم تحديد سلالتين (M8 و N9) على أنها *Pseudomonas fluorescens*، وسلالتين أخريين (M3 و N4) على أنها *Pseudomonas savastanoi*، بينما تم تحديد السلالة M1 على أنها *Pseudomonas aeruginosa*.

تؤكد النتائج المحصّل عليها على التنوع البكتيري المرتبط بعقد الزيتون، وتُبرز أهمية التحديد الدقيق من أجل فهم أفضل لتفاعلات الممرض-المضيف، واقتراح استراتيجيات مكافحة أكثر استهدافاً.

الكلمات المفتاحية: التدرن الزيتوني، العقد، *Pseudomonas savastanoi*، اختبار LOPAT، البكتيريا الإندوفيتية، *Pseudomonas fluorescens*، *Pseudomonas aeruginosa*.

Introduction :

L'olivier (*Olea europaea L.*), arbre millénaire du bassin méditerranéen, est cité dans le Coran comme un « arbre béni » (shajaratmubārakah, sourate An-Nur, 24:35), soulignant sa dimension symbolique et spirituelle. En plus de son importance culturelle, il constitue un pilier de l'économie agricole dans plusieurs pays, notamment en Algérie, où des efforts considérables sont entrepris pour promouvoir sa culture dans le cadre du programme national « BIO » (**Boughadda ; 2015**). Cette stratégie vise à renforcer la production locale d'huile d'olive et à réduire la forte dépendance aux importations, qui représentent environ 65 % des besoins nationaux en huiles végétales (**Asia et al ; 2018**).

Cependant, cette ambition se heurte à plusieurs contraintes phytosanitaires, dont la plus préoccupante est la tuberculose de l'olivier. Causée par la bactérie *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi*, cette maladie se manifeste par la formation de galles sur les branches, les rameaux et parfois le tronc, altérant la vigueur de l'arbre et réduisant sensiblement sa productivité (**Hassouna et al ; 2022 ; Rodríguez-Moreno et al ; 2009**). L'infection se propage essentiellement à travers les blessures issues de la taille ou de facteurs climatiques comme la grêle, ce qui impose l'adoption de bonnes pratiques agricoles et de mesures préventives (**Penyalver et al ; 2006**).

Face à l'inefficacité relative de certaines méthodes conventionnelles, des approches alternatives, plus respectueuses de l'environnement, suscitent un intérêt croissant. Parmi elles, l'utilisation d'extraits naturels à potentiel antimicrobien représente une piste prometteuse, en complément d'un diagnostic plus précis basé sur des outils biochimiques et phénotypiques (**Quesada et al ; 2012 ; Moretti et al., 2014**).

Dans ce contexte, la présente étude vise à isoler et identifier les bactéries associées aux galles d'oliviers infectés dans la région de Skikda, et à caractériser les souches par des tests biochimiques classiques (LOPAT, API)

Chapitre1 : revue bibliographique

1. présentation de l'olivier :

1.1. Histoire et origine:

L'olivier est considéré comme l'un des premiers arbres cultivés par l'homme. Il est originaire de la région méditerranéenne, où il est connu depuis des millénaires. Les preuves archéologiques indiquent que la culture de l'olivier a commencé il y a plus de 6000 ans, notamment dans des régions telles que la Crète, l'Égypte, la Syrie (Tousignant ; 2018).et la Grèce, où des feuilles fossilisées ont été découvertes sur les îles de Santorin, datant d'environ 37 siècles avant J-C. Vers 1600 avant J-C., les Phéniciens ont contribué à la diffusion de la culture de l'olivier en Grèce (Henry ; 2003).

Plus tard, au VI^e siècle avant J.-C., grâce aux Grecs, l'olivier s'est propagé dans tout le bassin méditerranéen, avec la création de vergers qui s'étendaient de l'Égypte à la Libye, en passant par la Tunisie, l'Algérie et jusqu'à l'Italie. Dans le Croissant fertile, l'olivier était déjà cultivé aux alentours de 3000 ans avant J.-C., notamment en Égypte, en Syrie, en Palestine et en Phénicie, intégrant ainsi l'huile d'olive comme élément essentiel dans l'alimentation, la médecine et les rituels religieux.(Mendil et Sebai ;2007).

L'olivier occupe une place privilégiée dans la culture islamique, comme en témoigne le serment divin au début de la sourate At-Tin : « Par le figuier et l'olivier ». Ce verset met en évidence la valeur spirituelle de cet arbre béni. Selon le Dr. Ragheb El-Sergani, l'olivier ne se limite pas à son rôle de simple arbre fruitier, mais il incarne également des dimensions symboliques liées à la bénédiction et au bien. Il précise que cet arbre est mentionné à sept reprises dans le Coran, ce qui reflète son importance sur les plans nutritionnel, thérapeutique et environnemental (El-Sergani ;2008)

Par ailleurs, les découvertes archéologiques dans le Tassili du Hoggar en Algérie ont révélé des gravures rupestres représentant l'utilisation de branches d'olivier, témoignant de la connaissance ancienne de cet arbre.(COI ; 1998)

Au fil du temps, l'olivier s'est étendu vers d'autres régions comme l'Afrique du Sud, l'Australie, le Japon et la Chine, poursuivant sa diffusion même après la découverte du Nouveau Monde en 1492. Depuis cette époque, l'histoire de l'olivier est intimement liée à celle de l'Algérie. (Mendil et Sebai ;2007)

Avec l'évolution des techniques agricoles modernes, la culture de l'olivier a connu un essor important grâce à la mécanisation, à l'amélioration des méthodes de récolte et d'extraction, ainsi qu'à la mise en

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

place de normes de qualité, contribuant ainsi à la prospérité de cette filière dans de nombreux pays.(Guerfel et Ben Abdallah ;2012)

1.2. Description d'olivier :

Croissance :

L'olivier (*Olea europaea*), appartenant à la famille des Oléacées, est un arbre fruitier, réputé pour sa longévité exceptionnelle, certains individus vivant plusieurs siècles, voire plus de mille ans. Il atteint généralement une hauteur de 10 à 20 mètres. Son port est souvent tortueux, avec un tronc noueux et des branches irrégulières.

Les feuilles d'Olivier :

Son feuillage est persistant et reconnaissable. La face supérieure des feuilles présente une couleur vert grisâtre à vert foncé, tandis que la face inférieure est recouverte d'écaillés argentées ou blanchâtres, d'où l'aspect argenté de l'arbre. Ces feuilles coriaces mesurent entre 4 et 10 cm de long et 1 à 3 cm de large .assurant une photosynthèse continue, même en conditions de sécheresse.



Figure1 : les feuilles de l'olivier (Ch-Mazurelle ; 2023)

Le tronc :

Le tronc de l'olivier est souvent court, épais et irrégulier, se tordant avec l'âge. Son écorce évolue d'un aspect lisse et grisâtre chez les jeunes arbres à une texture rugueuse et fissurée avec le temps.



Figure 2: le tronc de l'olivier (Ch-Mazurelle ; 2023)

Floraison :

Au printemps, l'olivier se pare de petites fleurs blanches ou blanc verdâtre, regroupées en grappes courtes appelées racèmes ou panicules .La floraison à lieu généralement entre avril et juin et la pollinisation est principalement assurée par le vent (anémogame) .



Figure 3: les fleurs de l'olivier (Ch-Mazurelle ; 2023)

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

Les fruits :

Le fruit de l'olivier est une drupe ovoïde et charnue, contenant un noyau dur. La couleur des olives varie au cours de la maturation, passant du vert au noir violacé. La taille et la forme des olives diffèrent considérablement selon les variétés cultivées. La récolte des olives a lieu en automne et en hiver, en fonction de leur destination (huile ou consommation de table) et du cultivar.



Figure 4: fruit d'olivier à différents stades de maturation (Ch-Mazurelle ; 2023)

Les racines :

L'olivier possède un système racinaire étendu et puissant, bien adapté aux sols secs et rocaillieux typiques du bassin méditerranéen. Il se compose d'une racine pivotante peu profonde et de nombreuses racines latérales qui s'étendent horizontalement.

1.3. La production d'Olivier en Algérie:

L'Algérie occupe actuellement la quatrième place mondiale dans la production d'olives de table et la septième position en termes de superficies plantées en oliviers, selon les classements du Conseil oléicole international. Ces résultats reflètent l'engagement du gouvernement à soutenir ce secteur stratégique ainsi que l'importance économique de l'huile d'olive pour le pays.

La production d'olives atteint désormais 9 millions de quintaux par an, dont 3 millions de quintaux destinés à la consommation de table et 6 millions de quintaux destinés aux huileries. Grâce à cette production, l'Algérie parvient à extraire environ 100 millions de litres d'huile d'olive par an, un chiffre en constante augmentation.

Le secteur oléicole algérien se distingue également par la diversité de ses variétés. Le catalogue officiel des arbres fruitiers du pays recense plus de 48 variétés d'oliviers, certaines adaptées à la production d'huile, d'autres destinées à la table. Cette richesse variétale témoigne de la

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

maîtrise technique acquise par les agriculteurs locaux, tant dans la production que dans la préservation des ressources végétales.(**Agri Algérie ; 2024**).

Pour la campagne 2024-2025, une production d'huile d'olive comprise entre 80 000 et 90 000 tonnes a été enregistrée, et ce malgré les défis climatiques liés à la sécheresse et à une mauvaise répartition des précipitations. Cette production présente des variations notables entre les différentes wilayas, reflétant les spécificités climatiques et géographiques de chaque région.

À Constantine, une production estimée à 40 000 quintaux a été enregistrée sur une superficie de 1 200 hectares, avec un rendement moyen de 40 quintaux par hectare (L'Est Républicain, 2024). Dans le sud, malgré des conditions climatiques difficiles, la wilaya de Ghardaïa prévoit une production de 37 752 quintaux (**L'Écho d'Algérie ; 2024**).

De son côté, la wilaya de Tizi Ouzou table sur une production d'environ 39 000 quintaux d'olives sur plus de 30 000 hectares, traduisant une vaste superficie oléicole malgré une faible productivité (**Le Jeune Indépendant ; 2024**).

À Boumerdès, une récolte record de 161 000 quintaux a été atteinte, marquant une hausse d'environ 60 % par rapport à la saison précédente (Algérie Éco, 2024a). En revanche, la wilaya de Bouira a connu une baisse significative de la production d'huile d'olive, qui est passée à 3,27 millions de litres contre plus de 4,5 millions auparavant, en raison de la sécheresse (**Algérie Éco ; 2024**).

Il a également été révélé que "l'huile d'olive algérienne bénéficie d'une forte demande sur les marchés internationaux, notamment en Europe et en Asie. Les principales destinations d'exportation sont des pays comme la France et l'Espagne. Bien qu'environ 99 % de la production soit destinée à la consommation locale, l'Algérie dispose d'un immense potentiel pour développer ses exportations."(**Nadir ; 2024**).

Pour améliorer la production de l'huile d'olive et garantir sa qualité, il est essentiel d'adopter des pratiques agricoles modernes, en commençant par le choix de sols appropriés et la culture de variétés bien adaptées à l'environnement, tout en assurant un bon entretien des arbres et une irrigation adéquate. Il est également important de tirer parti des résultats de la recherche scientifique et des essais sur le terrain, en fournissant aux agriculteurs un accompagnement et un appui technique les orientant vers de meilleures pratiques. Par ailleurs, la disponibilité de plants sains et certifiés contribue à accroître la production et à améliorer la qualité de manière générale.(**Alaoui et Yasuehi ;2005**)

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

1.4. La classification botanique de l'olivier:

L'olivier appartient à la famille des Oléacées, dérivée du mot latin « Olea » qui désigne l'arbre lui-même. Son fruit était appelé « Oliva » et le liquide extrait, « Oléum », est à l'origine du mot « huile » que nous utilisons aujourd'hui. Selon (**Lazzeri ; 2009**), la classification botanique de l'olivier est la suivante :

Tableau 1: Classification botanique de l'olivier (**Lazzeri ;2009**).

