

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT D'AGRONOMIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Phytoprotection

Présenté par :

RAFED Hayet & BELKACEM Hassiba

Thème

**Diagnostic et isolement de l'agent responsable de la maladie
bactérienne dans la wilaya de Bouira**

Soutenu le : 01/07/ 2018

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M. LAMIN Salim</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. TAFIFET Lamia</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme. MABDOUA Samira</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2017/2018

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

Tout d'abord un grand merci pour l'encadrement Mme. Tafifat Lamia, votre présence et votre disponibilité permanente, pour vos conseils et votre soutien, et pour m'avoir fourni ses idées nécessaires à l'expérimentation, ayant permis la réalisation sans difficulté du présent travail.

M.Lamine Salim Maitre assistante B à l'Université Akli Muhand Oulhadj Bouira, que nous remercions pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Mme.Mabdoua Samira Maitre assistant A à l'Université Akli Mohand Oulhadj Bouira, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

En fin, Je suis agréable d'exprimer notre remerciement à tout notre ami qui m'a aide pour le bon achèvement de ce travail.

Je dédie ce modeste travail à la mémoire de nos familles qu'ils reposent en paix, notre parent, source de tendresse et de courage, a mes frères.

A mes amis de spécialité de Protection des végétaux qui font notre équilibre, pour leur présence dans notre vie.

Merci à toute ma famille pour leur soutien et leur amour qui m'ont permis de devenir la personne que je suis...

DIDECACE

Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de nous avoir guider vers le droit chemin, de nous avoir aidées tout au long de nos années d'étude.

Je dédie ce rapport du mémoire à toute ma famille, ma mère farida mon père lakhdare , mes frères walid et amare

Je le dédie aussi à tous mes oncles et tantes, cousins et cousines.

Je ne saurai terminer sans citer mes amis,najia yasmine samia chahera

Enfin je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités et à tous ceux qui me connaissent.

Hassiba

DIDECACE

A mes très chers parents salem et barkahoum qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour

A mes chers frères. Samir ; mourad alilo ; oussama bilbel ; naima ; akila , faiza ; hanan ;

A mes chers amis ; yasmine ; samah ; hanane , nadjia ; ilham ; khadidja ; kaltoum .

A chaque cousins et cousines.

A l'encadrement Mme. TAFIFAT....., votre présence et votre disponibilité permanente, pour vos conseils et votre soutien, et pour m'avoir fourni ses idées nécessaires l'expérimentation, ayant permis la réalisation sans difficulté du présent travail.

HAYET

Liste des figures :

Figure n° 1 : Morphologie bactérie <i>Erwinia amylovora</i> vue au microscope optique	4
Figure n° 2 : les symptômes de feu bactérien	8
Figure n° 3 : Cycle de développement du feu bactérien, causé <i>E. amylovora</i> , chez les <i>Maloidées</i>	10
Figure n° 4 : Momification des jeune fruits qui restant sur l'arbre (a droite), brulure des feuilles et des jeunes pousses a droite.....	22
Figure n° 5 :l'observation des exsudats.....	22
Figure n° 6 : la structure de colonie bactérienne sur le milieu KB	24
Figure n° 7 : la structure de colonie bactérienne sur le milieu levane	24
Figure n° 8 : résultat de test de gram	25
Figure n° 9 : résultat positif du test catalase.....	25
Figure n° 10 : résultats de teste d'oxydase.....	26
Figure n° 11 : résultats de test fluorescence sur King B.....	26
Figure n° 12 : résultats de tabac	27

Liste des tableaux :

Tableau n°1 : Les plasmides décrits chez <i>Erwinia amylovora</i> ainsi que leurs principales caractéristiques	5
Tableau n°2 : principales plantes hôtes du feu bactérien de la famille des <i>Rosaceae</i>	7
Tableau n°3: matériel végétal prélevé	18
Tableau n°4 : résultats des tests d'identification (biochimiques, biologique).....	28

Liste des abréviations

OEPP : organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plates

MADR : Ministère de l'Agriculture et de Développement Rural et de la pêche

PCR : polymérase Chain Réaction

KOH : hydroxydes de potassium

Na Cl : chlorure de sodium

Ha : hectare

H : heure

Sommaire

Liste des abréviations

Listes de figures

Listes de tableaux

Introduction1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I-1- Généralités sur l'agent causal de la maladie de feu bactérien.....	3
I-2-Taxonomie	3
I-3-Caractéristiques générales:	
I-3-1-Caractéristiques morphologiques	3
I-3-2-Caractéristiques biochimiques et génétiques.....	4
I-4-composants de surface cellulaire et extracellulaire : LPS (lipopolysaccharide)	5
I-5-Plante hôtes	6
I-6-Symptômes	8
I-7- Cycle biologique de la maladie du feu bactérien.....	9
I-8-Les facteurs de virulence de la bactérie	10
I-8-1-Système d'acquisition du fer	11
I-8-2- Le système de sécrétion de type III	11
I-8-3- Exopolysaccharide (EPS)	12
I-9-Importance économiques des Rosacées en Algérie	12

I-10-Les pertes économiques dues au feu bactérien.....	13
I-11-La lutte contre <i>d'Erwinia amylovora</i>	14
I-11-1-Méthodes préventives et culturales	14
I-11-2- La lutte génétique	14
I-11-3- La lutte chimique	15
I-11-4- Lutte biologique	16

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-Présentation de la willaya de Bouira :

II-1-Situation géographique	17
II-2- Echantillonnage	17
II -3-Prélèvement de l'échantillon pour l'analyse	18
II -3-1-Désinfection des échantillons.....	19
II -3-2- Isolement	19
II-4-Purification et identification	19
II-5-Tests biochimiques	20
II-5-1-Test de potasse indicateur de GRAM.....	20
II-5-2-Test de Catalase :.....	20
II-5-3- Test d'oxydase.....	20
II-5-4- Test de fluorescence sur King b	20
II-5-5-Test d'hypersensibilité sur le tabac	21

Chapitre III : Résultat et Discussion

III-1- L'observation des symptômes.....	22
III-2-Obtention des isolats	23
III-3-Description morphologiques des isolats	23
III-4-Résultats des tests biochimiques.....	24
III-4-1-Résultats de Test de Gram	24
III-4-2-Teste de catalase	25
III-4-2-Résultats du Test d'activité cytochrome oxydase.....	26
III-4-3-Teste de fluorescence sur King B	26
III-5-Résultats de Test biologique	27
III-5-1-Teste hypersensibilité sur tabac (HR)	27
III-6- Discussion	29
Conclusion	32
Référence bibliographique	34

Introduction

Les Rosacées forment une famille qui compte environ 3100 espèces réparties en plus d'une centaine de genres (Judd *et al.*, 1999). Ils jouissent d'une grande importance économique car une grande partie des fruits cultivés dans les régions tempérées est produites par des espèces appartenant de cette famille. La superficie des Rosacée en Algérie a pratiquement doublé en 10 ans en passant de 35403 hectares en 2012 à plus de 72000 ha en 2011 (FAO, 2013). Ces chiffres traduisent l'importance grandissante accordée ces dernières années à la culture des Rosacées en Algérie (Abdelguerfi, 2003).

La maladie a été signalée par la suite en Nouvelle- Zélande (1919) et en Europe (1957) dans le Kent en Grande-Bretagne, ou des échanges avec la Nouvelle-Zélande seraient à l'origine de l'infection. Dès lors, la maladie s'étend sur le pourtour de la mer du Nord et de la Baltique : Angleterre, Pays-Bas, Belgique, Danemark et le nord de l'Allemagne (Van der Zwet et Keil, 1979).

Cette bactériose causée par *Erwinia amylovora*, affecte les *Maloidées* (Sous famille des *Rocaseae*) comprenant les arbres fruitiers à pépins (poiriers pommiers) et des arbustes d'ornements (aubépine, amélanchiers). La bactérie *Erwinia amylovora* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* qui comprend de nombreux des espèces pathogène animaux, d'insectes ou de plante. (Llop *et al.* 2011). C'est un organisme nuisible de quarantaine de l'union Européenne qui se trouve dans la liste A2 (OEPP, 2012).

En Algérie, cette maladie a été détectée dans de plusieurs vergers de poiriers (*Pyrus communis*) et signalée dans différentes régions de pays : Ain T'émouchent, Sidi Bellabes, Oran, Ain Defla, Boumerdes, Bouira et Milla. (Ziad, 2011). Des échantillons ont été analysés au laboratoire et la présence de l'agent causal *Erwinia amylovora* a été confirmée (OEPP, 2011). Les dégâts apportés font état d'une situation épidémiques provoquant parfois la destruction totale de vergers entiers. Les estimations des attaques ont signalés plus de 25% de la chute des rendements et par fois le mort des arbres de fortes inquiétudes des arboriculteurs (MADR, 2012).

Ce contexte, ce présent travail consiste à réaliser une étude sur terrain par un diagnostic symptomalogique de quelques vergers de poiriers dans deux commune de la wilaya de Bouira : M'chdallah et lakhdharia.

Cette étude est suivie d'isolement et caractérisation biochimique de l'agent causal de la maladie de feu bactérie d'*Erwinia amylovora* et un test pathogénicité afin de confirmer la présence de la maladie.

I-1- Généralités sur l'agent causal de la maladie de feu bactérien :

Le feu bactérien est une maladie provoquée par la bactérie à Gram négatif *Erwinia amylovora*, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* (Van der Zwet et Keil, 1979 ; Vanneste, 2000). Cet agent pathogène s'attaque à une gamme assez élargie de plantes hôtes de la famille des *Rosacées* (environ 200 espèces appartenant à 40 genres), dont toutes les espèces de la sous-famille des *Maloideae*, comprenant le pommier (*Malus x domestica*), et le poirier (*Pyrus communis*). C'est un organisme de quarantaine de la liste A2 de l'OEPP et son introduction est interdite dans pratiquement tous les pays (OEPP, 2012).

Le feu bactérien (ou Fire blight) a été observé pour la première fois, en 1780 en Amérique du Nord au niveau de la vallée de H'udson (Etat de New –York). L'agent causal *Erwinia amylovora* a été constaté après presque 100 ans (Burrill, 1878). En Afrique, cette maladie a été détectée en Egypte dans les années 60 (Bonn et Van Der Zwit, 2000). En 2006, la maladie a été observée au Maroc sur le pommier et poirier (Fatmi *et al.* 2008) et en 2012 la présence de la maladie a été signalée en Tunisie. Cette maladie a été signalée et confirmée en Algérie par l'INPV en 2010 (OEPP, 2011).

