



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département : Botanique

القسم : علم النبات

Spécialité : Interaction plante-pathogènes et
protection des plantes

التخصص : تفاعل النباتات-ممرضات النباتات
و حماية النبات

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De Master

THEME

**Isolement et identification des bactéries phytopathogènes
associées aux *Brassicaceae***

Présenté Par : **TOURQUI Oussama**

Soutenu Publiquement le 07/12/2022

Devant le jury composé de :

Mémoire dirigé par :

Mme LAALA S.

Maitre de conférences A à l'ENSA

Président :

M. BOUZNAD Z.

Professeur à l'ENSA d'El-Harrach.

Examinatrice :

Mme. Khenfous-DJEBARI B.

Maitre de conférences B à l'ENSA d'El-Harrach.

Promotion : 2017 / 2022

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	IV
1. INTRODUCTION.....	1
2. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
2.1 Généralités sur les brassicacées.....	3
2.2 Importance économique des brassicacées.....	3
2.2.1 Dans le monde.....	3
2.2.2 En Algérie.....	5
2.3 Maladies et ravageurs des brassicacées.....	7
2.4 Maladies bactériennes des brassicacées cultivées.....	9
2.4.1 Nervation noire causée par <i>Xanthomonas campestris</i>	9
2.4.1.1 Importance économique de la maladie.....	9
2.4.1.2 Taxonomie de l'agent pathogène.....	10
2.4.1.3 Caractères morphologiques et biochimiques.....	10
2.4.1.4 Symptômes.....	10
2.4.1.5 Epidémie.....	11
2.4.2 Tache bactérienne causée par <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>maculicola</i>	11
2.4.2.1 Importance économique de la maladie.....	11
2.4.2.2 Taxonomie de l'agent pathogène.....	12
2.4.2.3 Caractères morphologiques et biochimiques.....	12
2.4.2.4 Symptômes.....	12
2.5.2.5 Epidémie.....	13

2.4.3 Pourriture molle causée par <i>Erwinia</i> spp.....	13
2.5 Méthodes d'identification.....	14
2.5.1 Méthodes biochimiques.....	14
2.5.2 Méthodes moléculaires.....	15
2.6 Moyens de lutte contre les bactérioses des brassicacées.....	15
2.6.1 Lutte chimique.....	15
2.6.2 Lutte biologique.....	15
2.6.3 Contrôle sanitaire des semences.....	16
3. MATERIEL ET METHODES.....	17
3.1 Provenance des échantillons	17
3.2 Choix des échantillons.....	18
3.3 Isolement	19
3.4 Purification	19
3.5 Test de pré-sélection.....	20
Réaction d'hypersensibilité.....	20
3.6 Tests biochimiques.....	21
3.6.1 Test de Gram au KOH.....	21
3.6.2 Test d'oxydase	21
3.6.3 Test de l'activité pectinolytique	21
3.6.4 Test d'arginine dihydrolase.....	21
3.6.5 Test de production de la levane sucrase.....	22
3.6.6 Test de Catalase.....	22
3.6.7 Test de fluorescence sur King B.....	22
3.6.8 Mode d'utilisation du glucose.....	22
3.7 Identification moléculaire.....	23
• Extraction de l'ADN.....	23

• Amplification de l'ADN par Polymerase Chain Reaction (PCR) pour la détection de <i>Xanthomonas campestris</i>	23
• Analyse des produits amplifiés.....	24
3.8 Test du pouvoir pathogène.....	24
4. RESULTATS ET DISCUSSION.....	26
4.1 Résultats.....	26
4.1.1 Caractérisation des colonies obtenues sur milieux LPGA et KB.....	26
4.1.2 Purification.....	27
4.1.3 Test de présélection.....	28
Test d'hypersensibilité sur tabac.....	29
4.1.4 Tests biochimiques.....	29
4.1.4.1 Test de Gram au KOH.....	29
4.1.4.2 Test d'oxydase.....	30
4.1.4.3 Test de l'activité pectinolytique.....	31
4.1.4.4 Test d'arginine dihydrolase.....	31
4.1.4.5 Test de production de la levane sucrase.....	32
4.1.4.6 Test de Catalase.....	33
4.1.4.7 Test de fluorescence sur le milieu King B.....	33
4.1.4.8 Mode d'utilisation du glucose.....	34
4.1.5 Identification moléculaire.....	34
4.1.6 Test du pouvoir pathogène sur la plante hôte.....	35
4.1.7 Identification des isolats.....	38
4.2 Discussion.....	40
5. CONCLUSION.....	41
6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	42
Résumé	

Résumé :

La présente étude s'inscrit dans la problématique de l'isolement et d'identification des bactéries phytopathogènes de certaines cultures des brassicacées cultivées au littoral algérois. Soixante-treize échantillons de feuilles des brassicacées cultivées en Algérie (chou, chou-fleur, brocoli, colza) ont été analysés pour la présence des bactéries phytopathogènes, 150 isolats obtenues, et via des tests biochimiques, physiologiques et moléculaire, nous avons identifiés 53 isolats dont 18 isolats de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, 9 isolats de *Pseudomonas syringae*, 10 isolats de *Pseudomonas cichorii*, 13 isolats de *Pseudomonas marginalis* et 3 isolats correspondant au genre *Erwinia* sp. La détection de la maladie de la nervation noire a été confirmée sur 4 isolats provenant de colza pour la première fois en Algérie.

Mots clés : *Brassicaceae*, Identification, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, nervation noire.

Abstract :

The present study is part of the problem of isolation and identification of phytopathogenic bacteria from some crops of *brassicaceae* grown on the Algerian coast. Seventy-three samples of *brassicaceae* leaves grown in Algeria (cabbage, cauliflower, broccoli, rapeseed) were analysed for the presence of phytopathogenic bacteria, 150 isolates obtained, and via biochemical, physiological and molecular tests, 53 isolates were identified, including 18 isolates of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, 9 isolates of *Pseudomonas syringae*, 10 isolates of *Pseudomonas cichorii*, 13 isolates of *Pseudomonas marginalis* and 3 isolates corresponding to the genus *Erwinia* sp. The detection of black rot disease was confirmed on 4 isolates from rapeseed for the first time in Algeria.

Key words : *Brassicaceae*, Identification, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, black rot.

ملخص

هذه الدراسة تتمحور حول جزء من اشكالية عزل و تحديد البكتيريا المسببة للأمراض النباتية في بعض محاصيل الكرنبيات المزروعة في الساحل الجزائري. تم تحليل ثلاثة وسبعون عينة من أوراق الكرنبيات المزروعة في الجزائر (الملفوف ، القرنبيط ، البروكولي ، السلجم) لوجود بكتيريا ممرضة للنبات، وتم الحصول على 150 عزلة، وعن طريق الاختبارات الكيميائية الحيوية والفسولوجية والجزيئية، قمنا بالتعرف على 53 عزلة، منها 18 عزلة من *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ، 9 عزلات من *Pseudomonas syringae* ، 10 عزلات من *Pseudomonas cichorii* ، 13 عزلة من *Pseudomonas marginalis* ، و 3 عزلات من جنس *Erwinia* sp. تم تأكيد الكشف عن مرض التعرق الأسود في 4 عزلات مؤخوذة من السلجم لأول مرة في الجزائر.

الكلمات المفتاحية : الكرنبيات، تعرف، *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ، *Pseudomonas syringae* ، *maculicola* pv. ، التعرق الأسود.