Embranchement	Spermaphytes (plantes à graines)
Sous-embranchement	Angiospermes (plantes à fleurs)
Classe	Dicotylédones (à deux cotylédons)
Sous-classe	Astéridées
Famille	Oléacées
Genre	Olea
Espèce	<i>Olea europaea</i> (olivier européen).

1.5. L'oléiculture dans le monde :

La culture de l'olivier s'étend dans les latitudes 30° et 45° des hémisphères nord et sud.

On retrouve ainsi des plantations en Amérique (notamment en Californie, au Mexique, au Brésil, en Argentine et au Chili), en Australie, en Afrique du sud, ainsi qu'en Asie de l'est, notamment en Chine et au Japon. En 2012, la superficie mondiale consacrée à l'oléiculture était estimée à environ 11 millions d'hectares. Cette superficie se répartit comme suit : 53% pour les pays de l'union européenne, 27% pour les pays du Maghreb, 18% pour ceux du Moyen-Orient, et les 2% restants pour les pays du continent américain et autres (**COI ; 2013**).

Selon les données de (**la FAOSTAT ; 2020**), la production mondiale d'olives a atteint 20782788 tonnes, couvrant une superficie totale de 10804517 hectares. Les principaux pays producteurs se situent dans le bassin méditerranéen, représentant à eux seuls environ 95% de la production mondiale, notamment l'Espagne, l'Italie et la Tunisie.

1.6. Variétés des olives dans le monde:

Actuellement, on recense plus de 2000 variétés d'oliviers à travers le monde, ce qui témoigne d'une grande richesse génétique. Chaque pays producteur privilégie certaines variétés spécifiques, adaptées à ses conditions climatiques, géographiques et culturelles (**Breton ; 2006**).

Selon le Conseil Oléicole International (**C.O.I. ; 2006**), les principales variétés cultivées dans les pays méditerranéens varient considérablement. Par exemple, l'Espagne cultive des variétés à huile telles que Picual et Cornicabra, ainsi que des variétés de table comme Hojiblanca et Manzanilla. L'Italie se distingue par des variétés comme Trantoio et Leccino, tandis que la Grèce privilégie Koroneiki. D'autres pays comme le Portugal, la France, la Turquie, la Syrie, le Maroc, l'Algérie et la Tunisie présentent également une richesse variétale importante, avec des cultivars destinés à l'huile, à la table ou à un usage mixte.

Cette diversité reflète l'importance stratégique de l'olivier dans le bassin méditerranéen, tant sur le plan économique qu'agronomique, et souligne la nécessité de préserver ce patrimoine végétal unique.

1.7. L'oléiculture en Algérie :

La culture de l'olivier est relativement complexe. C'est un arbre qui nécessite un climat particulier, caractérisé par un hiver doux et un été sec. Il doit être cultivé dans des régions où il n'y a pas de périodes de froid intense ni de fortes humidités. De manière générale, l'olivier a besoin d'un climat méditerranéen. Pour cette raison, cet arbre se trouve principalement en Europe du Sud et en Afrique du Nord.

Bien que l'olivier exige des conditions climatiques précises, il est moins exigeant concernant le type de sol. Il peut croître et se développer dans différents types de sols. Malgré cela, il est principalement cultivé aujourd'hui dans les sols rocheux caractéristiques des régions méditerranéennes.

L'olivier pousse lentement ; il faut en moyenne cinq ans avant qu'il ne donne ses premiers fruits, puis environ quinze ans supplémentaires pour qu'il soit considéré comme pleinement productif. L'olivier atteint son meilleur rendement entre 50 et 150 ans, sachant qu'il peut vivre entre 300 et 400 ans.

(Bervillé et Breton ; 2012)

La culture de l'olivier constitue l'une des plus anciennes et importantes activités agricoles en Algérie. Depuis l'époque romaine, (**Alloum ; 1974**)

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

Elle a contribué à la prospérité économique locale grâce au commerce de l'huile d'olive. Malgré son importance, cette filière ne participe pas de manière significative à la diversification de l'économie nationale, encore largement dépendante des ressources fossiles.

L'État algérien a mis en place des programmes visant à valoriser cette filière, notamment à travers la réhabilitation d'anciennes oliveraies et la plantation de nouveaux vergers, ce qui a permis une croissance annuelle des superficies estimée à 16,4.%

La culture de l'olivier est répartie sur trois grandes zones:

La zone ouest : comprend les wilayas de Tlemcen, AïnTémouchent, Mascara, Sidi Bel Abbès et Relizane, représentant 16,4 % du verger oléicole national.

La zone centre : regroupe AïnDefla, Bouira, TiziOuzou, Béjaïa, Boumerdès et Blida, avec la plus grande superficie nationale.(% 57,5)

La zone est : couvre les wilayas de Jijel, Skikda, Mila et Guelma, représentant 26,1 % du patrimoine oléicole. (Moussouni ; 2011)

Le secteur de l'olivier en Algérie a connu un développement remarquable au cours des deux dernières décennies. Les superficies cultivées se sont considérablement étendues pour atteindre environ 442.900 hectares répartis sur 49 wilayas, alors qu'elles ne dépassaient pas 160.000 hectares au début des années 2000, couvrant ainsi 45 % des terres agricoles du pays. Ce secteur compte plus de 65 millions d'arbres, dont 48 millions en phase de production, avec un rendement moyen estimé à 23 kg par arbre. Cette croissance résulte des stratégies nationales visant à renforcer la sécurité alimentaire.

L'État ambitionne d'élargir la superficie cultivée pour atteindre un million d'hectares à l'horizon 2030, ce qui reflète l'importance croissante de cette activité agricole dans l'économie nationale. (Agri Algérie ; 2024)

En Algérie, plusieurs variétés d'oliviers sont cultivées, différant par leur degré de résistance à la sécheresse et leurs zones de répartition. Certaines de ces variétés présentent une faible résistance, comme Sigoise dans la région de Sig(Mascara), Tefahi à Sedouk (Béjaïa), et Azzeradj dans les régions de Béjaïa et Bouira qui occupe 10% de la surface oléicole nationale. Ces variétés sont à double usage : elles sont consommées directement et utilisées également pour la production d'huile. Elles mûrissent généralement durant la première et la deuxième décade du mois de novembre.

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

La variété Chemlal, largement répandue en Kabylie, se distingue par une résistance modérée à la sécheresse et occupe environ 40 % de la superficie nationale consacrée aux oliveraies. Sa période de maturation a lieu durant la troisième décennie du mois d'octobre.

D'un autre côté, il existe des variétés très résistantes à la sécheresse, comme El-Abani, Zeletni et Ferkani, principalement cultivées dans la région de Khenchela, ainsi que la variété Bouricha à Skikda. Ces variétés sont classées comme oléicoles, avec une maturation généralement observée au cours de la troisième décennie d'octobre. Parmi elle, la variété Ferkani, également cultivée dans la région de Tébessa, se distingue par le rendement en huile le plus élevé, avec une période de maturation plus tardive qui s'étend jusqu'au mois de décembre (CRBT ; 2023).

1.8. L'importance nutritionnelle de l'olivier:

L'huile d'olive est reconnue pour sa richesse nutritionnelle. Elle contient des vitamines liposolubles telles que la vitamine E, un puissant antioxydant, ainsi que plusieurs vitamines du groupe B, comme l'ont indiqué (Servili *et al* ; 2009). De plus, les olives sont une bonne source de minéraux essentiels tels que le fer, le calcium, le magnésium et le potassium.

Certains composés présents dans l'huile d'olive, notamment l'acide oléique et les polyphénols, possèdent des propriétés anti-inflammatoires. Ces effets pourraient jouer un rôle dans la réduction du risque de maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires ou l'arthrite (Fitó *et al* ; 2007)

L'huile d'olive vierge extra, extraite mécaniquement des olives, est particulièrement riche en acides gras mono-insaturés, surtout en acide oléique. (Schwingshackl *et al* ;2018), ces acides gras contribuent à faire baisser le taux de mauvais cholestérol (LDL) et à augmenter celui du bon cholestérol (HDL), favorisant ainsi la santé cardiovasculaire.

En outre, l'huile d'olive contient plusieurs antioxydants comme les polyphénols, les tocophérols et les caroténoïdes. Ces substances aident à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres, contribuant à la prévention de maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiaques et les troubles neurodégénératifs, (Japón-Luján *et al* ; 2019).

2. La tuberculose de l'olivier :

2.1 Définition de la tuberculose d'olivier :

La tuberculose de l'olivier, aussi appelée chancre de l'olivier, est l'une des maladies bactériennes les plus graves affectant l'olivier (*Olea europaea*). Elle est connue depuis l'Antiquité, et il est probable que le philosophe grec Théophraste (**Iacobellis ;2001**) en ait fait la première description. La bactérie a été observée pour la première fois par Savastanoi en 1870, puis étudiée plus en détail par Smith et Rorer au début du XXe siècle (**Guido ; 2005**).

Cette maladie est causée par une bactérie appelée *Pseudomonas savastanoi pv. Savastanoi* (**Zohary,D ; 1973**), responsable de la formation de nodosités (ou tumeurs) sur les rameaux et les tiges (**young et al ; 1996**);(**janse ,1982**). Elle est actuellement connue sous le nom scientifique de *Pseudomonas syringaepv. savastanoi*, et plusieurs études comme celle de (**Gardan et al ; 1992**) ont confirmé son rôle pathogène principal dans l'infection des oliviers.

2.2 Les symptômes de la tuberculose d'olivier :

L'infection par la maladie se manifeste principalement par l'apparition de tumeurs appelées « galles », qui se développent généralement au niveau des points d'entrée de l'agent pathogène, notamment dans les zones de croissance des bourgeons. Ces galles peuvent également apparaître sur d'autres parties blessées de l'arbre, telles que les plaies de taille ou les blessures mécaniques (**Boulssen et Bourraoui ; 2016**). La maladie affecte visiblement la croissance des pousses et touche aussi les organes reproducteurs de la plante, ce qui perturbe son cycle de développement. (**Benjama ; 2003**), l'intensité des dommages est directement liée au nombre de tumeurs présentes sur chaque arbre.

Les galles mesurent entre 0,5 et 2 centimètres de diamètre et apparaissent sur les rameaux, les branches, les troncs ainsi que la zone du collet. Lorsqu'elle survient durant les premiers stades de croissance, l'infection peut provoquer une déformation de la tige et de la structure générale de l'arbre (**Iacobelli ; 2001**).

Dans les cas avancés, la maladie entraîne la chute des feuilles, ce qui provoque un dessèchement du bois à cause d'une perturbation de la photosynthèse. Cela se traduit par une diminution du rendement en olives, accompagnée d'une altération de la qualité de l'huile, qui peut alors présenter des caractéristiques organoleptiques inférieures telles qu'une mauvaise odeur ou un goût amer et rance (**Senhaji ; 1999**).



Figure5 : tumeur observées sur les rameaux d'olivier prélevés a la briqueterie est(prise personnelle)

2.3 L'agent causal de la tuberculose d'olivier :

L'agent causal de la tuberculose de l'olivier est le *Pseudomonas savastanoipv.* (Zohary et al ; 1975), qui est une phytopathogène à Gram négatif. Il est considéré comme le seul pathogène responsable de la formation des nœuds (tumeurs) bactériennes des oliviers (*Olea europa L*) (Smith ; 1908) ; (Young et al ; 1996) ; (Janse ; 1982) ; (Bradbury ; 1986).