I-2-Taxonomie : décrite par (Winslow et al. 1920)

Règne :	Bacteria
Embranchement :	Proteobacteria
Classe:	Gamma Pro bacteria
Ordre :	Entobacterales
Famille:	Enterobacteriaceae
Genre:	<i>Erwinia</i>
Espèce:	<i>Erwinia amylovora</i>

I-3- Caractéristiques générales:

I-3-1- Caractéristiques morphologiques :

Les bactéries *Erwinia amylovora* mesurent environ 1,6 µm de longueur et 0,8 µm de Largeur, et apparaissent sous la forme de bâtonnets aux extrémités arrondies et mobiles au moyen de plusieurs flagelles péritriches (**figure n 1**) (Van der Zwet *et al.* 2012).

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

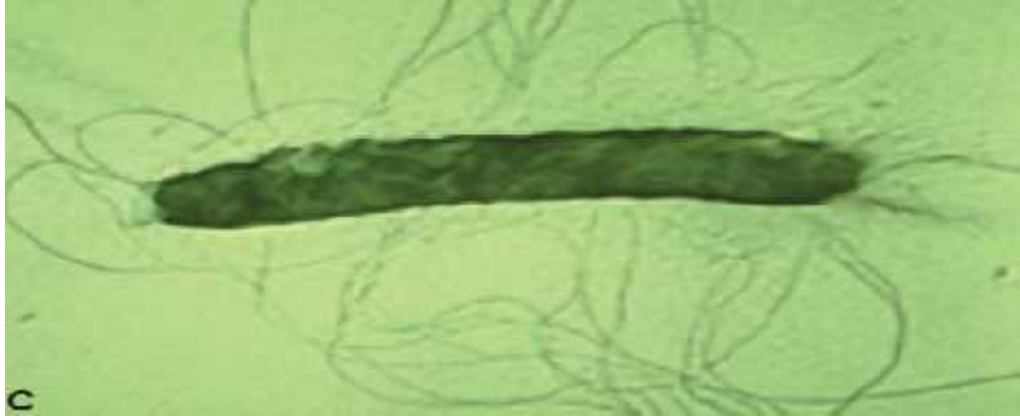


Figure n° 1 : Morphologie bactérie *Erwinia amylovora* vue au microscope optique (Agrios, G.N.2005).

I-3-2- Caractéristiques biochimiques et génétiques :

La bactérie *Erwinia amylovora* montre des caractères biochimiques tels que : anaérobie facultative, réduction du saccharose, dégradation du pectate, oxydation au gluconate, réduction de nitrate, liquéfaction de gélatine (OEPP, 2012).

Bien que les souches d'*E. amylovora* ne semblent pas présenter de différence vis-à-vis des tests biochimiques et sérologiques (Paulin, 2000 ; Smits *et al.* 2010), elles présentent par contre des différences capitales vis-à-vis d'autres tests comme la virulence et la variabilité de la gamme d'hôte (Norelli *et al.* 1984 ; Wang *et al.* 2009). Ces différences peuvent être expliquées par la flexibilité du génome de la bactérie y compris ceux des plasmides. L'information génétique contenue dans le matériel extra-chromosomique est très importante pour la virulence (Llop *et al.* 2011). Les scientifiques pensaient que le plasmide pEA29 était universel (Llop *et al.* 2008 ; Mohammadi, 2010) mais plusieurs travaux ont montré par la suite l'existence de plusieurs plasmides dans différentes souches de ce pathogène (Maxonstein *et al.*, 2003 ; Foster *et al.*, 2004). (**Tableau N° 1**).

Tableau n°1 : Les plasmides décrits chez *Erwinia amylovora* ainsi que leurs principales caractéristiques

Plasmide	Taille (Pb)	Plante Hôte	Références
pEA72	71,487	Malus sp	Sebahia et al., 2010
pEL60	60,145	Malus sp Pyrus sp	Foster et al., 2004
pEA34	30 KB	Malus sp Pyrus sp	Chiou et Jones 1991 ; 1993
pEU30	30,314	Malus sp Pyrus sp	Foster et al., 2004
pEA29	28,314 28,243	Pyrus sp Malus sp	McGHEE et Jones, 2000 Sebahia et al., 2010

I-4-composants de surface cellulaire et extracellulaire : LPS (lipopolysaccharide)

Chez *E. amylovora*, la cellule bactérienne est entourée d'une couche de polysaccharides (Galactose, glucose, mannose et acide uronique) organisée en capsule, Formant L'exopolysaccharide (EPS) appelé amylovorane et essentiel à la virulence. Un mutant affecté dans

la synthèse d'EPS est virulente. Contrairement au LPS l'EPS n'est pas immunogène. *E. amylovora* produit un autre polysaccharide, un homopolymère de fructose appelé levane. Les mutants affectés dans la synthèse du levane restent virulents. Ils sont moins agressifs que la souche sauvage.

Cette bactérie porte des flagelles péritriches nécessaires à la mobilité (2 à 7 par cellule), Comme la plupart des Entérobactéries. La synthèse des flagelles dépend de facteurs externes Comme la température et le pH. Sur plante, la mobilité a été observée en surface de stigmate mais par contre n'a pas été mise en évidence dans les espaces intercellulaires de tissus infectés. Expérimentalement, la mobilité facilite l'infection des bouquets floraux de pommier lorsque la bactérie est inoculée par pulvérisation. Elle n'intervient plus lorsque le pathogène est inoculé à la seringue directement dans les pousses puisque que, quelle que soit la mobilité de la souche, on obtient dans ce cas le même taux d'infection.

Chez *E. amylovora*, le chimiotactisme dépend de la température et du pH avec un optimum situé entre 20 et 28°C et un pH de 6 à 8. *E. amylovora* présente un chimiotactisme positif pour le nectar de pomme, pour un acide aminé (aspartate) et pour plusieurs acides organiques (fumarate, malate, succinate, malonate, oxaloacétate et succinate) mais pas pour les sucres suivants : fructose, galactose, glucose, lactose, mannitol, raffinose, ribose, sorbitol.

I-5-Plante hôtes :

Erwinia amylovora est capable d'infecter plus de 140 espèces végétales appartenant à 39 genres de la famille des rosacées. Le poirier, le pommier et le cognassier sont les plantes hôtes les plus sensibles. (**Tableau n°2**).

Tableau N°2 : principales plantes hôtes du feu bactérien de la famille des *Rosaceae* (OEPP, 2011)

	Noms latins	Noms français
Fruits pépins	Malus	Pommier (y compris pommier d'ornement)
	Pyrus	Poirier (y compris poirier d'ornement et nashi)
Arbustes d'ornement	Cydonia	Cognassier
	Chaeomeles	Cognassier du japon
	Cotonetter	Cotoneaster
	Pyracantha	Pyracantha ou buisson ardent
	Mespilus	Néflier d'Allemagne
	Eriobotrya ou Stranvaesia	Néflier du japon
Arbustes sauvages	Crataegus	Stranvaesia
Arbustes d'ornements	Sorbus	Aubépine
	Amelanchier	Amélanchier

I-6-Symptômes :

Les symptômes provoqués par le feu bactérien peuvent être observés sur différentes parties de l'arbre, mais les premières expressions de symptômes sont formés sur les fleurs. L'infection progresse ensuite verticalement vers le bas dans toutes les fleurs d'un bouquet (Thamson ,2000). Tout d'abord, la bactérie infecte les fleurs et les pédoncules qui se fanent, puis flétrissent et brunissent et peuvent également apparaître imbibées d'eau qui deviennent vert foncé et enfin bruns ou noirs. Parfois, ces organes flétrissent et se dessèchent et par la suite prennent une texture ressemblant au cuir (OEPP, 2013) : phillion ,2014). Puis, la bactérie se propage sur l'arbre. Les symptômes les plus typiques sont alors visibles sur les jeunes rameaux en pleine croissance, qui une fois atteints flétrissent et se recourbent une forme de crosse à leurs extrémités. Les fruits immatures se momifient et restent attachés à l'arbre toute la saison. (Phillion ,2014 ;, OEPP ,2013) une infection par le feu bactérien peut aller jusqu' à la destruction complète d'un verger.(figure 2)



Figure n °2 : les symptômes de feu bactérien .a : dessèchement sur les feuilles. B noiresissement sur fruits : c l'exsudat sur fruits. D : portes –greffe infectés par des bactéries se déplaçant vers le bas à travers la tige ou à travers les drageons. (Agrios, 2005;Delaunay-Cesbron,2009).

I-7- Cycle biologique de la maladie du feu bactérien

L'infection au feu bactérien survient quand l'hôte se trouve en position de sensibilité, l'inoculation du photogène est suffisante quand les conditions environnementales sont optimales de (Palacio-Bielsa *et al.* 2011).

Le cycle de la maladie a été décrit par plusieurs auteurs (Van der Zwet et Keil, 1979 ; Van der Zwer et Beer, 1995 ; Paulin, 1996 ; Thomson, 2000). (Figure n°3) .La principale voie d'infection d'*E .amylovora* est à travers les fleurs.

La bactérie se dissémine à partir de lésions actives via des insectes pollinisateurs pendant la période de floraison, ou grâce à des phénomènes physiques. Elle pénètre dans l'hôte par des ouvertures naturelles ; nectaires, stomates ou accidentelles (blessures) causées par le vent, insectes, grêle ou activité agricole en période de floraison ou de croissance des pousses. Une fois dans l'apoplaste, elle se multiplie préférentiellement dans les tissus jeunes en croissance, ce qui peut se traduire par l'apparition à leur surface de gouttelettes d'exsudats (mélange de polysaccharides bactériens et de cellules bactériennes). Cet exsudat permet une rapide dissémination de la maladie.

Les tissus atteints se nécrosent, les rameaux et les feuilles flétrissent et se dessèchent. La bactérie peut envahir l'ensemble de la plante en se multipliant dans les espaces intercellulaires du parenchyme cortical mais elle peut aussi atteindre les vaisseaux du xylème où elle se déplace contre le flux ascendant de la sève (Bogs *et al.* 1998). L'hôte tente de limiter la propagation de l'infection par la formation de chancres sur les branches ou le tronc, dans lesquels la bactérie peut se conserver pendant la période de repos végétatif (Eden Green et Billing, 1974). Elle reprend sa multiplication au printemps suivant.

La maladie peut se transmettre très facilement d'une plante à l'autre par l'intermédiaire de l'exsudat, la propagation de la maladie sur une courte distance est assurée par le vent, la pluie, les aérosols, les insectes et les activités agricoles.

La propagation sur de longues distances survient principalement par l'utilisation de matériels infectés (Sobiczewski *et al.* 1997 ; Thomson, 2000 ; Palacio-Bielsa *et al.*, 2009 ; Donat *et al.* 2007). Le rôle des oiseux dans la propagation de la maladie a été suggéré par Van der Zwet et Keil, (1979) mais il n'a jamais été démontrée (Palacio-Bielsa *et al.* 2011).