2.4. Répartition géographique de la maladie :

La tuberculose de l'olivier est une maladie présente partout dans le monde spécialement le bassin méditerranéen. Selon (Boussen et Bouraoui ; 2016) les pays concernés par la maladie sont :

Europe : France, Grèce, Italie, Portugal, Espagne, Suède, Yougoslavie, Allemagne

Asie : Iran, Irak, Palestine, Liban, Turquie

Afrique : Algérie, Libye, Maroc, Afrique du Sud, Tanzanie, Tunisie

Amérique du Nord : Mexique, USA (Californie, Texas, Arkansas, Arizona)

Amérique du Sud : Argentine, Brésil, Colombie, Pérou, Uruguay

Australie, Nouvelle-Zélande (Bradbury ; 1986).

2.5. Les principaux caractères du Pseudomonas :

2.5.1 Classification scientifique de la bactérie *Pseudomonas savastanoipv. Savastanoi* :

*Selon (Janse ; 1982), la bactérie *Pseudomonas savastanoi pv. Savastanoi* est classée parmi les êtres vivants comme suit :

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

Tableau 2: Classification scientifique de *Pseudomonas savastanoi* (Janas ; 1982).

Règne	Bactéries (Bacteria)
Embranchement	Protéobactéries (Proteobacteria)
Classe	Gammaprotéobactéries (Gammaproteobacteria)
Ordre	Pseudomonadales (Pseudomonadales)
Famille	Pseudomonadaceae (Pseudomonadaceae)
Genre	Pseudomonas
Espèce	<i>Pseudomonas savastanoi</i>

*(Young ; 1996) a indiqué qu'il existe cinq pathovars (variétés pathogènes) différents appartenant à cette espèce, à savoir :

- Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi*
- Pseudomonas savastanoi pv. nerii*
- Pseudomonas savastanoi pv. fraxini*
- Pseudomonas savastanoi pv. glucinea*
- Pseudomonas savastanoi pv. phaseolicola.*

2.5.2 Les caractères morphologiques :

Forme : Bacille

Coloration de Gram : Négative

Mobilité : Mobile grâce à la présence d'un à quatre flagelles polaires

Morphologie des Colonies : Les colonies sont blanches ou crème, lisse, plates, et brillantes sur milieu King's B (Ersoy et Basim ; 2019)

2.5.3 Caractères génétiques :

Les pseudomonas possèdent, comme la majorité des bactéries, des plasmides de poids moléculaire variable. Ces plasmides sont conjugatifs et peuvent contenir des gènes de résistance aux antibiotiques (Gouzale *et al* ; 1984). Ils codent également pour enzymes impliquées dans la dégradation des

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

cellules épidermiques. (Boucher ; 1987), les plasmides jouent un rôle essentiel dans l'adaptation des bactéries aux variations de leur environnement, leur permettant ainsi de survivre dans des niches écologiques spécifiques.

2.5.4 Les caractères biochimiques :

L'identification biochimique de *Pseudomonas savastanoi* repose sur le système LOPAT, un protocole de classification utilisé pour différencier les bactéries phytopathogènes du genre *Pseudomonas* (Schaad et al ; 2001)

Dans cette version du système, les lettres LOPAT désignent respectivement : la production de lévane (L), l'activité oxydasique (O), la production de pectinase (P), l'hydrolyse de l'arginine via l'enzyme arginine dihydrolase (A), et la réaction d'hypersensibilité sur feuille de tabac (T) (Janse ; 2006).

Pseudomonas savastanoi se distingue par un profil biochimique bien défini : absence de production de lévane (L-), activité oxydasique négative (O-), absence de production de pectinase (P-), incapacité à hydrolyser l'arginine (A-), et réaction positive d'hypersensibilité sur le tabac (T+) (Schaad et al ; 2001) (Janse ; 2006)

Ce profil permet une identification fiable et rapide de cette bactérie dans les laboratoires de phytopathologie (Lelliott et al ; 1966)

- **Test de fluorescence:**

Pseudomonas savastanoi donne un résultat négatif, ce qui indique l'absence de production de pigments fluorescents sur le milieu King B. (Lelliott et al ; 1966).

- **Test de la catalase:**

Le résultat est positif, montrant la capacité à dégrader le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). (Janse ; 2006)

2.6. Cycle de la maladie:

La bactérie *Pseudomonas savastanoi* dépend, pour sa survie et sa multiplication, de la présence d'une plante hôte telle que l'olivier. Elle traverse deux phases principales au cours de son cycle de vie

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

Dans un premier temps, durant la phase superficielle (épiphyte), la bactérie vit à la surface de la plante, notamment sur les feuilles et les fruits, en préférant les surfaces rugueuses comme les rameaux, où les conditions sont plus favorables à sa fixation (**Ercolani ; 1993**)

Ensuite, elle pénètre dans la plante à travers des blessures et des fissures causées par des facteurs climatiques tels que le vent, le froid ou la pluie, ou encore par des interventions agricoles.

L'infection peut se produire tout au long de l'année, mais elle est favorisée par des températures comprises entre 22 et 25 °C, avec une plage de survie entre 5 et 37 °C. L'automne et le printemps sont les saisons les plus sensibles à l'infection (**Protta ; 1995**)

Ensuite, au stade endophyte, la bactérie envahit les espaces intercellulaires, notamment les vaisseaux du xylème (**Marchi et al ; 2005**).

Cette infection stimule la production d'hormones végétales telles que les cytokinines et les auxines, entraînant une prolifération anormale des cellules. Cela conduit à la formation de nodosités et de tumeurs riches en exsudats bactériens, constituant ainsi une nouvelle source de contamination (**Surico et Lavermicocca ; 1989**).

Les blessures causées par la taille restent exposées au risque d'infection pendant environ deux semaines. Quant aux cicatrices des feuilles, elles constituent une voie d'entrée privilégiée pour la bactérie, et cela même plusieurs jours après la chute des feuilles. (**Wilson et al ; 1979**).

2.7 Conséquences de la tuberculose de l'olivier sur la productivité :

L'impact des tumeurs au niveau des nœuds d'olivier sur le rendement et la qualité des olives reste flou, sauf dans les cas où la maladie provoque une destruction ou une exfoliation sévère du bois fruitier. Comme cette maladie ne cause généralement pas de dégâts esthétiques visibles, de nombreux producteurs la considèrent comme peu importante et affirment qu'ils ne mettraient pas en place de mesures de contrôle, même si elles étaient disponibles, en raison des coûts et du temps nécessaires. Un groupe témoin a observé que les olives des arbres infectés avaient un mauvais goût, et cette observation a été répétée avec des résultats similaires à chaque fois. Après avoir examiné les olives saines et infectées, il a été constaté que leur taille et leur nombre étaient inférieurs chez les arbres affectés par les tumeurs. D'autres études ont également montré que la présence de tumeurs dans les nœuds réduit considérablement le rendement (**Schroth et al ; 1973**).

Tableau 3: réduction du rendement en fonction du nombre de tumeurs par branche d'olivier

(**Schroth et al ; 1973**).

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

Nombre de branches	Nombre de tumeurs	Nombre moyen d olives
80	0	5.5
55	1	3.4
34	2	2.8
30	3	2.6
38	4	2.2
25	5	1.7
26	6	1.6

2.8 Les méthodes de lutte :

Les mesures prophylactiques :

- Éviter la taille pendant les périodes humides (pluie, rosée) pour limiter la contamination via les blessures.. (Benjama ; 2002)
- Désinfecter les outils de taille après chaque arbre, surtout après avoir taillé des sujets infectés.(Benjama ; 2002)
- Éliminer les branches atteintes et brûler les déchets contaminés pour réduire les sources de bactéries.

La Lutte directe :

Les mesures de protection directe reposent principalement sur des principes chimiques ou biologiques et sont utilisées par les producteurs lorsque les mesures prophylactiques n'ont pas réussi à stopper la progression de la maladie dans une zone (Montesinos et López ; 1996), ou sont combinées à toutes les autres mesures dans une stratégie de lutte intégrée.

La lutte chimique:

1_ Composés à base de cuivre:

Les composés cupriques (à base de cuivre) sont les traitements chimiques les plus couramment recommandés et utilisés pour la prévention de la tuberculose de l'olivier .

- Formulations courantes: Oxychlorure de cuivre, hydroxyde de cuivre, bouillie bordelaise (mélange de sulfate de cuivre et de chaux).
- Moment d'application : Les applications sont cruciales après les opérations de taille, de récolte, ou tout événement causant des blessures (grêle, gel). Elles sont généralement

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

effectuées en automne et au printemps avant les pluies, qui favorisent la dissémination de la bactérie.

- Mode d'action : Le cuivre agit en surface, formant une barrière protectrice qui empêche la pénétration de la bactérie dans les tissus végétaux par les blessures (**Quesada et al ; 2010**)
- Efficacité: Bien qu'efficaces en prévention, leur action curative est limitée une fois la galle formée. La variabilité des résultats est liée à l'intensité de l'inoculum, les conditions climatiques et le moment d'application.

2_ Mélanges avec des composés organiques (ex: Mancozèbe):

Certaines formulations combinent des composés cupriques avec des fongicides organiques comme le mancozèbe. Cette combinaison peut avoir un effet synergique contre plusieurs maladies bactériennes

3_les antibiotiques:

Historiquement, des antibiotiques comme la streptomycine et la terramycine ont montré une certaine efficacité en conditions expérimentales contre *P. savastanoi*. Cependant, leur utilisation en agriculture pour la lutte contre les bactéries phytopathogènes est strictement réglementée ou interdite dans de nombreuses régions, en raison des préoccupations concernant l'apparition de résistances bactériennes et leur impact sur la santé humaine et animale.

La lutte biologique :

1_Agents de bio contrôle:

Des recherches explorent l'utilisation de micro-organismes bénéfiques pour concurrencer ou inhiber *Pseudomonas savastanoi*. Parmi eux:

- *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas fluorescens* : Certaines souches de ces bactéries ont montré des effets antagonistes contre le pathogène en colonisant les plaies et en empêchant l'établissement de *P. savastanoi* .(**Krid et al ; 2010**).
- *Trichoderma* spp. : Ces champignons peuvent induire une résistance systémique chez les oliviers, renforçant leur capacité à se défendre contre l'infection.(**woo et al ; 2020**)
- Déchets d'huilerie (margines) : Des études récentes suggèrent que les margines peuvent avoir un effet inhibiteur sur l'adhésion de *P. savastanoi* aux surfaces de l'olivier, offrant une piste prometteuse pour des revêtements protecteurs.

2_Produits naturels et extraits végétaux :

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

- Huile de neem : Reconnue pour ses propriétés antimicrobiennes, elle peut être utilisée pour protéger les plaies de taille.
- Extraits de propolis : Ces extraits, dérivés de ruches, ont démontré une activité antibactérienne contre *P. savastanoi*.(Farmonaut ; 2025).
- Thés de compost : Riches en micro-organismes bénéfiques, ils peuvent améliorer la santé générale de l'arbre et augmenter sa résistance aux maladies.Pratiques culturales pour limiter la maladie.(Scheuerell et Mahaffee ; 2002).

2.9 Le pouvoir pathogène :

L'infection des jeunes rameaux de l'olivier par la bactérie *Pseudomonas savastanoi* pv. (Psv) conduit à la formation de nodules. L'activité du cambium vasculaire est essentielle au développement de ce processus pathologique.

L'invasion bactérienne débute par la colonisation du site d'infection, suivie de la lyse et de la dégradation des cellules végétales adjacentes. Cela entraîne la formation d'une cavité autour de la zone colonisée. Il est intéressant de noter que la bactérie produit in vitro des enzymes pectolytiques et hémicellulolytiques qui dégradent la paroi cellulaire.

Dans une phase ultérieure, les cellules saines entourant la bactérie subissent des effets hormonaux. Ces effets sont principalement dus à l'acide indole-3-acétique (AIA) et aux cytokinines, (Surico *et al* ; 1975) (Surico *et al* ; 1984) qui sont codés par le plasmide pIAAI et les gènes hrp de Psv. D'autres bactéries coexistant dans les nœuds peuvent également contribuer à ces effets. Cette stimulation hormonale provoque l'hypertrophie des cellules, puis leur division anormale. Finalement, une différenciation de certaines cellules de la zone hyperplasique en éléments du xylème et du phloème est observée.

2.10 L'interaction de *pseudomonassavastanoi* :

Les tumeurs de l'olivier constituent une niche écologique qui est colonisée non seulement par l'agent pathogène, mais aussi par diverses autres espèces bactériennes, tel que *Pantoea*, *Pectobacterium*, *Erwinia* et *Curtobacterium* (Hosni *et al* ; 2011) ; (Passos da Silva *et al* ;2014).

Erwiniaoleae et *Pantoeaagglomerans* ont été trouvées pour agir en synergie avec Psv, augmentant la formation et la taille des nœuds (Hosni *et al* ; 2011) ; (Passos da Silva *et al* ; 2014).

Il a été suggéré que *Pantoeaagglomerans* produisent l'hormone l'acide indole-3-acétique (AIA), qui favorise la croissance et la division cellulaires 2.

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

Ces bactéries peuvent également entrer en compétition avec Psv pour les nutriments et l'espace à l'intérieur de la niche tumorale. L'issue de cette compétition pourrait influencer la dynamique de la communauté bactérienne et la progression de la maladie.

Certaines souches de *Pantoea agglomerans* produisent des antibiotiques ou bactériocines qui peuvent inhiber la croissance d'autres bactéries, y compris potentiellement Psv.

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

3. Matériels et méthode :

3.1 Objectif du Travail

Ce travail, réalisé au sein du laboratoire de microbiologie (Hall de technologie) de l'Université de Skikda, a pour objectif principal l'isolement et la caractérisation biochimique de *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi*, agent responsable de la tuberculose de l'olivier. Il vise également à détecter et identifier d'éventuels autres agents pathogènes associés aux symptômes observés, en vue de mieux comprendre la diversité microbienne impliquée dans cette maladie et son évolution dans les vergers de la région.

3.2 Lieu et Période du Stage :

Le stage a été effectué sur une durée de sept semaines, réparties entre les mois de février et mars 2025, dans le laboratoire pédagogique de microbiologie situé au Hall de technologie de l'Université de Skikda.

3.3 L'échantillonnage:

Dans le cadre de cette étude, des échantillons ont été prélevés au cours de deux sorties réalisées en février 2025 dans deux vergers d'oliviers situés dans la wilaya de Skikda. La première collecte a eu lieu le 23 février à la Cité des 500 logements (commune d'Emjez Dchich), et la seconde le 28 février à La Briqueterie Est (commune de Skikda).

Sur chaque site, deux oliviers présentant des symptômes visibles de la tuberculose de l'olivier (tumeurs ou galles sur les rameaux et les brindilles) ont été sélectionnés. Les prélèvements ont été réalisés de manière aseptique à partir des parties les plus affectées. Les échantillons ont été codés S1 (La Briqueterie Est) et S2 (Cité des 500 logements).

Les branches malades ont été placées dans des sacs stériles, transportées rapidement au laboratoire de microbiologie (Hall de technologie – Université de Skikda), puis conservées dans des conditions appropriées en vue de l'isolement. Cette étape visait à identifier *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* ainsi que d'autres bactéries potentiellement impliquées dans la pathologie observée.

CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODE.

Tableau 4 : caractéristiques des oliviers étudiés.

Site d'étude	variété	Altitude	Date de prélèvement
Cité des 500 communesAmzgtchiche	Chamlal	2.5 mètre	23/02/2025
Briqueterie est	Chamlal	3 mètre	28/02/2025



Figure 6 : échantillons de tumeur de l'olivier (Olea europaea)(prise personnelle)

3.4 Isolement des bactéries :

Les échantillons tumoraux ont été désinfectés à l'aide d'éthanol à 90 %, puis ensemencés selon deux approches distinctes sur des milieux GN, King A (KA) et King B (KB).

- **Méthode 1 - Ensemencement direct :**

Après découpe, les tumeurs ont été désinfectées en surface à l'aide d'un papier filtre stérile imbibé d'éthanol à 90 %, puis sectionnées en deux. À l'aide d'une pince stérile, une moitié de tumeur a été directement déposée sur les milieux GN, KA et KB préalablement solidifiés en boîtes de Pétri. L'incubation a été réalisée à 30 °C pendant 24 heures.

CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODE.



Figure 7 : Ensemencement direct sur le milieu GN, King A et King B (prise personnelle)

- **Méthode 2 - Ensemencement indirect:**

Les tumeurs ont été découpées en petits fragments, puis broyées de manière aseptique afin d'obtenir une suspension cellulaire. Cette dernière a été transférée dans des tubes Eppendorf stériles contenant 1 mL d'eau distillée, et laissée à température ambiante pendant 20 minutes.

Après incubation, une goutte de la suspension a été prélevée à l'aide d'un écouvillon stérile, puis ensemencée par striation sur les milieux GN, King A et King B. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures.



Figure 8 : Ensemencement indirect sur le milieu GN, King A et King B. (prise personnelle)

Repiquage des souches :

Après 24 heures d'incubation, les milieux GN, King A et King B issus des échantillons S1 et S2 ont révélé l'apparition de colonies bactériennes. Une sélection a été effectuée sur la base de caractéristiques macroscopiques telles que la taille, la couleur et la consistance des colonies.

Au total, 17 souches distinctes ont été isolées, codées de M1 à M10 pour les isolats issus de l'échantillon S1, et de N1 à N8 pour ceux issus de S2. Chaque souche a été repiquée individuellement sur gélose nutritive (GN) à l'aide de la technique d'étalement en stries ou de la

CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODE.

méthode en cadrans, dans le but d'obtenir des cultures pures en vue des étapes d'identification ultérieures.



Figure 9 : Repiquage (prise personnelle)

Conservation:

Le milieu nutritif GN a été incliné dans des tubes stériles, de manière à former une surface oblique favorable à la croissance bactérienne. Cette disposition permet un meilleur développement des colonies en surface. Après l'ensemencement des échantillons, les tubes ont été incubés pendant 24 heures à une température adéquate de 37°C.

Après la période d'incubation, les tubes ont été retirés et conservés au réfrigérateur afin de maintenir la viabilité des bactéries pour des analyses ultérieures.

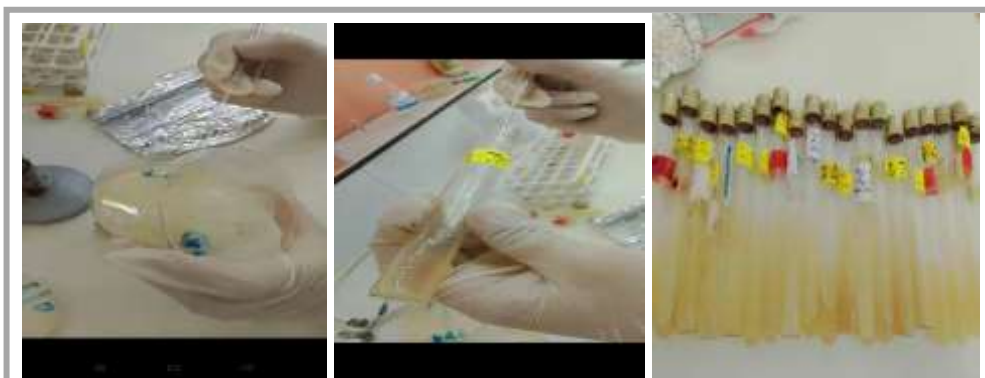


Figure 10: Conservation des souches obtenues (prise personnelle)

CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODE.

3.5 L'observation macroscopique:

Un premier examen visuel des colonies a été réalisé afin de décrire leurs caractéristiques morphologiques (taille, forme, couleur, aspect), permettant une première différenciation des souches isolées.

3.6 L'observation microscopique:

- **Coloration de gram:**

Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian. C'est une coloration qui permet de différencier entre les bactéries gram positif et les bactéries gram négative et permet aussi de visualiser les bactéries et indiquer leur forme, leur taille et leur mode de reproduction.

La technique a été effectuée sur tous les souches. L'observation a été réalisée au microscope optique à l'objectif fois 100.

- **Le protocole (voir l'annexe)**
- **Interprétation:**

Les bactéries Gram positif qui apparaissent violettes alors que les Gram négatif qui apparaissent roses.

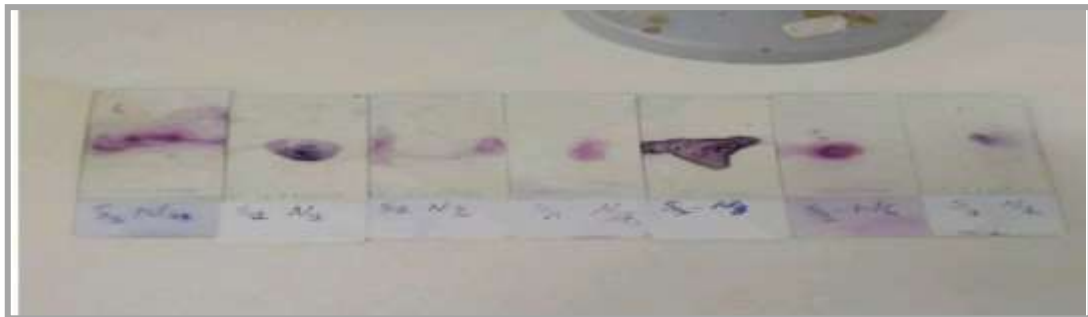


Figure 11: Quelques frottis bactérien après coloration de gram (prise personnelle)

3.7 Test de la catalase:

-Le test de catalase est un test biochimique utilisé pour détecter la présence de l'enzyme catalase chez les bactéries à Gram positive. Cette enzyme décompose le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et en oxygène (O_2), ce dernier apparaissant sous forme des bulles.

- **Le protocole: (voir l'annexe)**

CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODE.



Figure 12: Test de catalase. (Prise personnelle)

- **Interprétation des résultats:**

Test positif :

Indique la présence de catalase .c'est le cas pour la plupart des BGN aérobies et anaérobies facultatifs (*entérobactéries ; Pseudomonas ; actinetobacter ; etc.*).

Test négatif :

Moins courant chez les BGN pathogène courants en clinique mais peut être observé chez certaines espèces plus rares ou chez des bactéries anaérobies strictes (bien que le test catalase soit soit moins pertinent pour ces dernières qui ne vivent pas en présence d'oxygène)

3.8 Test de la coagulase:

-Ce test permet de différencier les *Staphylococcus aureus* et des autres espèces de staphylocoques. En effet, *S. aureus* est généralement coagulas positif, alors que les autres staphylocoques sont coagulas négatifs.

- **Le protocole** (voir annexe).

Si la souche bactérienne est coagulas positive (comme *S. aureus*), le plasma coagule et un caillot visible se forme sur la lame. En revanche, si la souche est coagulas négative, aucun caillot n'apparaît.

CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODE.



Figure 13: Test de coagulase. (Prise personnelle)

3.9 Test d'oxydase :

Le test d'oxydase est utilisé pour détecter la présence de l'enzyme cytochrome C oxydase, essentielle au métabolisme respiratoire des bactéries, en particulier chez les bactéries à Gram négatif. (Schaad ; 1988)

- **Protocole :** (voir l'annexe)
- **Interprétation:**

L'apparition d'une coloration violette en quelques secondes indique un résultat positif, traduisant la présence de l'enzyme oxydase. À l'inverse, l'absence de coloration signale un résultat négatif.