La gravité de la maladie reste difficile à prédire. De fortes épidémies peuvent être suivies de plusieurs années sans attaque ou avec de faibles attaques si les conditions climatiques sont défavorables à la maladie.

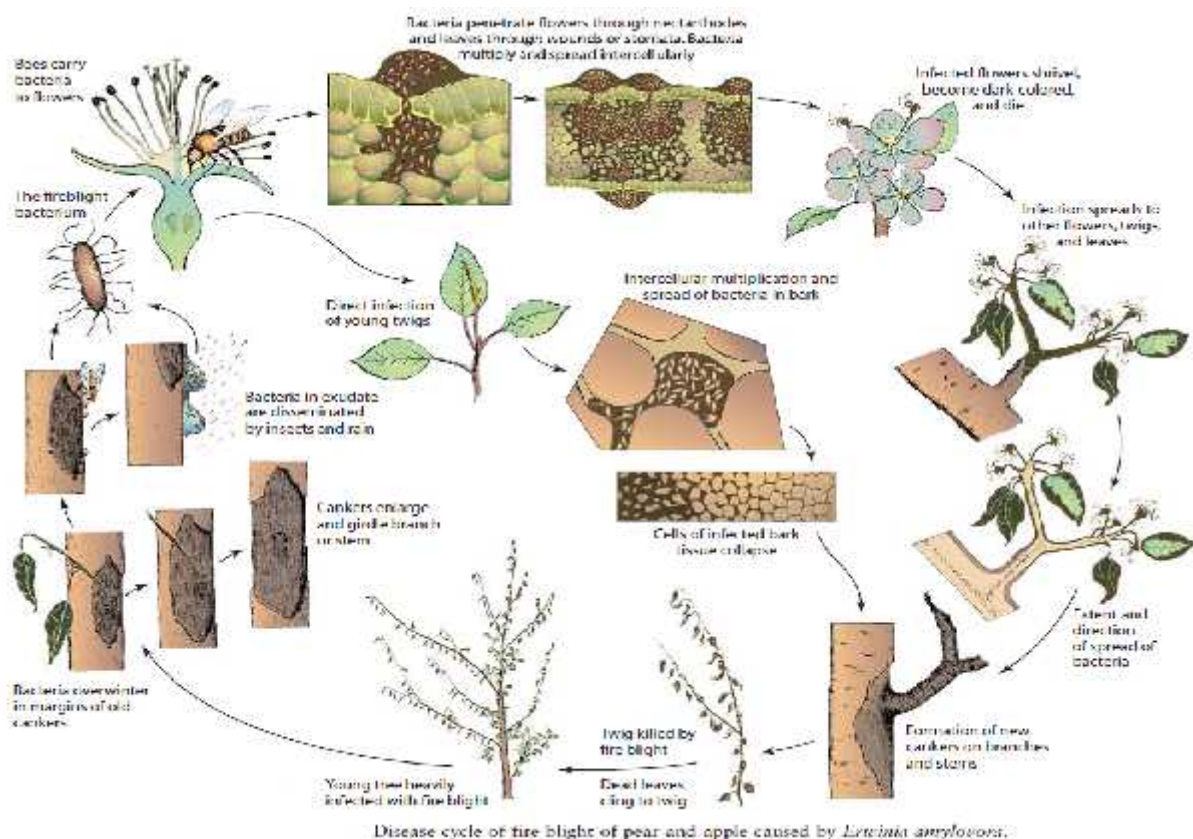


Figure n°3 : Cycle de développement du feu bactérien, causé *E. amylovora*, chez les *Maloïdées*. (Agris., 2005).

I-8-Les facteurs de virulence de la bactérie :

Concernant le pouvoir pathogène, plusieurs déterminants ont été identifiés à ce jour : le système d'acquisition du fer, l'EPS et les protéines sécrétées par un système de sécrétion de type III.

I-8-1-Système d'acquisition du fer :

Erwin à amylovora possède un système d'acquisition du fer composé de sidérophores de type hydroxamate et d'un récepteur FoxR (Kachadourian *et al.*, 1996 ; Expert, 2000). Ce système est important pour la survie de la bactérie en milieu carencé en fer comme l'apophase.

sidérophore majoritairement produit par *E. amylovora* est cyclique (DFO E) mais de petites quantités d'autres sidérophores du même type, cycliques (DFO D, X) ou linéaires (DFO G), sont synthétisées (Feistner *et al.*, 1993 ; Kachadourian *et al.*, 1996). Le sidérophore se lie au Fe³⁺ pour former la ferrioxamine et l'ensemble est réinternalisé grâce à FoxR. Sur fleurs, les mutants *dfoA* et *foxR* montrent une capacité de colonisation des fleurs plus faible que la souche sauvage et induisent un niveau moindre de maladie (Dellagi *et al.*, 1998).

I-8-2 Exopolysaccharide (EPS) :

Le système de sécrétion de type III est l'un des facteurs de virulence important utilisés par *E. amylovora* pour infecter avec succès ses hôtes (khokhani *et al.*, 2013) comme avec d'autre bactérie phytopathogène à Gram négatif.. *E. amylovora* utilise ce systèmes de sécrétion conservé de manière évolutive pour exporter et sécréter des protéine effectrices dans le cytosol des cellules végétales hôtes par une structure semblable à celle des pilus qui forme l'élément centrale de base de T3SS (KHokhani *et al.* , 2013 ; Vrancken et al.2013).

I-8-3- Le système de sécrétion de type III :

Les protéines effectrices des pathogènes sont décrites selon leur mode d'action chez le phytopathogènes, il existe cinq grands groupes principaux : 1) les suppresseurs de la mort programmée des cellules ; 2) les activateurs de la voie métabolique de l'acide jasmonique ; 3) les inhibiteurs des modifications membranaires ; 4) les activateurs de transcription chez la plante ; 5) les inhibiteurs de l'activation des protéines de résistance (Mudgett, 2005).

L'analyse du sécrétome d'*E. amylovora* a permis l'identification de plusieurs protéines sécrétées par le T3SS (Nissinen *et al.* , 2007) :

les harpines HrpN (Wei et al., 1992) et HrpW (Gaudriault et al., 1998 ; Kim et Beer, 1998). Ils constituent un groupe de protéines effectrices chez les phytopathogènes (Galán et Collmer, 1999 ; Kjemtrup *et al.*, 2000) et sont riches en glycine et stables à la chaleur. Les mutants HrpN sont affectés dans leur capacité à induire la nécrose sur plante hôte et non hôte (Barny, 1995). Le HrpN induit un burst oxydatif et une hypersensibilité sur tabac (Wei et al., 1992).

DspA/E : Protéines qui jouent un rôle essentiel dans le pouvoir pathogène (un mutant dspA est non pathogène) (Gaudriault et al., 1997 ; Bogdanove et al., 1998).

HrpJ : Protéine jouant un rôle important dans le pouvoir pathogène puisqu'un mutant hrpJ est non pathogène. Cette protéine est nécessaire à l'accumulation extracellulaire de HrpN et HrpW (Bogdanove et al., 1996 ; Nissinen et al., 2007)

hpA : Protéine constituant la sous-unité structurale du pilus Hrp (Jin et al., 2000)

- Il existe aussi de nombreuses autres protéines comme : la EopB (Oh et Beer, 2005) (Oh et al., 2005) ; la HrpK (Oh et al., 2005), les Eop2, Eop3, Eop4, TraF et FlgL (Nissinen *et al.* 2007).

I-9-Importance économiques des Rosacées en Algérie :

La relance du développement de la culture des espèces fruitières à noyaux et à pépins en Algérie a commencé réellement en 2000, dans le cadre du programme National de Développement Agricole (PNDA) (Chaouia, 2003).

Le verger arboricole fruitier, représenté par les rosacées à noyaux et à pépins ainsi que les espèces dites rustiques, essentiellement le figuier et l'amandier, occupe selon les statistiques de l'an 2000 une superficie estimée à 131 120 ha, environ 27 % de la superficie arboricole. Environ 73 % de cette superficie sont réservés aux rosacées à noyaux et à pépins et 27 % aux rustiques, comme le figuier.

La superficie totale moyenne est passée de 105 000 ha en 1980 à environ 130 000 ha en 1999, une progression qui concerne l'ensemble des espèces (Abdelguerfi, 2003).

Pour répondre aux besoins en plants dans les campagnes de plantation, notre pays a eu recours à l'importation de l'étranger. Seulement, l'importation et l'introduction de nouvelles espèces et variétés de l'étranger, principalement les espèces à pépins, n'a pas toujours fait l'objet de précautions d'usage, nécessaires pour évaluer les risques et apprécier leur comportement, notamment en matière de maladies et d'adaptation (Abdelguerfi, 2003).

La Pomme est le fruit le plus consommé en Algérie en 2011 (450 000 tonnes), après les Pastèques (1 350 000 tonnes), les Raisins (650 000 tonnes) et les Oranges (600 000 tonnes). Bien que les superficies du Pommier en Algérie soient importantes (47 000 ha en 2011 (Abdelguerfi, 2003, FAO, 2013).

La culture des poires occupe une partie très importante dans l'arboriculture Algérienne, avec une superficie estimée à 24 500 ha en 2011 et une production évaluée autour de 180 000 tonnes dans la même année (FAO, 2013). La principale variété cultivée en Algérie est : Santa Maria.

I-10-Les pertes économiques dues au feu bactérien:

Le feu bactérien est la plus destructrice des rosacées à pépins. Il provoque dommages considérables sur les plantes hôtes en induisant la perte de la production en une saison présence des conditions favorables (van der zwet keil, 1979)..

De même, la présence de la maladie dans un pays est une contrainte importante pour les exportations. Ceci fait que la maladie constitue une menace importante pour la filière de la poire et de pomme ainsi que pour des plantes ornementales.

Par ailleurs, sa présence dans des zones qui réunissent des conditions climatiques favorables pour son développement (climat chaud de 24 °C ET humidité de 60 % augmente les risques phytosanitaires. C'est le cas des régions du pourtour méditerranéen, où le feu bactérien a causé d'importants dégâts (OEPP, 2006) une grande partie des variétés sensibles au feu bactérien ont subi des pertes considérables et sont en voie de disparition (Psallidas, 1990). Peu d'études ont été réalisées pour estimer les pertes occasionnées par cette maladie

I-11-La lutte contre d'Erwinia amylovora :

Les méthodes de lutte actuelles contre le feu bactérien sont diverses mais chacune d'elle reste d'une efficacité limitée. La gestion efficace du feu bactérien nécessite une approche intégrée de plusieurs pratiques qui visent à réduire la quantité d'inoculum imposer des obstacles à établissement de l'agent pathogène sur l'hôte, et réduire la sensibilité de l'hôte à l'infection (Aaklwinckle et Beer, 1979, Vander.zwet et Beer, 1995).