Figure 14 : Test d'oxydase (prise personnelle)

3.10 Test de l'activité pectinolytique:

Ce test permet d'évaluer la capacité d'une bactérie à produire la pectinase et à hydrolyser la pectine contenue dans une tranche de pomme de terre..(Rathore *et al* ; 2001)

- **Protocole :** (voir l'annexe)

CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODE.



Figure 15: Test de l'activité pectinolytique. (Prise personnelle)

Interprétation :

Un test positif se traduit par l'apparition de taches foncées, accompagnées d'une nécrose autour du site d'inoculation, ainsi que par l'émission d'une odeur désagréable provenant de la boîte de culture.

L'absence de ces signes indique un résultat négatif.

3.11 L'hypersensibilité sur les feuilles de tabac:

Ce test, décrit pour la première fois par **Klement en 1963**, permet d'évaluer le pouvoir pathogène (ou la virulence) d'une bactérie phytopathogène à travers la réaction d'hypersensibilité induite sur des feuilles de tabac.

- **Méthodologie :**

1. Préparation de la culture bactérienne:

Chaque souche isolée a été cultivée sur gélose nutritive (GN) et incubée à 28 °C pendant 24 heures.

2. Préparation de la suspension bactérienne:

Une colonie a été prélevée et homogénéisée dans 5 ml d'eau distillée stérile.

3. Préparation des feuilles de tabac:

Des feuilles fraîches ont été prélevées d'une pépinière située à Azzaba, puis lavées à l'eau distillée stérile.

4. L'inoculation :

1 ml de la suspension bactérienne a été injecté dans la nervure principale de chaque feuille à l'aide d'une seringue stérile. L'eau distillée a servi de témoin négatif.

CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODE.

5. Incubation et observation :

Les feuilles ont été maintenues à température ambiante pendant 5 jours. L'apparition de symptômes tels qu'un flétrissement, une nécrose ou des lésions locales a été observée régulièrement afin d'évaluer la réaction hypersensible.



Figure 16: L'hypersensibilité sur les feuilles de tabac (prise personnelle)

3.12 Galerie API 20NE:

Principe :

L'identification a été faite par la galerie rapide API système (bio Mérieux, Marcy-L'étoile ,France) (Analytical profil index). L'API 20NE est un système pour l'identification des bacilles gram négative non -entérobactéries, le système utilise 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés.

- **Technique** :(voir l'annexe)
- **Lecture** :

La lecture des galeries API 20NE a été réalisée conformément aux instructions du fabricant. Après incubation, les résultats des tests biochimiques ont été codifiés en un profil numérique à l'aide de la grille de lecture fournie, permettant l'identification bactérienne via une base de données dédiée.



Figure 17: Galerie Api 20NE (prise personnelle)

3.13 Test de Levane:

Le test de lévane permet de vérifier la capacité de certaines bactéries à synthétiser ce polysaccharide à partir du saccharose. Le lévane, polymère de fructose, est souvent associé à la virulence de certaines bactéries phytopathogènes.

.Protocole : (voir l'annexe)

- **Interprétation des résultats:**

Résultat positif:

Apparition de colonies blanches, convexes et crémeuses, indiquant une activité de l'enzyme levane-sucrase.

Résultat négatif :

Absence de colonies présentant ces caractéristiques, suggérant l'absence de production de levane.

3.14 Test MEVAG (Milieu d'Étude de la Voie d'Attaque des Glucides) :

Le test MEVAG permet de différencier les bactéries selon leur mode de dégradation du glucose : par fermentation, oxydation ou absence d'utilisation. Il est particulièrement utile pour distinguer les entérobactéries (fermentatives) des bactéries oxydatives ou indifférentes.

Le test évalue l'activité métabolique bactérienne en conditions aérobies (présence d'oxygène) et anaérobies (absence d'oxygène).

Chaque souche bactérienne est inoculée par piqûre au centre de deux tubes contenant le milieu MEVAG. L'un des tubes est couvert d'huile de vaseline pour créer une condition anaérobie. Les deux tubes sont incubés à 37 °C pendant 3 à 5 jours.

La fermentation du glucose en condition anaérobie produit des acides organiques, détectables par un changement de couleur de l'indicateur de pH (rouge de phénol devient jaune). En revanche, l'oxydation du glucose (en aérobiose) génère peu d'acides, entraînant une acidification limitée à la surface du tube.(Flandrois ; 2007).

3.15 Test de Fluorescence et Identification des Souches de Pseudomonas :

Le test de fluorescence constitue une méthode complémentaire dans l'identification des bactéries du genre *Pseudomonas*, en particulier pour différencier les espèces capables de produire des pigments fluorescents, tels que la pyoverdine. Ces pigments, typiques de certaines espèces comme *P. fluorescens* ou *P. aeruginosa*, émettent une fluorescence bleu-vert sous lumière ultraviolette.

- **Procédure du test de fluorescence:**

Les souches bactériennes isolées ont été ensemencées sur le milieu King B, spécifique à la détection de la fluorescence. Les boîtes de Pétri ont été incubées à une température comprise entre 28 °C et 30 °C pendant 24 à 48 heures. L'observation a ensuite été réalisée à l'aide d'une lampe UV à 360 nm.

Interprétation des résultats :

- **Fluorescence positive :**

La présence d'une fluorescence bleu-vert indique que la souche produit de la pyoverdine. Cela suggère une appartenance au groupe des *pseudomonades fluorescentes* (comme *P. fluorescens* ou *P. aeruginosa*).

- **Fluorescence négative:**

L'absence de fluorescence est compatible avec des espèces non fluorescentes du genre, telles que *Pseudomonas savastanoi*, ce qui permet d'écartier les espèces fluorescentes et oriente l'identification vers cette espèce phytopathogène.

Ainsi, bien que *P. savastanoi* ne produise pas de fluorescence, ce test demeure utile dans une approche différentielle, notamment pour exclure d'autres espèces du même genre à fluorescence positive

Chapitre 3: Résultats et discussions

4. résultats et discussion :

4.1 Isolation des souches bactériennes :

Pour l'échantillon 01:

Après une incubation de 24 heures à 37°C, l'échantillon a montré une croissance de colonies bactériennes variées en termes de forme, de taille et de couleur. (Voir le tableau).



Figure 18 : échantillon 1 (prise personnelle)

Pour l'échantillon 2 :

Les colonies apparaissent sous différentes formes, avec des bords réguliers ou irréguliers, et varient en taille, en texture et en couleur. Ces caractéristiques morphologiques sont des critères distinctifs qui aident à l'identification préliminaire du type de bactérie.

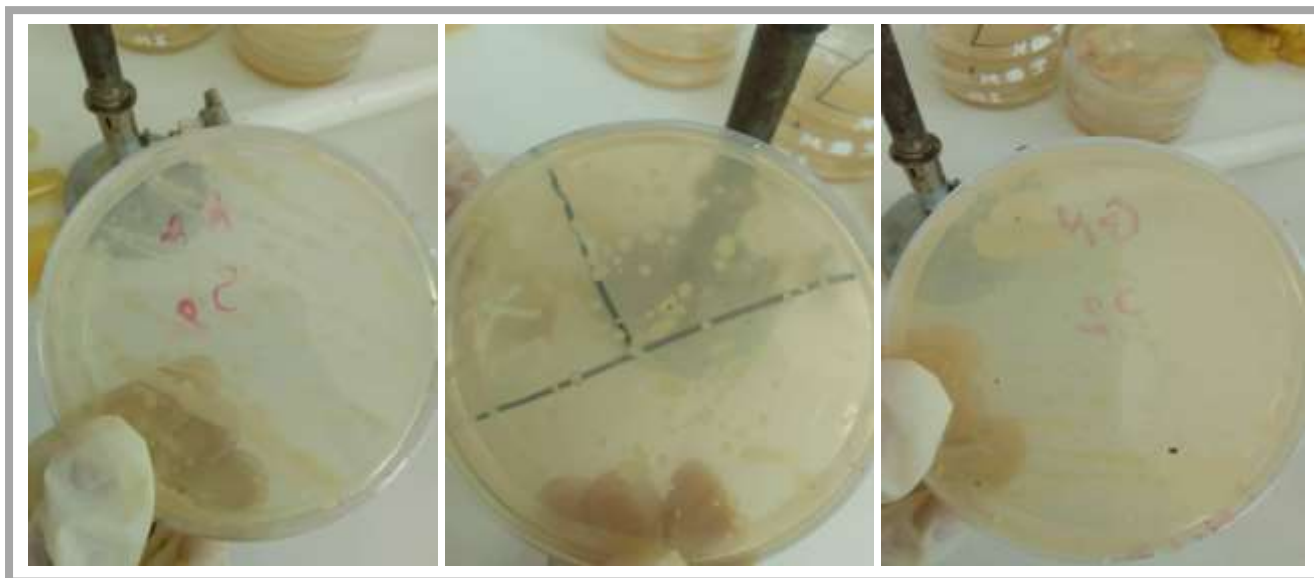


Figure 19: échantillon 2 (prise personnelle)

4.2 Purification des Souches Bactériennes:

Après une incubation de 24 heures à 37°C, les souches bactériennes ont été purifiées à partir des isolats de gélose nutritive (GN).

Après une incubation de 24 h dans l'étuve à 37 °C, on a obtenu 18 souches pures pour les isolats de Gélose nutritive.

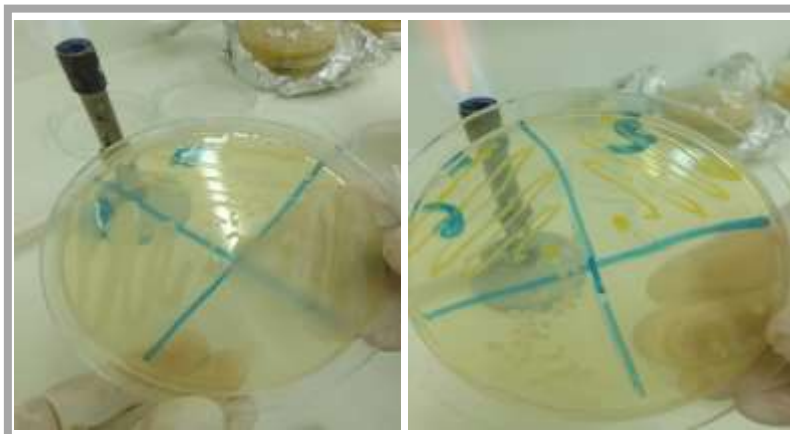


Figure 20 : Résultat de purification sur GN (prise personnelle)

Conservation:

Les tubes conservés au réfrigérateur sont donnent les résultats suivants :



Figure 21 : Résultats de conservation sur GN (prise personnelle)

4.4 Observation macroscopique :

Tableau 5 : Résultats macroscopique des 17 souches isolat.

Souche	Couleur	Aspect	Elévation	Forme
N1	Orange	Crémeux	Bombé	Circulaire
N2	Jaune	Crémeux	Plat	Circulaire
N3	Jaune	Crémeux	Bombé	Irrégulier
N4	Blanche	Crémeux	Plat	Irrégulier
N6	Rose	Crémeux	Bombé	Circulaire
N7	Jaune	Crémeux	Bombé	Circulaire
N8	Jaune et crème	Crémeux	Plat	Circulaire
N9	jaune	Crémeux	Plat	Irrégulier
N10	Crème	Crémeux	Bombé	Irrégulier
M1	Blanche	Crémeux	Bombé	Irrégulier
M2	Jaune	Crémeux	Plat	Circulaire
M3	Blanche	Crémeux	Plat	Irrégulier
M4	Blanche	Crémeux	Plat	Irrégulier
M5	Blanc crème	Crémeux	Plat	Circulaire
M6	Jaune	Crémeux	Plat	Irrégulier
M7	Jaune	Crémeux	Plat	Irrégulier
M8	Blanche	Crémeux	Bombé	Irrégulier

4.5 Observation microscopique :

Nous avons obtenu 17 isolats, dont 14 (77,7%) sont des bacilles voir (tableau 6) et 3 (22,2%) sont des cocci(voir tableau 6) .