I-11-1-Méthodes préventives et culturales :

Plusieurs possibilités s'ouvrent au producteur pour limiter les pertes dues au feu bactérien : l'élimination des chancres peut être réalisée avant la saison printanière en éliminant les foyers par curetages dans le bois sain, ou en éliminant la branche porteuse puits, dès l'apparition des symptômes, il faut éliminer rapidement les foyers d'infection pour limiter la propagation de la maladie, en coupant les pousses ou moins 30 à 40cm en amont des symptômes éventuellement à l'aide de sécateurs stériles. Il existe des risques de contagion par les outils qui peuvent être réduits en les utilisant dans du bois sain et par temps sec. Les branches coupées sont ensuite jetées ou centrées des rangs puis fauchées. (Phillon, 2014 ; AGyours, 2014).

I-11-2- La lutte génétique :

Chez le pommier et le poirier, un programme de création variétale par hybridation classique, pour la résistance au feu bactérien Ce type de programme est long sur ce type de plante (pérennes à cycle long), lourd en investissements et difficile à réaliser. L'utilisation de la transgénèse visant à introduire un gène d'intérêt dans un fond génétique connu peut être une alternative intéressante. Différentes approches sont explorées. Elles consistent à faire produire à la plante Des substances antibactériennes (Malnoy et al. 2005) Des substances inhibitrices de facteurs du pouvoir pathogène (Malnoy *et al.*, 2007), Des réactions de défense surexprimées et Des protéines-cibles d'effecteur modifiées. (Borejsa –wysoczek *et al.* 2006).

Au-delà de l'acceptabilité sociétale du transgène, l'efficacité et la durabilité de la résistance conditionnent le succès de cette approche. C'est pourquoi il est important d'avoir une connaissance précise des mécanismes de l'interaction *E. amylovora* plante hôte, qui conduisent à la résistance ou à la sensibilité

Aucune résistance mono génique n'a été identifiée à ce jour pour ce pathosystème. Les résistances seraient d'origine multi génique ou tout au moins oligogénique. Elles sont d'intensités diverses : certaines variétés de pommier et Poirier présentent une résistance quasi-totale à *Erwinia amylovora* Suffisante.

I-11-3- La lutte chimique :

En traitement phytosanitaire contre les bactérioses sont les produits cupriques (par exemple la bouillie bordelaise) et les antibiotiques, et n'ont d'efficacité que s'ils sont appliqués en préventif.

L'action du cuivre est bactériostatique. Ce métal ne se dégrade pas dans le sol et se lessive peu, une utilisation répétée peut donc conduire à une accumulation du cuivre à des concentrations toxiques pour les microorganismes du sol et pour la plante elle-même.

Plusieurs antibiotiques, comme la streptomycine, l'oxytétracycline et la kasugamycine ont été utilisés en verger. Ils bloquent la multiplication bactérienne en agissant sur la synthèse protéique. La streptomycine est considérée comme l'antibiotique le plus efficace contre le feu bactérien mais son utilisation a finalement été interdite dans de nombreux pays du fait de l'apparition de résistance plasmidique chez *E. amylovora* (Moller *et al.*, 1972).

L'oxytétracycline a une efficacité inférieure à celle de la streptomycine (McManus et Jones, 1994). La kasugamycine montre une efficacité variable (Psallidas et Tsiantos, 2000) son usage est restreint du fait de sa forte phytotoxicité sur pommier et poirier aux doses recommandées pour le contrôle de la maladie.

La fluméquine et l'acide oxolinique sont des composés de synthèse qui agissent sur la réplication de l'ADN des procaryotes. Aucune résistance plasmidique ni phytotoxicité n'ont été observées avec la fluméquine. (Shtienberg *et al.*, 2001).

Une autre molécule, contre le feu bactérien (Tsiantos et Psallidas, 2002), est le fosétyl aluminium. Il s'agit d'une molécule qui, outre une action antifongique, présente une efficacité, irrégulière, contre le feu bactérien. Elle aurait un pouvoir éliciter de défenses qui n'a toutefois pas été mis en évidence dans le cas du feu bactérien. C'est un préventif à court terme car à la différence du cuivre elle est rapidement absorbée par les feuilles.

Les grands nombres des produits chimiques à été testé contre la maladie de feu bactérien sont les antibiotiques tels que la gentamicine et l'oxytétracycline, (Marutescu *et al.* 2009).

I-11-4- Lutte biologique :

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

Il s'agit donc d'un moyen préventif de combattre la maladie. Différents Microorganismes ont été expérimentés, pour lesquels les mécanismes de l'antagonisme Avec *E. amylovora* ne sont pas toujours connus. *Pantoea agglomerans* (anciennement *Erwinia herbicola*) par exemple, produit des composés inhibant la croissance d'*E. amylovora* (Wodzinski et Paulin, 1994). Deux antibiotiques (pantocines A et B) ont été Caractérisés chez certaines souches.

Sans graves flambées de feu bactérien (Norelli *et al.*, 2003). Une autre espèce, *Pseudomonas fluorescens*, a été largement étudiée. Elle agirait par compétition nutritive (Wilson et Lindow, 1993). Par ailleurs, des mutants a virulents d'*E. Amylovora*, altérés dans la région hrp, sont capables expérimentalement de bloquer l'infection par la souche virulente lorsqu'ils sont inoculés avant ou en même temps que celle-ci (Tharaud *et al.*, 1997, Faize *et al.* 1999 ; Faize *et al.*, 2006). En outre, la nature sporadique des infections et des épidémies de feu bactérien encourage les producteurs à devenir laxiste dans la mise en œuvre des pratiques de contrôle coûteuses après plusieurs années sans graves flambées de feu bactérien (Norelli *et al.* 2003).

II-Présentation de la wilaya de Bouira :

II-1-Situation géographique

La wilaya de Bouira est située dans la région centre nord de pays. Elle s'étend sur une superficie de 4456,26km² représentant 0,19% De territoire national

La wilaya de Bouira est délimitée

- au nord par la wilaya de Tizzu Ouzou.
- A l'est par la wilaya de Bordj boairuj
- Au sud par la wilaya de Msila.
- A l'ouest par la wilaya de Médéa.

Le climat est chaud et sec en été, froid et plus pluvieux en hiver. La pluviométrie moyenne est de 660 mm /an en nord et 400 mm en sud. La température variant entre 20 et 40 °C de mai à septembre et de 2 à 12 °C de janvier à mars. (Anonymes).

II-2- Echantillonnage :

Nos prospections ont été faites sur 4 vergers de poiriers situés dans deux communes « lakhdaria » et « M'echdallah » (**tableau 3**)

II-2-1- M'chedallah :

M'chedallah bénéficie d'un climat méditerranéen selon la classification de Koppen avec des hivers humides et doux et des étés secs et chauds. La moyenne des précipitations annuelles atteints 610mm.

Verger 1 : situé à M'chedallah (douba) avec 1ha de superficie .c'est un verger de poirier variété santa maria de 1 400 arbres . Les techniques culturales réalisées sont : traitement hiver et traitement contre la tavelure, en fin la taille.

Verger 2 : situé à M'chedallah (thamourth n Zeitoun) avec 2ha de superficie. C'est un verger de poirier variété santa maria.

II-2-2- Lakhdharia :

Climat de lakhdharia est dite tempéré chaud. En hiver, les pluies Sant bien plus importantes à lakhdharia qu'elles ne le sont en été d'après Koppen et Geiger,

Lakhdharia affiche une température annuelle moyenne de 17,8 c il tombe en moyenne 711mm de pluie par an. Deux vergers ont été visités.

Vergers 3 : situé à lakhdharia « lwled el mahdi » avec 2ha de superficie .c'est un verger de poirier variété santa maria le type d'irrigation à la raie

Traitement utilisé : c'est le traitement contre la tavelure.

Vergers 4 : situé à lwled el mahdi « lakhdharia » avec 4ha de superficie c'est un verger de poirier variété santa maria. De 450 arbres type d'irrigation gravitaire par rigol traitement utilisé c'est le traitement contre la tavelure.

Tableau n°3: matériel végétal prélevé

Willaya	Commune	Vergers	Date de prélèvement	Type d'échantillon
bouira	M'chadallah (dauba)	1	12-5-2018	Exsudats sur fleurs, les feuilles
	M'echdallah (thamourth n zitoune)	2	13-5-2018	Les feuilles, les fruits symptomatiques
	Lakhdharia (oued Imahdia)	3	4-6-2018	les feuilles les fruits symptomatiques
	Lakhdharia L'oued Imahdia)	4	5-6-2018	les feuilles symptômatiques

II -3-Prélèvement de l'échantillon pour l'analyse :

Le matériel présentant les symptômes de maladie feu bactérien telles que l : les feuille , les fruits , les exudats sont prélevés puis mis dans des sachets en plastiques sur lesquels, la date et le site de prélèvement sont mentionnés.

Le prélèvement des échantillons a été fait d'une façon aléatoire depuis les quatre vergers ensuite ils sont acheminés au laboratoire de la faculté SNV de l'université de Bouira à partir de lesquels l'extraction va être réalisée pour effectuer l'isolement des bactéries et leur identification.

II -3-1-Désinfection des échantillons :

Les échantillons ont été désinfectés à l'eau de javel 2% pendant 3 minutes, suivi de 3 rinçages successifs à l'eau distillée stérile puis déposés sur papier buvad pour sécher. Ensuite, ces fragments ont été découpés en petits morceaux par un scalpel stérile. Les morceaux ont fait l'objet d'isolement de l'agent causal.

II -3-2- Isolement :

Nous avons sélectionné les parties du végétale présentant des symptômes caractéristiques de feu bactérien. Les fragments malades désinfectés superficiellement et découpés entre la partie malade et la partie saine ont été récupérés dans un mortier et broyés avec l'eau distillée stérile pendant 40 min (OEPP, 2012)..

La suspension obtenue de chaque prélèvement étéensemencée a l'aide d'une anse platine sous forme des stries serrées sur 3 boites de Pétri contenant le milieu King B et sur 2 boites Pétries contenant le milieu levane servant de répétitions.

Les boites ont été incubées à l'étuve sous une température 27° C pendant 24 à 72 heures.

II-4-Purification et identification :

Plusieurs repiquages des colonies bactériennes typiques obtenues a été réalisés sur boites de Pétri conte nant les milieux King B et levane pour obtenir des isolats purs pour nous permettre de compléter l'identification, les souches parles tests biochimiques et biologiques.

II-5-Tests biochimiques :

II-5-1-Test de potasse indicateur de GRAM

Le test vise à déterminer si la bactérie est gram positif ou négatif. Une colonie bactérienne de 24 à 48 heures est mélangée à une goutte de solution de KOH (3%) préalablement déposée sur une lame de microscope stérile. Le gram est considéré comme négatif s'il y a formation de filament en soulevant l'anse. En cas d'absence de filaments, le gram est positif (Suslow *et al.*, 1982).

II-5-2-Test de Catalase :

le teste de catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxydes d'oxygène (H_2O_2) sur l une lame en verre stérile , une goutte de proxyde d' hydrogène (3%) est déposée a l'aide d'une pipette pasteur stérile .les isolats bactérienne âgée de 24 heurs sons déposés dans la solution de proxydes d'hydrogène à l'aide de pipette Pasteur .Après 2 minutes ,la présence de bulles révèle le dégagement d'oxygènes et par conséquent une réaction positive (Dickey et Zumoff,1988).

II-5-3- Test d'oxydase :

Une goutte d'une solution N.N diméthyle paraphénylène diamine, préparée extemporanément est déposée sur du papier buvard. Par la suite, une émulsion immédiate d'une anse de cultures bactérienne est faite sur le bivard imbibé.

L'apparition d'une coloration rose violacée atteste de l'activité de cytochrome l'autochrome C oxydase. Le test est négatif en l'absence de coloration (Klement et al ., 1990).

II-5-4- Test de fluorescence sur King b :

Une colonie bactérienne est ensemencée en stries sur une boîte de pétri contenant le milieu KingB. Après une incubation d'environ 48 heures à 27°C la fluorescence des colonies est observée en exposant la boîte de Pétri à des radiations UV dans une pièce noire (Schaad *et al.*, 2001).

II-5-5-Test d'hypersensibilité sur le tabac :

Une suspension bactérienne dense d'une culture jeune (de 24 à 48 heures) est infiltrée, à l'aide d'une seringue, entre l'épiderme et le parenchyme palissadique d'une jeune feuille de tabac. Le test est considéré positif s'il apparaît une tache nécrotique correspondant à la zone infiltrée après 1 jour à une semaine. Il est par contre négatif si aucune réaction n'est observée (Schaad *et al.*, 2001).

III-1- L'observation des symptômes

Nous avons visité 4 vergers situés dans deux communes différentes ; 2 vergers à M'chedallah et 2 vergers à Lakhdaria. Ces vergers montrent les symptômes de la maladie de feu bactérien, sur les rameaux et troncs, nécroses sur les fleurs, feuilles et inflorescences atteintes présentant ainsi une noircissement et brunissement.

Le verger 1 (Ahamnache moussa) de la commune de M'chedallah présente en plus des symptômes de brunissement et noircissement des organes, gouttelettes d'exsudats sur les feuilles et inflorescences apparaissent sur les parties nouvellement). Par contre les autres vergers n'ont pas montré ce symptôme.



Figure n°4 : Momification des jeunes fruits qui restent sur l'arbre (à droite), brûlure des feuilles et des jeunes pousses à droite. (photo personnelles).



Figure n°5 : l'observation des exsudats

III-2-Obtention des isolats :

A partir des échantillons prélevés (les feuilles, fruits, rameaux) Et d'autres parties végétale contenant des exsudats bactérienne. Nous avons purifié sur le milieu KB et le milieu levane un total de 10 isolats bactériens (verger de M'chedallah).

Aucun isolat n'a été obtenu pour la région de lakhdharia. Ceci peut être expliqué à la faible incidence de la maladie. Les symptômes n'étaient pas trop prononcés chez les vergers d'une manière générale et sur un même arbre particulièrement en le comparant avec celui du verger 1 de M'chdallah. Ceci a conduit à la présence d'un très faible inoculum qui nous n'a pas permis d'isoler la bactérie.

III-3-Description morphologiques des isolats :

La détection des bactéries *Erwinia amylovora* peut être ce faire à plusieurs milieux sélectifs et déférents

Lors de cette étude deux principaux milieux de culture sélectif le milieu King B et le milieu levane.

L'observation des résultats après incubation montre que les colonies d'*Erwinia amylovora* qui se développent dans le milieu KingB sont de couleur Blanchâtre elle prennent toujours un aspect bombés et brillant avec un anneau centrale dense. **(Figure 6)**

Sur le milieu levane les colonies d'*Erwinia amylovora* sont typiquement de couleur blanche, circulaires bombées, lisses et muqueuses. **(Figure7).**

Les colonies ayant poussées sur le milieu King b et le milieu levane sont présentent toutes les caractères qui semblent être typiques à l'agent pathogène de feu Bactérien (Berswill et al, 1998).



Figure n°6 : la structure de colonie bactérienne sur le milieu KB



Figure n°7 : la structure de colonie bactérienne sur le milieu levane

D'autre part, les colonies bactériennes obtenues après isolement ne présentant pas les caractères morphologiques et macroscopiques de la bactérie recherchée ont été éliminées avant les tests d'identification.

III-4-Résultats des tests biochimiques :

A partir d'une culture pure de 24 heures, de chaque isolat (10 isolats) les tests effectués pour identifier les espèces d'*Erwinia amylovora* sont : Gram, test catalase, test d'activité cytochrome oxydase, test de fluorescence sur kb. Et en fin le test d'hypersensibilité sur tabac.

III-4-1-Résultats de Test de Gram :

La détermination de type de Gram a été effectuée par l'utilisation du test KOH. Ce test peut servir comme une alternative à la coloration de Gram (Suslow *et al.*, 1982).

Les résultats de ces tests montrent que tous les isolats (10 isolats) se sont montrés à Gram négatif semblables à *Erwinia amylovora*. Les bactéries forment un filament sur une

lame après l'ajout de KOH .ceci confirme que les bactéries sont Gram négatif provoquent une augmentation de la viscosité et forme un filament visqueux lorsqu'il est relevé à partir d'une lame (**figure n° 8**).



Figure n°8 : résultat de test de gram.

III-4-2-Test de catalase :

Le test de catalase est positif pour la plupart des isolats (7) isolats correspondant à la bactérie *E.amylovora* qui est catalase positive (OEPP, 2012), alors que 3 isolats (Mm12a, Mm211a, Mm11a1) catalase - les bactéries catalase positive peuvent dissocier le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau, en forment des bulles grâce à l'enzyme de catalase, les bactéries catalase négatives ne possèdent pas l'enzyme de catalase (**figure. n°9**)

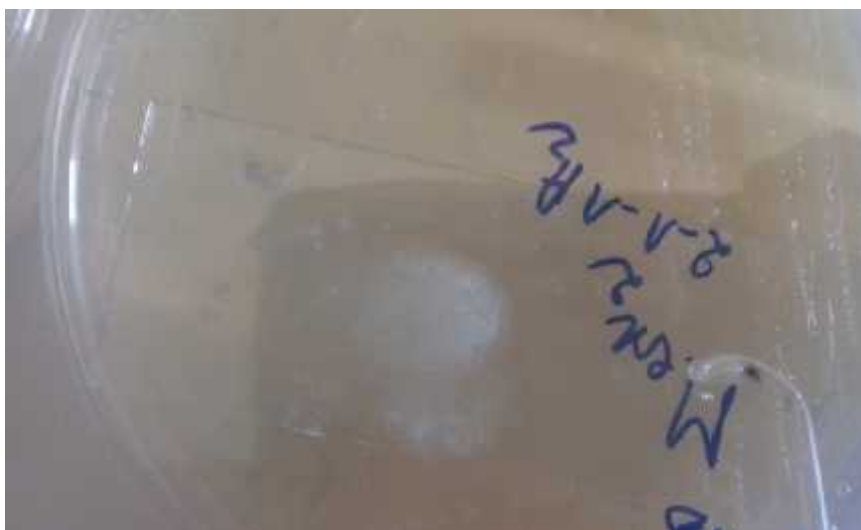


Figure n°9 : résultat positif du test catalase (photo personnel).

III-4-2-Résultats du Test d'activité cytochrome oxydase :

Les résultats obtenus avec ce test montrent que la plupart des isolats (7) présentent une réaction négative (l'absence de la coloration violette) ce qui montre l'absence de l'activité cytochrome C Oxydase comme le montre l'espèce *E.amylovora* (OEPP, 2012), tandis que (Mm12a, Mm21a, Mm131a) isolats ont montré une réaction positive, Cette enzyme est capable d'oxyder le réactif ; N diméthyle paraphénylène diamine (**figure n°10**)

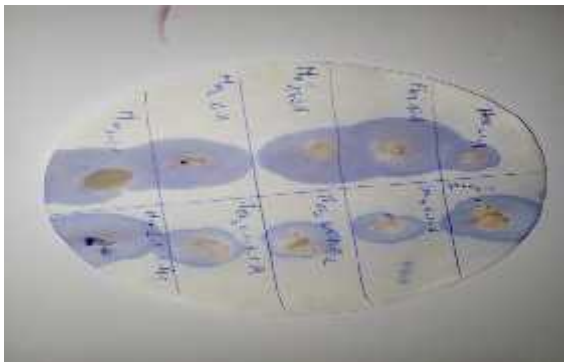


Figure n°10 : résultats de teste d'oxvdase

III-4-3-Teste de fluorescence sur King B :

En éclairant les boîtes avec la lampe des UV dans une pièce noire, les isolats n'ont pas émis de pigment fluorescent pour les 7 boîtes (7 isolats) qui indique le résultat est négatif se traduisant par l'absence de fluorescence identique à la bactérie *E amylovora*. (OEPP, 2012), (**Figure 11**) Et 3 souches (Mm21a, Mm12a, Mm13.) possèdent une fluorescence montrant que le résultat est positif. (**figure n°11**).



Figure n°11 : résultats de test fluorescence sur King B (photo personnelle).

III-5-1-Teste hypersensibilité sur tabac (HR) :

Erwinia amylovora provoque l'expression de la maladie chez les plantes hôtes ou sensibles, mais induit une réaction d'hypersensibilité (RH) chez les plantes non hôtes ou résistantes comme le tabac (Büttner et He, 2009 ; Lindgren et al., 1986). La RH est une réaction rapide de défense de la plante induisant la mort programmée des cellules et la production de divers agents antimicrobiens bloquant ainsi la progression du pathogène (Klement, 1982 ; Hueck, 1998).

Les souches (Mex 111 ; Mex11et Mex311a) montrent un résultat plus rapide sur les feuilles de tabac (très virulentes) par rapport les souches Mm131, Mm132a, Mm12a, Mm211a, Mm11a1, Mm1a et en fin Mm131a (virulentes), comparés au témoin inoculé par l'eau distillée stérile qui n'a présenté aucun développement de nécroses.