On distingue de forme bacilles 10 (71,4%)(N3 , N4, N7, N9, N10, M1, M2, M3, M4 et M8) sont des Bacille Gram Négative et 4 isolat sont des Bacille Gram Négative et 4 isolats (28,5%)(N1, N2, M5 et M6) des bacilles Gram Positif.

De forme cocci 3 (100%)(N8, N7et M7) Gram positif.

Tableau 6 : résultats microscopique des isolats des BGN


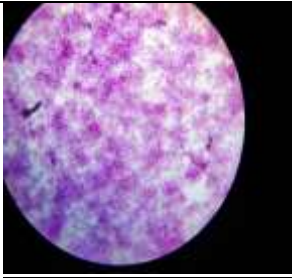
Souche	Gram	Aspect des cellules	Observation microscopique
S1N3	-	Bacille	
S1N4	-	Bacille	

Tableau 7: résultats microscopique des isolats des bacilles gram positif.

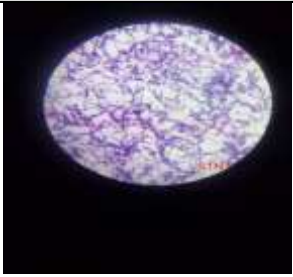

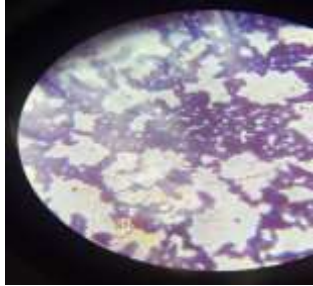
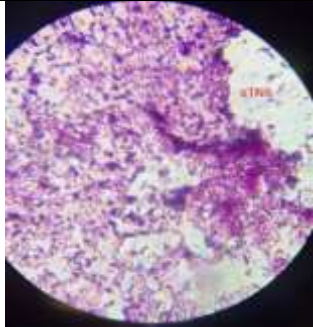
Souche	Gram	Aspect de cellule	Observation
S1N1	+	Bacille	
S1N2	+	Bacille	

Tableau 8 :résultat microscopique des isolats des cocci positif.

Souche	Gram	Aspect de cellule	Observation
S1N8	+	Cocci	
S1N6	+	Cocci	

4.5 Test de levane:

Après une incubation de trois jours, une croissance de colonies blanchâtres, convexes et à aspect crémeux a été observée chez les souches(M2... M8)(N1... N10) Ce résultat traduit la polymérisation du fructose en polyfructose par ces souches, indiquant ainsi qu'elles sont positives au test au lévane et possèdent l'enzyme lévane-sucrase.

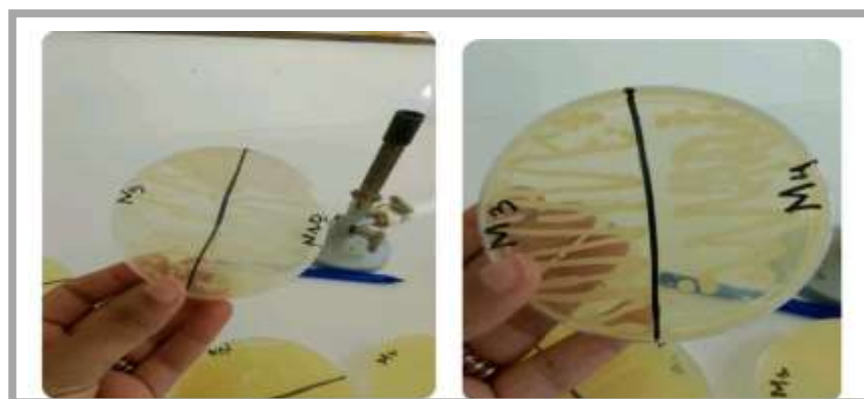


Figure 22 : Résultat du test Levane des souches (prise personnelle)

4.6 Résultats du test MEVAG:

Seulement quatre tubes ont montré un changement de couleur, que ce soit en condition oxydative ou fermentative. Cela indique que les souches présentes dans ces tubes ont pu métaboliser les glucides

et acidifier le milieu. En revanche, les autres tubes n'ont présenté aucun changement de couleur, ce qui signifie que les souches correspondantes n'ont pas été capables de dégrader les glucides ni par voie oxydative ni par voie fermentative. Ces résultats permettent de différencier les espèces microbiennes et d'affiner l'identification des souches testées.



Figure 23 : Résultats de test mevag (prise personnelle)

4.7 Test catalase:

Les souches N3, N4, N10, M4 et M8 sont de catalase positif et les souches N7,N9, M1, M2 et M3 sont de catalase négatif.(Voir le tableau 9).

Souche 1 :

Tableau 9 : Résultat test catalase souche 1.

Les souches (BGN)	Catalase
N3	+
N4	+
N7	-
N9	-
N10	+

Souche 2 :

Tableau 10 : Résultat test catalase souche 2.

Les souches (BGN)	Catalase
M1	-
M2	-
M3	-
M4	+
M8	+

+ : résultats de catalase positif.

- : résultat de catalase négatif.

BGN : bacille a gram négatif.






Figure 24: Résultats test catalase (prise personnelle)

4.8 Test coagulase:

Résultats Observés :

Souches Coagulase Positives N6, N8, M7: Ces souches montrent la formation d'un caillot dans le plasma, confirmant qu'elles sont *Staphylococcus aureus*. (Voir le tableau 11)

Tableau 11 : Résultat test coagulase

Les souches (cocci +)	Coagulase	observation
S1N6	+	
S1N8	+	
S2M7	+	

+ : résultat positif.

4.9 Test oxydase :

Tableau 12 : Résultat test oxydase.

Les souches (BGN)	Oxydase
S1N3	+
S1N4	+
S2M1	+
S2M2	+

+ : résultat positif.



Figure25 : Résultat test oxydase (prise personnelle)

4.10 Test d'activité pectinolytique :

Tableaux 13 : Résultat activité pectinase.

Les souches BGN	Pectinase	Les souches BGP	Pectinase
S1N3	+	S1N1	+
S1N4	-	S1N2	+
S1N7	-	S2M5	+
S1N9	+	S2M6	+
S1N10	+	/	/
S2M1	+	/	/
S2M2	+	/	/
S2M3	+	/	/
S2M4	+	/	/
S2M8	+	/	/

BGN: Bacilles à Gram négatif

BGP: Bacilles à Gram positif

+ : positif

- : négatif

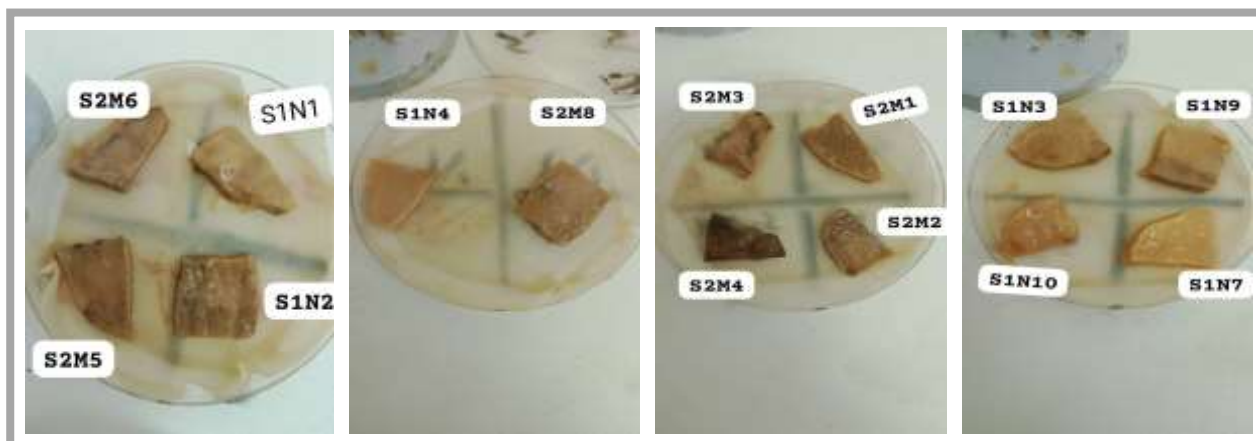
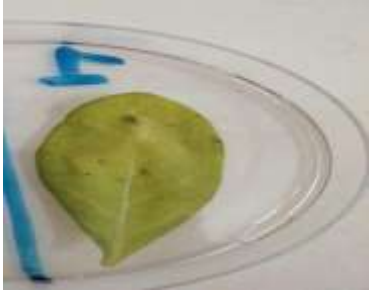












Figure 26: Résultat activité pectinase (prise personnelle)

4.11 Test d'hypersensibilité des feuilles de tabac :

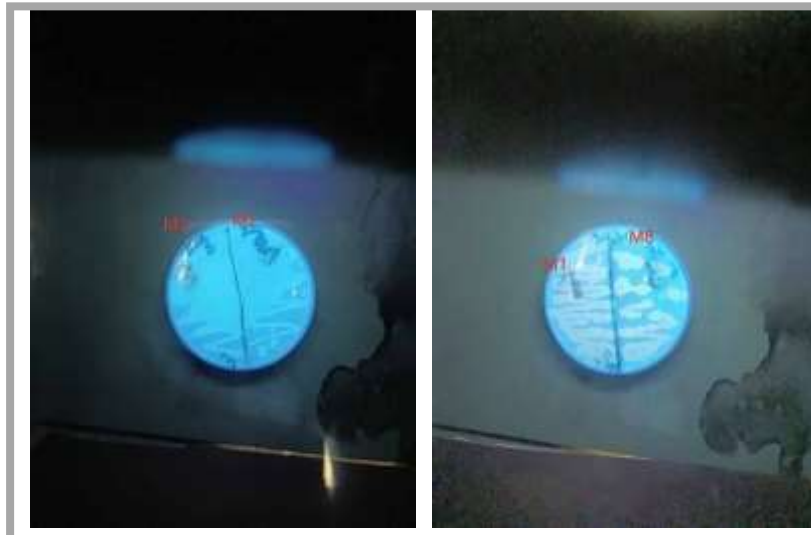
Tableau 14 : Résultat du test d'hypersensibilité des feuilles de tabac..

Les souches	Après 3 jours	Les résultats
M1		+
M2		-
M3		+

M8		+
N3		-
N4		
N7		+
N9		+

N10		+
M4		+
Témoin		/

4.12 Test de fluorescence:



Figures27 : Résultat de test de fluorescence. Résultat positif pour les Souches M3, M2. Résultat négatif pour les souches M1, M8 (Prise personnelle)

Fluorescence Positive :

Observation :

Les souches montrent une fluorescence bleu-verte sous lumière UV, indiquant la production de pyoverdine. (un pigment fluorescent bleu-vert)

Ces souches appartiennent au genre *Pseudomonas* et sont souvent phytopathogènes

Résultats Observés :

Souches Fluorescentes : M1, M8, N4 ; N9, N10.

Ces souches présentent la capacité de produire des pigments fluorescents lorsqu'elles sont cultivées dans un milieu pauvre en fer, ce qui constitue une caractéristique distinctive des *Pseudomonas fluorescens* et témoigne de leur activité métabolique en conditions de stress nutritif.

Fluorescence Négative :

Observation : Les souches étudiées ne présentent pas de fluorescence bleu-vert sous lumière UV, ce qui indique l'absence de production de pyoverdine, un pigment fluorescent caractéristique du genre *Pseudomonas*.

Cette absence de fluorescence suggère que ces souches n'appartiennent pas au genre *Pseudomonas* ou qu'elles sont des souches non phytopathogènes.

Résultats Observés :

Souches non Fluorescentes : M3, M2, N7, N3, M4.