Les résultats obtenus se présentent sous forme d'une plage nécrotique sur les feuilles du tabac. Ces résultats du test de la pathogénité confirme que les souches isolées sont pathogènes comme la bactérie *Erwinia amylovora* (OEPP, 2012)



Figure n°12 : résultats de teste hypersensibilité sur tabac

Tableau n°4 : résultats des tests d'identification (biochimiques, biologique).

Verger	Souches	Testes d'identification				
		Test de Gram	Teste de catalase	Teste d'oxydase	Teste de fluorescence sur King B	Teste de tabac
M'echedallah	Mm131	-	+	-	-	+
	Mm132a	-	+	-	-	+
	Mex 3111a	-	+	--	-	++
	Mex11	-	+	-	-	++
	Mm12a	-	-	+	+	+
	Mm211a	-	-	-	-	+
	Mm11a1	-	+	-	-	+
	Mex 111	-	+	-	+	++
	Mm21a	-	+	+	-	+
	Mm131a	-	-	+	+	+
Lakhdharia	Kh11	-	-	-	-	-
	Kh12	-	-	-	-	-
	Kh13	-	-	-	-	-
	Kh21	-	-	-	-	-
	Kh22	-	-	-	-	-
	Kh23	-	-	-	-	-

++ (Résulta le plus évidence) + (Résulta le moins évidence)

III-6- Discussion :

dans la quantité d'inoculum initiale (Millis, 1955). Le feu bactérien c'est une maladie de quarantaine qui cause des pertes considérables au niveau des vergers de pommiers et poiriers, pour cela on a choisi de déterminer l'existence de cette maladie durant la campagne 2017-2018 dans deux communes Lakhdaria et M'chdalah. On a commencé nos prospections mai-juin 2018 qui coïncident avec l'apparition des symptômes de la maladie; dont les observations des symptômes sur terrain (noircissement des feuilles et fleurs; chancre; le recourbement des parties infectées; également la présence des gouttelettes d'exsudat bactérien) nous ont informé qu'il y a une apparition de feu bactérien.

Le climat et ses variations (température; humidité) ont un rôle important sur le développement de la maladie feu bactérien; pendant des conditions climatiques défavorables l'agent causal se conserve dans la partie souterraine de l'arbre (racines) mais dès que les conditions redeviennent favorables, elle se développe normalement et infecte les tissus végétaux (Bunter et al., 2003).

La sévérité de la maladie varie d'une année à l'autre et d'un endroit à l'autre, en raison de la variation des conditions environnementales et de la différence

Les bactéries ont une température optimale qui varie entre 20°C et 29°C et avec une humidité relative élevée plus de 60% (Olsen, 2011) la maladie est très grave lorsque les températures du printemps sont plus chaudes que la moyenne (Koski et Jakobi, 2014.).

Durant la saison printanière, la région de M'chedallah a enregistré une température moyenne en printemps égale à 21°C et c'est une valeur idéale pour le développement de la bactérie responsable de la maladie de feu bactérien.

A cause des faibles symptômes traduit par une faible incidence sur le verger exprimer par l'absence de l'inoculum ce qui nous permis de dire que la maladies feu bactérien est absente sur ces verges de lakhdharia.

La variété Santa Maria considéré comme la plus cultiver au niveau des vergers de poirier qui est une variété très vulnérable au feu bactérien (tsiantos et pssalidas, 2004). Cette variété le pré dominante en Algérie

Sachant que les jeunes arbres peuvent être tués par une seule infection en une seule saison on peut conclure que l'âge joue un rôle important dans le degré d'infection.

Ainsi la taille de l'arbre peut être un moyen important de contamination lorsqu'elle réaliser par un sécateur non stérile pendant des températures basse inferieures de 0C°. Par exemple nous avons remarqué sur les vergers (Mohand moussa) l'apparition des symptômes caractéristique de le feu bactérien malgré il a réalisé la taille mais il n'a pas respecté les précautions reliev à celle-ci. Nous avons remarqué également dans le verger de lakhdharia () l'absence des maladies grâce un une utilisation raisonnable de travaux culturaux (la taille) et de l'application des produits phytosanitaires (contre les psylles ; et la tavelure)

Dans notre travail nous avons procédé à l'identification de la bactérie en suivant le protocole de l'organisation Européenne de la protection des plantes (OEPP ,2012), qui base sur la réalisation des tests biochimiques ou déterminer les propriétés phénotypiques et biochimiques qui sont universellement présentes ou absentes chez *E.amylovora* (Paulin ,2000), et un autre test de confirmation de pathogénicité biologique (test d'hyper sensibilité sur tabac).

Les isolements et les purifications faite au laboratoire à partir de l'échantillon collectés nous ont permé d'obtenir un ensemble de 10 isolats bactériens possèdent des caractéristiques morphologiques typiques à *Erwinia amylovora*. Les colonies étaient typiquement blanches brillantes, micoides, et possédaient un centre flocculant dense (Billing *et al.*, 1961).

Après la réaction des tests d'identification biochimiques et biologiques nous avons obtenu 7 isolats positifs sur 10 isolats initiaux (teste de gram et la catalase et teste de fluorescence) biologique, et 10 isolats pour test d'hyper sensibilité, montrés des résultats similaires à ceux de la bactérie *Erwinia amylovora*.

Certaines caractéristiques physiologiques et biochimiques peuvent varier pour quelques souches bactériennes (OEPP, 2013). Certains istence d'une certaine hétérogénéité entre les défèrent souches d'*Erwinia amylovora*. en effet , il peut exister des déférences entre les isolats d'*Erwinia amylovora* (Pulawska et Sobiczewski , 2006, atanova et al .,2007) les souches de verger de poirier de la zone de M'echdallah Mm 12a ,Mm211a, Mm131a . Tandis que le teste d'hyper sensibilité confirme que ces souches sont pathogènes.

Après une semaine tous les souches ont montré une réaction positives sur le teste d'hypersensibilité sur tabac que les souches de bactérie depuis les vergers de M'chdallah prendre énormément du temps afin de montrer un résultat positif sous forme des plages nécrotiques sur les feuilles du tabac après un test de tabac ceci nous confirme la cause de résultat négatif chez les souches de vergers de la commune lakhdharia.

Les résultats de diagnostic sur terrain et les résultats des testes d'identification biochimiques et biologiques effectués aux laboratoires sur nos isolats obtenus dans cette études nous ont confirmé que la bactérie *Erwinia amylovora* existe toujours dans les vergers de poiriers et de pommiers prospectés dans la région de Bouira (M'echedallah).

Conclusion

Conclusion

Le feu bactérien représente l'une des maladies les plus dangereuses des arbres fruitiers particulièrement , les poiriers et les pommiers et quelques autres 'espèces de *Maloideae* comme aubépines , l'Algérie déclaré officiellement la présence de la maladie

Les premiers grands dégâts ont été enregistrés dans le grand pays producteur de pommier et poirier (Europe et Amérique).

Cette bactérie peut survivre en tant qu'endophytes ou épiphyte la temp de survie dépend de divers facteurs environnementales.

Lors de cette études, les échantillons ont été récoltes à partir de 2 communes de poiriers n symptomatiques reparties sur la willaya de Bouira sont : M'chdallah et lakhdharia.

Les échantillons on fait l'objet de diagnostiques au laboratoires pour isoler l'agent causale sur le milieu de culture levane et King B , ce qui nous permis les collectés des 10 isolats bactérienne .

C'est isolats ent subit le teste de KOH pour éliminer les bactéries à Gram positif sachant que *Erwinia amylovora* est une bactérie à Gram négatif.

Parmi les 10 isolats qu'ont été obtenu après des testes biochimique : teste de Gram négative, test oxydase (-), catalase(+), absence de fluorescence ; 7 isolats réagissent aux ces testes. Afin de confirmer nos résultats on a basé sur les testes de l'hypersensibilité sur tabac.

D'après les résultats sur terrain, et les testes préliminaires réalisés au laboratoires, nous avons conclure que la maladie de feu bactérien est présentée sur les vergers de poiriers visités à M'chdallah "Douba" et "thamorh nzitoun" ;et à lakhdharia "owled elmahdi" situés au niveau de la willaya de Bouira.

le feu bactérien est une maladie causé par *Erwinia amylovora* qui fait partie des organismes nuisibles de quarantaine règlements et cité par le directive de l'organisation européen et méditerranéenne pour la protection des plantes (OEPP) contre laquelle la lutte est obligatoire.

l'expression (lutte contre le feu bactérien) sera remplacée par seul de(gestion de feu bactérien) le pathogène ne peut plu être éradique par ce que la maladie est systématique , il est toutefois possible de réduire la sources d'inoculum est limités la propagation de la

Conclusion

bactérie en appliquant toutes les mesures prophylactiques : la surveillance, la suppression de fleuraison tardive et secondaires et les bonnes stratégies phytosanitaires dans le cadre d'un programme de lutte intégrée qui reste la meilleure stratégie de lutte, incluant usages de pesticides biologiques et antagonistes, l'utilisation des variétés résistantes toutes en respectant l'environnement.

En perspectives, il est important de développer les outils de tests de diagnostic rapides permettant de déterminer la présence de l'agent pathogène *Erwinia amylovora* en verger. L'utilisation d'autres méthodes plus fiables que les tests sérologiques comme le test d'agglutination et le test ELISA, les techniques moléculaires comme l'amplification et le séquençage d'ADN, la PCR, aident à identifier la bactérie *Erwinia amylovora* d'une manière efficace.