Ces souches ne présentent pas la capacité de produire des pigments fluorescents lorsqu'elles sont cultivées dans un milieu pauvre en fer, ce qui indique l'absence de cette caractéristique distinctive des *Pseudomonas fluorescens* et suggère une activité métabolique différente en conditions de stress nutritif.

Tableau 15 : Résultats du test de fluorescence.

Les souches	Fluorescence
M1	+
M2	-
M3	-
M4	-
M8	+
N3	-
N7	-
N9	+
N4	+
N10	+

4.13 Résumé des résultats des tests biochimiques (LOPAT)Fluorescence et Pathogénicité :

Pour fournir un résumé complet, il est utile de compiler les résultats dans un Tableau, intégrant les tests biochimiques (LOPAT), la fluorescence et le test de pathogénicité .

Ces résultats permettent de caractériser et identifier les souches bactériennes, en déterminant leurs propriétés biochimiques et leur potentiel pathogène. En particulier :

Identification des Pathogènes : Les résultats des tests d'oxydase, de levane, et de pectinase sont utiles pour identifier les pathogènes et leur capacité à causer des maladies .

Gestion des Maladies : La connaissance des souches positives pour la pectinase et la catalase peut aider à élaborer des stratégies de gestion des infections dans les cultures.

Tableau 16 : Résumé des résultats des tests biochimiques (LOPAT), fluorescence et test de Pathogénicité

Souches Tests	N4	M8	M1	N10	M3
Coloration de gram	-	-	-	-	-
Levane	+	+	-	+	+
Oxydase	+	+	+	+	+
Pectinase	-	+	+	+	+
Hypersensibilité du tabac	-	+	+	+	+
Catalase	+	+	-	+	-
Mevag	-	-	-	+	+

- : négatif.

+ : positif.

4.14 Galerie ApiNE :

Après l'inoculation, la galerie est incubée à 37°C pendant 24 heures. Le métabolisme bactérien entraîne des changements de couleur. Tout autre test nécessite l'ajout d'un 1 ml de réactif (NIT1, NIT2 dans la cupule No3).

Identification des souches bactériennes:

M3 et N4 : *Pseudomonas savastanoi*

M8 et N9 : *Pseudomonass fluorescens*

M1: *Pseudomonass aeruginosa*

N3 , N7 ,N10, M4 , M2: *Bukholderiacepacia* (anciennement appelé *Pseudomonas cepacia*)



Figures 28 : La souche N4 et M3 avant l'ajout du réactif.



Figures 29 : La souche M3 et N4 après l'ajout du réactif

5. Discussion :

Les observations morphologiques initiales ont permis d'isoler plusieurs colonies à partir de tumeurs d'oliviers prélevées dans la wilaya de Skikda. Les colonies crémeuses, de couleur jaune pâle à blanchâtre, correspondaient aux descriptions classiques de *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv), principal agent responsable de la tuberculose de l'olivier (**Surico et Marchi ; 2003**). L'observation de colonies fluorescentes sur le milieu King B a permis d'identifier certaines souches comme appartenant au groupe des *Pseudomonas fluorescens* bien que *Pseudomonas savastanoi* elle-même n'émette pas toujours de fluorescence, ce caractère étant variable selon les souches et les conditions environnementales (**Hassouna et al. ; 2022**).

L'identification biochimique via le test LOPAT a confirmé que les souches M3 et N4 présentaient les profils typiques de *P. savastanoi*, notamment une réaction positive à la catalase, à l'oxydase et une hypersensibilité au tabac. Toutefois, une divergence a été observée concernant la production de lévane : alors que la majorité des souches de Psv sont classiquement lévane-négatives (**Hassouna et al ; 2022**), la souche M3 s'est révélée lévane-positif. Ce type de variation, bien que rare, a déjà été signalé en Italie par (**Marchi et al. 2005**), suggérant une plasticité biochimique au sein même de l'espèce.

Un autre point notable est l'activité pectinolytique. *P. savastanoi* est généralement considérée comme pectinase-négative, ce qui la distingue d'autres phytopathogènes qui utilisent la dégradation des parois végétales pour envahir les tissus (**Schaad et al ; 2001**). Dans ce travail, la souche N4 s'est conformée à ce caractère, mais la souche M3 a produit de la pectinase, ce qui pourrait indiquer une adaptation ou une acquisition de fonctions supplémentaires permettant une colonisation plus agressive. Cette exception souligne encore une fois la variabilité intra spécifique de *P. savastanoi*.

Le test d'hypersensibilité sur feuilles de tabac a montré que les souches M4, M1, N10 et M3 induisaient une nécrose localisée, caractéristique des bactéries phytopathogènes. Cette réaction constitue un test fiable pour évaluer la virulence de certaines souches. Elle est fréquemment utilisée comme outil de différenciation fonctionnelle entre pathogènes et bactéries endophytes inoffensives.

L'identification par la galerie API a mis en évidence une diversité bactérienne au sein des tumeurs. Outre *P. savastanoi*, d'autres espèces ont été détectées, telles que *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Burkholderiacepacia* et *Staphylococcus aureus*. *B. cepacia* est connue pour sa capacité à dégrader de nombreux composés organiques et à fixer l'azote, mais elle est aussi impliquée dans des pathologies nosocomiales (**Prescott, 2018**). Quant à *S. aureus*, son isolement dans les galls pourrait

résulter d'une contamination environnementale ou indiquer une réelle cohabitation microbienne. Ces résultats appuient l'idée que les nodosités ne sont pas des structures monospécifiques, mais hébergent un véritable pathobiome, incluant bactéries phytopathogènes, saprophytes, et parfois même champignons (**Iacobellis et al., 2018 ; Zucchini et al., 2023**).

L'interaction entre ces espèces pourrait être régulée par des systèmes de Quorum Sensing (QS), un mécanisme de communication intercellulaire bactérienne impliquant des auto-inducteurs comme les AHLs (N-AcylHomoserine Lactones). Chez *P. savastanoi*, ce système joue un rôle fondamental dans la régulation de la virulence, la production d'hormones végétales et la formation des nodosités (**Buonaurio et al ; 2015**).

Par ailleurs, des essais d'inoculation sur différents hôtes végétaux ont montré que *Pseudomonass savastanoi* est capable d'induire des symptômes chez certaines espèces comme la carotte, mais pas chez d'autres (**A. Al-Obaidy, 2023**), ce qui démontre une certaine spécificité d'hôte. En Algérie, l'inoculation de jeunes plants d'olivier certifiés a conduit à l'apparition de galles après 4 à 5 semaines, confirmant la pathogénicité du pathogène local (**Hassouna et al., 2022 ; Surico et al., 1985**).

Enfin, la prévalence de la maladie dans les régions oléicoles algériennes a été largement documentée, notamment dans les wilayas de Bouira, TiziOuzou et Béjaïa (**Hassouna et al ; 2022**). Une étude menée par (**Chliyeh et al ; 2017**) a même classé l'Algérie parmi les pays les plus touchés du bassin méditerranéen. Ces données renforcent la nécessité d'une surveillance continue, d'un diagnostic précoce, et d'une gestion phytosanitaire intégrée pour limiter les pertes agricoles

Conclusion :

La tuberculose de l'olivier, causée par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, constitue une menace majeure pour l'oléiculture en Algérie. Cette étude préliminaire, menée sur des oliviers symptomatiques de la wilaya de Skikda, a permis l'isolement et la caractérisation phénotypique de plusieurs souches bactériennes associées aux galles.

Au total, 17 souches ont été isolées à partir de tissus tumoraux. Parmi elles, trois étaient des cocci Gram positif, quatre des bacilles Gram positif, et dix des bacilles Gram négatif. L'identification biochimique à l'aide de la galerie API 20NE a révélé la présence de *Burkholderiacepacia* (5 souches), *Pseudomonas fluorescens* (2 souches), *Pseudomonas aeruginosa* (souche M1) ainsi que deux souches confirmées comme *Pseudomonas savastanoi*. Cette dernière a été identifiée comme l'agent étiologique de la maladie, caractérisé par sa morphologie de bacille Gram négatif, mobile, oxydase et catalase positif.

Ces résultats confirment l'implication de *P. savastanoi* dans la pathogénie des galles observées, tout en mettant en évidence la présence d'un microbiote complexe associé aux tumeurs. La diversité bactérienne identifiée suggère l'existence possible d'interactions interspécifiques pouvant influencer la sévérité ou l'évolution de la maladie.

Toutefois, la compréhension complète des mécanismes de propagation et des facteurs environnementaux influençant l'épidémiologie de la maladie reste à approfondir. Des investigations complémentaires, notamment moléculaires, sont nécessaires pour préciser le rôle des différentes souches co-isolées, ainsi que l'impact de leurs interactions sur la virulence de *P. savastanoi*.

Dans cette perspective, il serait judicieux d'élargir les analyses par des approches de biologie moléculaire (PCR, séquençage) pour confirmer l'identité génétique des souches isolées et détecter d'éventuelles variations intra-espèces. Par ailleurs, la mise en place d'essais in planta, sur oliviers sains en conditions contrôlées, permettrait de mieux évaluer le pouvoir pathogène des souches identifiées. Enfin, l'évaluation de l'efficacité d'extraits naturels ou de formulations biologiques alternatives à base de microorganismes antagonistes constitue une voie prometteuse pour la mise en place de stratégies de lutte intégrée, respectueuses de l'environnement et adaptées aux spécificités locales.

Références bibliographiques :

AgriAlgérie. (2024, janvier 15). L'Algérie en voie de réussir son programme d'un million d'oliviers d'ici 2024. AgriAlgérie.

A Al-obaidy, Ghaith A. 2023. "In Vitro Pathogenicity of *Pseudomonas savastanoi* Isolated from Olive Trees in Iraq on Fruits of Various Plant Species and Their Molecular Characterisation." *American Journal of Biomedical Science & Research* 19 (1): 108–12

Cheesbrough, M. (2006). *District laboratory practice in tropical countries (Part 2, 2nd ed.)*. Cambridge University Press.

Chliyeh, M., OuazzaniTouhami, A., Selmaoui, K., Benkirane, R., & Douira, A. (2017). Inventory and world geographical distribution of the olive tree (*Olea europaea L.*) diseases caused by viruses, bacteria and phytoplasma. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2(3), 1410–1440.

Klement, Z. (1963). Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic pseudomonads. *Nature*, 199(4890), 299–300.

Marchi, G., Viti, C., Giovannetti, L., & Surico, G. (2005). Spread of levan-positive populations of *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi*, the causal agent of olive knot, in central Italy. *European Journal of Plant Pathology*, 112(2), 101–112.

Mendil, M., & Sebai, A. (2007). Aperçus sur le patrimoine génétique autochtone (pp. 11–100). Institut de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne.

Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR). (2011). *Statistiques agricoles 2010* (Direction des statistiques agricoles). Alger: MADR.

Montesinos, E., & López, M. M. (1996). Méthodes de contrôle des bactérioses. In G. Llácer, M. M. López, A. Trapero, & A. Bello (Eds.), *Patología Vegetal* (pp. 653–678). Sociedad Española de Fitopatología – Phytoma España, S.L. – Grupo Mundi-Prensa, S.A.

Moretti, C., Cangelosi, B., Ialacci, L., & Giovannelli, L. (2014). Phenotypic and genotypic diversity of *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* isolates from olive in Italy. *European Journal of Plant Pathology*, 140(3), 579–591.

Moretti, C., Hosni, T., Vandemeulebroecke, K., Buonauro, R., & Martins dos Santos, V. A. P. (2014). Draft genome sequence of the olive knot pathogen *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* strain DAPP-PG 722. *Genome Announcements*, 2(1), e01193-13.

Nadir, B. (2024, janvier). L'huile d'olive, l'autre tout! Le Carrefour d'Algérie.