Références

- [1] **Abdelguerfi A (2003)** Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires a la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture. Projet ALG/97/g31.
- [2] **Abdelguerfi.A(2003)** . evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités
- [3] **Agriréseau. (2014)**. un texte pour la détection de la résistance de *Erwinia amylovora* à la septromycine , laboratoire de diagnostic en phytoprotection .MAPAQ du Québec .(en ligne) <http://www.agrireseau.qc.ca/lab/documents/Septroycine.pdf> (consulté le 15/04/2014).
- [4] **AGyours (2014)**. Insectes et maladies dans la pomme.<http://www.agyours.com/?portfolio=insectesetmaladiesdans>
- [5] **Aldwinckle H S, Beer S V(1979)** Fire blight and its control. *Hortic Rev* 1:423-474.
- [6] **Atanasova I, Stefanova K, Kabadjova P, Tishkov S, Dimitrov Z, Bogatzevska N, Moncheva P (2007)** Phenotypic diversity of *Erwinia amylovora* in Bulgaria. *Z Naturforsch C* 62:857–868. bactérien, le parent pathogène et la plante hôte : recherche de mécanismes modulant la
- [7] **Bellemann P, Bereswill S, Berger S, Geider K (1994)** Visualization of capsule formation by *Erwinia amylovora* and assays to determine amylovorane synthesis. *International journal of Biologie Macromolecules* 16:290-296.
- [8] **Bereswill, S., Jock, S., Aldridge, P., Janse, J.D.** blight in apple plants by silencing DspE-interacting proteins. *Phytopathology* 96:S176,
- [9] **Bogdanove AJ, Bauer DW, Beer SV (1998)** *Erwinia amylovora* secretes DspE, a pathogenicity factor and functional AvrE homolog, through the Hrp (type III secretion) pathway. *J Bacteriol* 180:2244-2247.
- [10] **Bogs J, Bruchmüller I, Erbar C, Geider K (1998)** Colonization of host plants by the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* marked with genes for bioluminescence and fluorescence. *Phytopathology* 88:416-421.
- [11] **Bonn ,W.G .et Van der Zwet ,T.(2000)** .Distrubution and economic importance of *Erwinia amylovora* . Wallingford ,UK :CABI publishing ,37-53.
- [12] **Borejsza-Wysocka EE, Malnoy M, Beer SV, Aldwinckle HS,** Increased resistance to fire
- [13] **Bugert P and Geider K (1995)** Molecular analysis of the *ams* operon required for exopolysaccharide synthesis of *Erwinia amylovora*. *Mol Microbiol* 15:917-933.

- [14] **Burrill, T.J. (1878)**.les bactéries : un compte rendu de leur nature et leur effets ,ainsi qu'une description systématique de l'espèce .HW Rohker .
- [15] **Burrill,T.J . (1882)**. les bacterie :un compte rendu de leur nature et leurs effets ,ainsi qu'une description systématique de l'espece .HW Rohker .
- [16] **Büttner D, He SY (2009)** Type III protein secretion in plant pathogenic bacteria. Plant Physiology 150: 1656-1664.
- [17] **Cesbron .(2009)** .interaction entre des mutants hrp d'*Erwinia amylovora*,agent du feu bactérien ,le parent pathogène et la plante hôte ;recherche de mécanismes modulant la compatibilité (Doctoral dissertation ,université d'Angers).
- [18] **Chaouia A (2003)** Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture Cas des plantations arboricoles. Projet ALG/97/G31 PNUD, Alger, Hôtel Hilton, 22-23/01/2003, 60 P. compatibilité. Thèse de Doctorat, Université d'Angers, France. 2009.
- [19] **Delaunay-Cesbron S**. Interaction entre des mutants hrp d'*Erwinia amylovora*, agent du feu
- [20] **Dellagi A, Brisset MN, Paulin JP, Expert D (1998)** Dual role of desferrioxamine in *Erwinia amylovora* patogenicity. Mol Plant Microbe Interact 8:734-742.
- [21] **Denny,T.p.(1995)**. Involvement of bacterial polysaccharide s in plant pathogenesis .annual review of phytopathology,33(1), 173 -197.
- [22] **Dickey.R.S. , Zumoff.C.H.(1988)**.Emended Description of *Enterobacter cancerogénus* comb .nov .(Formerly *Erwinia cancerogena*),InternationalJournal of Systematic Bacteriology ,vol.38 (n°4) ,p371-374
- [23] **Donat V, Bosca EG, Penalver J, Lopez MM (2007)** Exploring diversity among Spanish strains of *Erwinia amylovora* and possible infection sources. J Appl Microbiol 103:1639-1649.
- [24] **Donat, V., Biosca, E.G., Peñalver, J. et**
- [25] **Eden-Green SJ, Billing E (1974)** Fireblight. Rev Plant Pathol 53:353-365.
- [26] **EPPO (1983)**. Fiche informative sur les organismes de quarantaine No.52, *Erwinia amylovora* (en ligne) .Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 13.consulté le :26/10/2016. Disponible sur « [http://archives .eppo . org// Bulletin _ Archives .htm](http://archives.epppo.org/Bulletin_Archives.htm) ». *Erwinia amylovora* and possible infection sources. Journal of Applied Microbiology, 103: 1639-1649.

- [27] **Geider, K**(1998). Molecular characterization of natural *Erwinia amylovora*, 10.1007/s00468-011-0630-2. 2006.
- [28] **Expert D, Dellagi A, Kachadourian R** (2000) Iron and fire blight:role in pathogenicity of desferrioxamineE, the main siderophore of *Erwinia amylovora*. In: Vanneste J (ed) Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CABI Publishing, Oxon, pp179-195.
- [29] **Faize M, Brisset MN, Paulin JP, Tharaud M** (1999) Secretion and regulation *hrp* mutants of *Erwinia amylovora* trigger different responses in apple. FEMS Microbiol Lett 171:173-178.
- [30] **Faize M, Brisset MN, Perino C, Vian B, Barny MA, Paulin JP, Tharaud M** (2006) Protection of apple against fire blight induced by an *hrpL* mutant of *Erwinia amylovora*.
- [31] **FAO** (2003). Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.faostat.fao.org>. Accessed 2013.
- [32] **FAO** (.2013).food and agriculteur organization of the unted Nations<http://www.faostat.Fao.org>.
- [33] **Feistner GJ, Stahl DC, Gabrik AH** (1993) Proferrioxamine siderophores of *Erwinia amylovora*. A capillary lliquid chromatographic/electrospray tandem mass spectrometry study. Org Mass Spectrom 28:163-175.
- [34] **Foster GC, McGhee GC, Jones AL, Sundin GW** (2004) Nucleotide sequences, genetic organization, and distribution of pEU30 and pEL60 from *Erwinia amylovora*. Appl Environ Microbiol 70:7539-7544.
- [35] **Galán J.E, Collmer A** (1999) Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. Science 284: 1322-1328.
- [36] **Gaudriault S, Brisset MN, Barny MA** (1998) HrpW of *Erwinia amylovora*, a new Hrp-secreted protein. FEBS Lett 428:224-228.
- [37] **gautier M** (1988) La culture fruitière, volume 2, les productions fruitières, Paris, Lavoisier, P 156.
- [38] **Geier,G.et Geider ,K.**(1993). Characterization and influence on virulence of the Ievansucrase gene form the fierblight pathogen *Erwinia amylovora*. Physiological and Molecular Plant pathology,42(6),387-404.
- [39] **Hueck C** (1998) Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. Microbiol Mol Biol Rev 62:379-433.

- [40] **Jin Q, Hu W, Brown I, McGhee G, Hart P, Jones AL, He SY (2001)** Visualization of secreted Hrp and Avr proteins along the Hrp pilus during type III secretion in *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas syringae*. *Mol Microbiol* 40:1129-1139.
- [41] **Khokhani, D. , Zhang ,C., Li, Y, Wang , Q., zeng., Yamazaki ,A., Hutchins W., Zhou, S.S. ,Chon ,X. , & Yang ,C..H(2013.)** Discovery of plant phenolic compounds that act as type III secretion system inhibition or inducers of the fire blight pathogène, *Erwinia amylovora* *Applied and environmental microbiology* ,79(18), 5424-5436.B
- [42] **Kim JF, Beer SV (1998)** HrpW of *Erwinia amylovora* , a new harpin that contains a domain homologous to pectate lyases of a distinct class. *J Bacteriol* 180:5203-5210
- [43] **Kjemtrup S, Nimchuk Z, Dangl, JL (2000)** Effector proteins of phytopathogenic bacteria: bifunctional signals in virulence and host recognition. *Current Opinion in Microbiology* 3: 73-78.
- [44] **Klement ,Z.,Rudolph .K., Sands ,D.C. (1990)** . *Methods in Phyto bacteriology* , Kluwer Academic Publishers.Budapest , 568p
- [45] **Kozan, J.M ., Lenneman ,B.R. , McGrath ,M.J. et Sundin ,G. W.(2011).** Cell Surface attachment structures contribute to biofilm formation and xylem colonization by *Erwinia amylovora* .*Applied and environmental microbiology* ,77(19),7031-7039. La pomme (consulté le 14/05/2014.
- [46] **Lindgren PB, Peet RC, Panopoulos NJ (1986)** Gene cluster of *Pseudomonas syringae* pv “phaseolicola” controls pathogenicity of beans plants and hypersensitivity on non host plants. *Journal of Bacteriology* 168: 512-522.
- [47] **Llop P, Barbé S, Lopze MM (2011)** Function and origin of plasmids in *Erwinia* species that are pathogenic to or epiphytically associated with pome fruit trees. *Trees* 10.1007/s00468-011-0630-2.
- [48] **López, M.M.2007.** Exploring diversity among Spanish strains of
- [49] **MacManus PS and Jones AL (1994)** Epidemiology and genetic analysis of streptomycin-resistant *Erwinia amylovora* from Michigan and evaluation of oxytetracycline for control. *Phytopathology* 84:627-633
- [50] **MADR(2012).** controle de feu bactérien(en ligne).
- [51] **Maxson-Stein K, McGhee GC, Smith JJ, Jones AL, Sudin GW (2003)** Genetic analysis of a pathogenic *Erwinia* sp. isolated from pear in Japan. *Phytopathology* 93:1393–1399. Ministère de l’Agriculture et du Développement Rural et de la pêche, consulté le 13/11/2016. Disponible Sur :
« <http://www.madr.org/DATABASES/archives/pqr/pqr.htm> »

- [52] **MM (2011)** *Erwinia* spp. From fruit trees: similarities and differences among pathogenic and non-pathogenic species. *Trees* 10.1007/s00468-011-0644-9.
- [53] **Mohammadi M (2010)** Enhanced colonization and pathogenicity of *Erwinia amylovora* strains transformed with the near-ubiquitous pEA29 plasmid on pear and apple. *Plant Pathol* 59:252–261.
- [54] **Moller WJ, Beutel JA, Reil WO, Zoller BG,** Fire blight resistance to streptomycin in California. *Phytopathology* 62:779,1972
- [55] **Molnoy ,M., faize ,M. ,Venisse ,J. S. ,Geider ,K., Chevreau ,E .(2005).** Expression of Viral EPS –Depolymerase reduces fire blight susceptibility in transgenic pear ,plant Cell Rep, vol.23,p632-63 nécessaires a la conservation et l’utilisation durable de la biodiversité importante pour l’agriculture. Projet ALG/97/g31.
- [56] **Mudgett MB (2005)** New insights to the function of phytopathogenic bacterial type III effectors in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 56: 509-31.+) Analyses of the secretomes of *Erwinia amylovora* and selected hrp mutants reveal novel type III secreted proteins and an effect of HrpJ on extracellular harpin levels. *Mol Plant Pa*
- [57] **Norelli JL, Aldwinckle HS, Beer SV (1984)** Differential host-pathogen interactions among cultivars of apple and strains of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 74:136–139.
- [58] **OEPP (2011)** Premier signalement d’*Erwinia amylovora* en Algérie. No 6 Paris 01 Juin 2011
- [59] **OEPP (Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes). 2012.** PM 7/20 (2)*Erwinia amylovora* EPPO Bulletin,doi:10.1111/epp.12019.
- [60] **OEPP/EPPO (2013).**43(1),21 -45,PM 7/20 (2) *Erwinia amylovora* (en ligne).Consulté le :28/11/2016 .Disponible sur : « [http://www.eppo.int/Erwini_ amylovora /pqr/pqr.htm](http://www.eppo.int/Erwini_amylovora/pqr/pqr.htm) ».
- [61] **Oh CS, Beer (2005)** Molecular genetics of *Erwinia amylovora* involved in the development of fire blight. *FEMS Microbiol Lett* 253:185-192
- [62] **Oh CS, Kim JF, Beer SV (2005)** The hrp pathogenicity island of *Erwinia amylovora* and identification of three novel genes required for systemic infection. *Molec Plant Pathol* 6:125-138.
- [63] **Paulin JP (1996)** Control of fire blight in European pome fruits. *Outlook Agricu* 25:49-55.
- [64] **Paulin JP (2000)** *Erwinia amylovora*: general characteristics. In: Vanneste JL (ed) *Fire blight. The disease and its causative agent*. CABI Publishing, Wallingford, pp 87–115.

- [65] **Philion V. (2014)**. Fiches 104 - 106, Le feu bactérien. In : Guide de référence en production fruitière intégrée pour les producteurs de pommes du Québec. Edition CFP, Pageau C. F. ; IRDA, Poulin D., Québec, pp ; 403-422
- [66] **Psallidas and Tsiantos (2000)** Chemical control of fire blight. In: Vanneste J (ed) Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CABI Publishing, Oxon, pp199-234
- [67] **Pulawska J, Sobiczewski P (2006)** Phenotypic and genetic diversity of selected Polish *Erwinia amylovora* strains. Acta Hort 704:439–444.
- [68] **Schroth MN, Thomson SV, Hildebrand DC, Moller WJ (1974)** Epidemiology and control of fire blight. Annu Rev Phytopathol 12:389-412.
- [69] **Seemuller ,E.A. et Beer ,S.V.(1976)**.Absence of cell wall polysaccharide degradation by *Erwinia amylovora* (Bacterial diseases ,pears , apples ,Cotoneaster pannosa).Phytopathology,66(1), 433-436.
- [70] **Shtienberg D, Zilberstaine M, Oppenheim D, Herzog Z, Manulis S, Shwartz H,5Kritzman G (2001)** Efficacy of oxolinic acid and other bactericides in suppression of *Erwinia amylovora* in pear orchards in Israel. Phytoparasitica 29:143-154
- [71] **Smits THM, Rezzonico F, Kamber T, Blom J, Goesmann A, Frey JE, Duffy B (2010)** complete genome sequences of the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* CFBP 1430 and comparison to other *Erwinia* spp. Mol plant Microbe Interact 23:384-393
- [72] **Sobiczewski P, Deckers T, pulawska J (1997)** Fire bilght (*Erwinia amylovora*): some aspects of epidemiology and control. Research institute of pomology and Floriculture, skierniewice. strains deficient n levan synthesis. Physiological and Molecular Plant Pathology, 51: 215 225.
- [73] **Suslow ,T.V. ,Schroth,M.N. ,Isaka ,M.(1982)**. Aplication of a Rapid Method for Gram Différenciation OF Plant pathogenic and Saprophytic Bacteria Without Staining ,phytopathology ,vol.72,p917-918.
- [74] **SV (2000)** Epidemiology of fire blight. In: Vanneste JL (ed) Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford, pp 9-36.
- [75] **Tharaud M, Laurent J, Faize M, Paulin JP (1997)** Fire blight protection with avirulent mutants of *Erwinia amylovora*. Microbiology 143:625-632.
- [76] **Thomson SV (2000)** Epidemiology of fire blight. In: Vanneste JL (ed) Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford, pp 9-36.

- [77] **Van der Zwet, T., Orolaza-Halbrendt, N., Zeller, W. (2012).** Fire Blight, History, Biology, and Management. *Journal of Phytopathology*, 160
- [78] **Van der Zwet T, Keil HL (1979)** Fire blight, a bacterial disease of rosaceous plants. *USDA Agriculture Handbook 510, Sciences and Administration USDA, Washington.*
- Psalidas.(1990)** .chimicale contrôle of fir blight .In :Vanneste ,J.L. (Ed .), fire blight :The Disease and Its Causative Agent , *Erwinia amylovora* .CAB International ,Wallingford ,UK,pp.199-234.
- [79] **Van der Zwet T, Beer SV (1995)** Fire blight: its nature, prevention and control: a practical guide to integrated disease management, 2nd edn. United States Department of Agriculture Bulletin 631, Washington.
- [80] **Van der Zwet T, Keil HL (1979)** Fire blight, a bacterial disease of rosaceous plants. *USDA Agriculture Handbook 510, Sciences and Administration USDA, Washington*
- [81] **Van der Zwet T, Keil HL (1979)** Fire blight, a bacterial disease of rosaceous plants. *USDA Agriculture Handbook 510, Sciences and Administration USDA, Washington.*
- [82] **Vanneste JL (2000)** What is fire blight? Who is *Erwinia amylovora*? How to control it? Epidemiology of fire blight. In: Vanneste JL (ed) *Fire blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford, pp 1-6.
- [83] **Vrancken,K. , Holtappels ,M., Schoofs ,H ., Deckers ,T. et Vacke, R.(2013).**Pathogénicité et stratégies d'infection du pathogène du feu bactérien *erwinia amylovora* dans Rosaceae :état de l'art .*Microbiologie*, 159(5),823-832.
- [84] **Wang D, Korban SS, Zhao Y (2009)** Molecular signature of differential virulence in natural isolates of *Erwinia amylovora* .*Phytopathology* 100:192–198.
- [85] **Winslow,c,E.A Broadhust,J. ,Bu chamam ,R.E .,Krumwied,C ,Jr.,Rogers L ,A. ,Smith,G.H(1920)** the families and genera of the bacteria :Erwineae .*Journal of Bacteriology* ,VoL. 5. P191-229.
- [86] **Wodzinski,R.S.et Paulin ,J.P.(1994).** Frequency and diversity of antibiotic production by putative *Erwinia herbicola* strains .*Journal of Applied Microbiology*,76(6),603-607.
- [87] **Ziad A (2011)** Algérie: Le feu bactérien a affecté des centaines d'hectares. *Journal La Tribune* du 29 Août, 2011.

Annex 1 : composition de milieu levane pour formuler 1 litre de l'eau distillé (schaad et al 1988)

Extrait de levure	2g
Bactopeptone.....	5g
Chlorure de sodium (NaCl).....	50g
Agar bactériologique.....	20g
PH	7.2

Autoclavage a température 120 C° pendant 20 min

Annex 1 : composition de milieu king B pour formuler 1 litre de l'eau distillé (King et al .1954)

Protéase peptone No3.....	20g
Glycerole.....	10ml
Phosphate de potassium dibasique	1.5g
Sulfate de magnésium hetahydrté	105g
Agar bactériologique.....	15g
PH.....	7

Autoclavage a température 120 C° pendant 20 min

Résumé

Notre travail a pour but de vérifier la présence de la maladie de feu bactérien dans le 4 verger de poirier de la varie Santa Maria au niveau de deux communes dans la willaya de Bouira (M'chdallah, lakhdharia).

Nous avons réalisé un diagnostic symptomologiques sur terrain suivi d'une confirmation au laboratoire après l'isolement et identification de l'agent causal *Erwinia amylovora*.

Le diagnostic sur terrain a parmi le détecté la présence des symptômes typiques de feu bactérien sur le poirier représenté par la présence des chancres, noirssicement des fleurs. Et les fruits, la nécrose et les goulettes des exsudats. L'isolement a été effectué aux laboratoires permis d'obtenir un totales de 10 isolats bactériens, les tests identification biochimiquesont permis de détecter 7 souches comme étant ceux *Erwinia amylovora*

En fin la suivi sur terrain ainsi que les résultats que nous avons obtenus au laboratoire, montrent que la propagation de maladie feu bactérien sur les vergers durant la campagne agricole 2017 2018 est en faible incidence par rapport aux années précédentes grâce à des conditions climatiques peu favorables dans les régions prospectées.

Les mots clés : feu bactérien, *Erwinia amylovora*, poirier, diagnostic, isolement

Summary

Our work aims to verify the presence of fire blight disease in the 4 pear orchard of the Santa Maria varies or two common level in the Bouira willaya (M'chdallah, lakhdharia).

We performed a field symptom diagnosis followed by confirmation in the laboratory after isolation and identification of the causative agent *Erwinia amylovora*.

Field diagnosis was among the detected presence of the typical symptoms of fire blight on the pear represented by the presence of chancres, blackssicement of the flowers. And fruits, necrosis and gouts of exudates. The isolation was done at the laboratories and allowed to obtain a total of 10 bacterial isolates; biochemical identification tests were able to detect 7 strains as *Erwinia amylovora*.

In the end the field survival and the results we obtained in the laboratory, show that the spread of fire blight disease on the orchards during the agricultural campaign 2017 2018 is in low incidence compared to previous years thanks to unfavorable climatic conditions in the prospected regions. **Key words:** fire blight, *Erwinia amylovora*, pear tree, diagnosis, isolation

يهدف عملنا إلى التحقق من وجود مرض لفحة النار في بستان الكمثرى في سانتا ماريا أو مستوى اثنين مشترك في البويرة
مشدالة و لخضرية

أجرينا تشخيصاً لأعراض الحقل تبعه تأكيد في المختبر بعد العزل وتحديد العامل المسبب ، اروينيا اميلوفورا
وكان التشخيص الميداني من بين الكشف عن وجود أعراض نموذجية من آفة النار على الكمثرى ، ممثلة في وجود القروح ، و
blackssation من الزهور. والفواكه والنخر ومرضى النقرس. أجريت العزلة في المختبرات وسمح لها بالحصول على 10
بكتيرية ، وتمكنت اختبارات تحديد الكيمياء الحيوية من اكتشاف 7 ، اروينيا اميلوفورا
في النهاية ، يظهر مجال البقاء على قيد الحياة والنتائج التي حصلنا عليها في المختبر ، أن انتشار مرض اللفحة النارية على البساتين
خلال الحملة الزراعية 2017 2018 كان منخفضاً مقارنة بالسنوات السابقة بفضل الظروف المناخية غير المواتية. في المناطق
الكلمات المفتاحية: حريق آفة ، اروينيا اميلوفورا ، شجرة كمثرى ، تشخيص.