Names of plant pathogenic bacteria 1864–1995. (1996). *Review of Plant Pathology*, 75(9), 721–763.

Passos da Silva, D., Cortese, B., Bella, P., Horesh, G., & López, M. M. (2014). La maladie du chancre de l'olivier comme modèle pour étudier le rôle des communautés bactériennes interspécifiques dans les maladies des plantes. *Frontiers in Plant Science*, 5, 280.

Penyalver, R., López, M. M., & Biosca, E. G. (2006). Interactions between *Pseudomonas savastanoi* and olive: virulence and defense responses. *Plant Pathology*, 55(4), 553–562.

Produits méditerranéens. (s.d.). Rapport sur la production des olives dans la région méditerranéenne, avec un focus sur l'Espagne, l'Italie, la Tunisie et la Grèce.

Protta, U. (1995). Le malattia dell'olivo. *Informatore Fitopatologico*, 12, 16–26.

Quesada, J. M., Penyalver, R., Pérez-Panadés, J., Salcedo, C. I., Carbonell, E. A., López, M. M., & Murillo, J. (2012). Disease progression and dynamics of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations in olive knots. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(15), 5601–5611.

Quesada, J. M., Rangel, L. I., Pérez-Mendoza, D., García-Vázquez, E., & Rodríguez-Palenzuela, P. (2010). Effects of copper compounds on *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations and olive knot disease under Mediterranean conditions. *Phytopathology*, 100(12), 1269–1277.

Revue scientifique spécialisée en pathologie végétale. (s.d.). Les études sur les maladies des oliviers, telles que celles liées aux tumeurs des nœuds, sont souvent publiées dans des revues comme *Plant Disease*, *Journal of Phytopathology*, ou *Olive Oil Science and Technology*.

Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (2001). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria* (3rd ed.). APS Press.

Scheuerell, S. J., & Mahaffee, W. F. (2002). Compost tea: Principles and prospects for plant disease control. *Compost Science & Utilization*, 10(4), 313–338.

- Schroth, M. N., et al.** (1973). The effect of tumors on olive trees. *Recherche universitaire et études en oléiculture*.
- Schwingshackl, L., et al.** (2018). Impact of olive oil on cardiovascular health: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*, 10(4), 405.
- Scrivani, P., & Bugiani, E.** (1955). Ricerche sulla possibilità di lotta contro il "mal del piombo" dell'olivo con antibiotici. *Annali della Sperimentazione Agraria*, 9, 107–115.
- Senhaji, A.** (1999). Problématique de la tuberculose de l'olivier dans le plateau du Saiss [Mémoire de fin d'études, Université (non spécifiée)].
- Servili, M.** (2009). Extra virgin olive oil phenols: absorption, metabolism, and biological activities in the GI tract. *Toxicology and Industrial Health*, 25(9–10), 285–293.
- Surico, G., & Lavermicocca, P.** (1989). Un milieu semi-sélectif pour l'isolement de *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*. *Phytopathology*, 79, 185–190.
- Surico, G., & Marchi, G.** (2003). Olive knot disease. In N. S. Iacobellis et al. (Eds.), *Pseudomonas syringae* and related pathogens: Biology and genetics (pp. 17–28). Springer.
- Surico, G., Comai, L., & Kosuge, T.** (1984). Pouvoir pathogène des souches de *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* et de leurs mutants déficients en acide indole-acétique sur l'olivier et le laurier-rose. *Phytopathology*, 74(4), 490–493.
- Surico, G., Evidente, A., & D'Ascenzo, M.** (1975). Identification of gibberellin A3 in cultures of *Pseudomonas savastanoi* (Smith) Stevens, the causal agent of olive knot. *Phytopathologia Mediterranea*, 14(2–3), 163–165.
- Surico, G., Iacobellis, N. S., & Sisto, A.** (1985). Studies on the role of indole-3-acetic acid and cytokinins in the formation of knots on olive and oleander plants by *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*. *Physiological Plant Pathology*, 26.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L.** (2018). *Microbiologie* (13^e éd.). Pearson Éducation.
- Tousignant, N.** (2018). L'olivier en Méditerranée: une culture millénaire. Perspectives historiques et environnementales. *Cahiers d'histoire. Revue d'histoire critique*, (140), 111–132.
- Wilson, E. E., & Ogawa, J. M.** (1979). Fungal, bacterial, and certain nonparasitic diseases of fruit and nut crops in California. Division of Agricultural Sciences, University of California.
- Young, J. M., et al.** (2004). Relative tolerance of nine olive cultivars to *Pseudomonas savastanoi* causing bacterial knot disease. *Phytopathologia Mediterranea*, 43(3), 395–402.

Young, J. M., Saddler, G. S., Takikawa, Y., De Boer, S. H., Vauterin, L., Gardan, L., Gvozdyak, R. I., & Stead, D. E. (1996). Names of plant pathogenic bacteria 1864–1995. Review of Plant Pathology, 75(9), 721–763.

Zohary, D. (1973). Domestication of pulses in the Old World. Science, 182, 887.

Zohary, D., & Spiegel-Roy, P. (1975). Beginning of fruit growing in the Old World. Science, 187, 319–327.

Zucchini, M., Maoloni, A., Lodolini, E. M., Ferrocino, I., Aquilanti, L., & Neri, D. (2023). Knot formation and spread along the shoot stem in 13 olive cultivars inoculated with an indigenous pathobiome of 7 species of *Pseudomonas* including *Pseudomonas savastanoi*. PLoS ONE, 18(9), e0289875.

ANNEXES

Annexe A : Compositions des milieux de cultures

Milieux de culture (g/l) :

King B :

- Mélange de peptone 20.0g/l
- Phosphate dipotassique 1.5g/l
- Sulfate de magnésium 1.5g/l
- Agar bactériologique 14.0g/l
- PH final : 7.0±0.2 à 25 C

King A :

- Peptone. 20,0g/l
- Sulfate de potassium 10,0 g/l
- Chlorure de magnésium 1,4g/l
- Aga 15,0 g/l
- PH final à 25°C : 7,2 ± 0,2 à 25°C

Gélose nutritive :

- Extrait de viande 3g/l
- Peptone 5 g/l
- Chlorure de sodium 5 g/l
- Agar 15 g/l
- Eau distillée 1L
- PH final = 7,2 ±0,2 à 25°C

Levane :

- Extrait de levure 2 g/l
- Peptone. 5 g/l
- Na Cl. 5 g/l
- Saccharose 50 g/l
- Gélose. 20 g/l
- Eau distillée. 1L
- PH final : 7.0-7.2

MEVAG

- Macération de viande 50g/l
- KCl 5g/l
- Rouge de phénol 10g/l
- Agar. 3g/l
- (+ GLUCOSE), PH Final =7-7

Appareillage :

Bec bunsen, Agitateur, Bain marie, Pipette pasteur, Réfrigérateur, Erlenmeyer, Entonnoir en verre, Balance, Autoclave, Anse de platine, Microscope

Verrerie

Béchers, Lame et lamelle, Boite pétri, Flacon, Tube à essai ; la chambre noire , Papier filtre , Tubes eppendorf.

Annexe B : protocoles et techniques.

Coloration de gram :

Le protocole :

1. Préparation du frottis :

- Mentionner la référence de la bactérie sur la lame
- Mettre quelques gouttes d'eau distillée stérile sur la lame
- Faire émulsionner la colonie dans les gouttes d'eau sur lame étalez en couche mince avec des mouvements circulaires

2. Fixation du frottis :

- Passer la lame dans la flamme du bec bunsen

3. La coloration du gram :

- Recouvrir au violet de Gentiane (cristal violet) pendant 1min. Eliminer l'excès par l'eau courante.
- Ajouter du Lugol (mordant) et appliquer pendant 1min, jeter l'excès par l'eau courante.
- Traiter à l'alcool 95° pendant quelques secondes (10-15 secondes), puis rinçage à l'eau.
- Recolorer à la Fuschine (safranine) pendant 60 à 75 secondes, rinçage à l'eau puis séchage.

Le protocole du test catalase :

1. Prélèvement de la colonie bactérienne :

Prélever une petite quantité de la culture bactérienne à l'aide d'une boucle bactériologique stérile.

2. Application sur la lame :

Déposer la culture bactérienne sur une lame propre et sèche .

3. Ajout du peroxyde d'hydrogène :

Ajouter une goutte de H₂O₂ à 3 % sur la colonie, étaler sur la lame.

4. Observation :

Observer immédiatement la formation des bulles (réaction gazeuse)

Protocole coagulase :

Test de coagulase sur lame :

1. Préparation de la lame : une goutte du plasma d'humaine est déposée sur une lame propre et stérile.
2. Inoculation de l'échantillon : Prélevé une petite quantité de la culture bactérienne à l'aide d'une boucle bactériologique et déposer sur la lame.
3. Mélanger la culture bactérienne doucement sur la surface du plasma.
4. Observer visuellement la formation d'un caillot dans le plasma en moins de 10 secondes. si la souche bactérienne est coagulase positif Comme *S.aureus*, le plasma coagulera et formera un caillot visible sur la lame, en revanche, si la souche est coagulase négatif, aucun caillot ne se formera (*Cheesbrough ; 2006*).

Protocole du test oxydase :

- 1- Pour réaliser ce test, un disque d'oxydase est déposé sur une lame stérile.
- 2- À l'aide d'une anse stérile, prélever une colonie bactérienne fraîche et la déposer délicatement sur le disque préalablement humidifié.
 - L'apparition d'une coloration violette en quelques secondes indique un résultat positif, traduisant la présence de l'enzyme oxydase.
 - À l'inverse, l'absence de coloration signale un résultat négatif.

Protocole de l'activité pectinolytique:

- 1- Les morceaux de pommes de terre ont été stérilisés à l'éthanol, puis soigneusement lavés à l'eau distillée pour éliminer toute trace de désinfectant.
- 2- Les morceaux stérilisés ont été placés dans des boîtes de Pétri contenant du papier filtre humidifié avec l'eau distillée, afin d'assurer un environnement humide favorable à la croissance.
- 3- À partir de chaque échantillon, une colonie a été prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile et déposée au centre du morceau de pomme de terre.
- 4- L'incubation a été réalisée à une température constante de 30°C pendant cinq (5) jours, afin de permettre la croissance et l'observation des isolats étudiés.

Technique de test de Levane :

1- Préparation du milieu de culture

Un milieu spécifique, appelé milieu agar-saccharose, est utilisé pour ce test.

- Sa préparation consiste à dissoudre du saccharose dans un milieu contenant de l'agar.
- Suivi d'une stérilisation par autoclave.
- Le milieu stérilisé est ensuite coulé dans des boîtes de Pétri et laissé à solidifier à température ambiante.

2- Inoculation des cultures bactérienne:

- À l'aide d'une anse stérile, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée.
- puisensemencée par stries sur la surface du milieu solidifié.
- Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 30 °C pendant une durée de 3 à 5 jours.

Technique du test de fluorescence :

1- Préparation du milieu : Le milieu King B, spécifique à la détection de la fluorescence bactérienne, est utilisé.

2- Inoculation des souches : Les souches bactériennes sontensemencées sur le milieu King B.

3- Incubation : Les boîtes de Pétri sont incubées à une température comprise entre 28°C et 30°C pendant 24 à 48 heures, afin d'observer le développement bactérien et l'apparition éventuelle de la fluorescence.

4- Observation sous lumière UV : Les milieux de culture ont été examinés à l'aide d'une lampe UV émettant à une longueur d'onde de 360 nm, afin de détecter un éventuel éclat fluorescent bleu-vert.

Annexe C :la galerie API.

Préparation de suspension bactérienne pour l'API 20NE.

- Dans un tube à essai stérile mettre 5ml d'eau physiologie.
- A l'aide d'une anse de platine prélève la souche précisée.
- Mélanger les deux compositions pendant 2min pour obtenir la suspension.