

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département : Botanique

القسم : علم النبات

Spécialité : Interaction plante-pathogènes et

التخصص : تفاعل النباتات-ممرضات النباتات

protection des plantes

و حماية النبات

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De Master

THEME

Etude des bactéries phytopathogènes associées
aux *Brassicaceae* au niveau du littoral Algérois

Présenté Par : **BENWALI Faryel**

Soutenu Publiquement le 04/12/2023

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.

Examinateuse :

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

Promotion : 2018 / 2023

Table des matières

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	IV
1. INTRODUCTION.....	1
2. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
2.1 La famille des Brassicacées.....	3
2.1.1 Les variétés des brassicacées présentes en Algérie	3
2.1.2 Importance économique des brassicacées	4
2.1.2.1 Production mondiale	4
2.1.2.2 Production nationale.....	6
2.2 Les maladies et ravageurs des brassicacées cultivées	9
2.3 Les maladies bactériennes des brassicacées cultivées.....	12
2.3.1 Le genre <i>Xanthomonas</i>	12
2.3.1.1 Nervation noire causée par <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	12
2.3.1.1.1 Importance économique de la maladie.....	12
2.3.1.1.2 Taxonomie de l'agent pathogène	13
2.3.1.1.3 Caractères morphologiques et biochimiques.....	13
2.3.1.1.4 Symptômes	13
2.3.1.1.5 Epidémie.....	14
2.3.1.2 Taches foliaires causée par <i>Xanthomonas campestris</i>	15
2.3.2 Le genre <i>Pseudomonas</i>	16
2.3.2.1 Tache bactérienne causée par <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>maculicola</i>	16
2.3.2.1.1 Importance économique	16
2.3.2.1.2 Taxonomie de l'agent pathogène	16
2.3.2.1.3 Caractères morphologiques	16
2.3.2.1.4 Symptômes	16
2.3.2.1.5 Épidémie.....	17
2.3.2.2 Pourriture molle par <i>Pseudomonas marginalis</i>	18

2.3.2.2.1 Importance économique de la maladie.....	18
2.3.2.2.2 Taxonomie de l'agent pathogène	18
2.3.2.2.3 Caractères morphologiques et biochimiques.....	18
2.3.2.2.4 Symptômes	18
2.3.2.2.5 Épidémie.....	19
2.3.2 Pourriture molle par <i>Pseudomonas marginalis</i>	20
2.3.2.3.1 Importance économique de la maladie.....	20
2.3.2.3.2 Taxonomie de l'agent pathogène	20
2.3.2.3.3 Caractères morphologiques et biochimiques.....	20
2.3.2.3.4 Symptômes	20
2.3.2.3.5 Épidémie.....	21
2.3.3 Le genre <i>Pectobacterium</i>	22
2.3.3.1 La pourriture molle par <i>Pectobacterium carotovorum</i>	22
2.3.3.1.1 Importance économique de la maladie.....	22
2.3.3.1.2 Taxonomie de l'agent pathogène	22
2.3.3.1.3 Caractères morphologiques et biochimiques.....	22
2.3.3.1.4 Symptômes	22
2.3.3.1.5 Épidémie.....	23
2.4 Méthodes de lutte contre les maladies bactériennes associées à la famille des <i>Brassicaceae</i>	24
2.4.1 Traitement des semences.....	24
2.4.1.1 Traitement thermique	24
2.4.1.2 Traitement chimique	24
2.4.2 La lutte biologique :	24
2.5 Méthodes d'identification	25
2.5.1 Méthodes biochimiques.....	25
2.5.2 Méthodes moléculaires.....	25
3. MATERIEL ET METHODES	27
3.1 Prospection et prélèvement des échantillons symptomatiques	27

3.1.1 Présentations des régions d'étude	27
3.1.2 Prospections de parcelles de brassicacées	27
3.1.3 Choix des échantillons	29
3.2 Isolement à partir des échantillons atteints	29
3.3 Purification	30
3.4 Pré-sélection des isolats	31
3.5 Tests biochimiques	32
3.5.1 Test de Gram au KOH.....	32
3.5.2 Test de Catalase.....	32
3.5.3 Test d'oxydase.....	32
3.5.4 Test de fluorescence sur King B	33
3.5.5 Test de l'activité pectinolytique	33
3.5.6 Test de production de la levane sucrase	33
3.5.7 Test d'arginine dihydrolase.....	34
3.5.8 Mode d'utilisation du glucose	34
3.6 Test du pouvoir pathogène sur plante hôte.....	34
3.7 Identification moléculaire	36
3.7.1 Les lots de semences	36
3.7.1.1 Extraction des bactéries obtenues à partir des lots de semences.....	36
3.7.1.1.1 Macération des semences	36
3.7.1.1.2 Enrichissement sur milieu gélosé	37
3.7.1.1.3 Extraction de l'ADN	37
3.7.1.2 Extraction des bactéries à partir des échantillons de feuilles symptomatiques	37
3.7.1.3 Amplification de l'ADN par Polymerase Chain Reaction (PCR) pour la détection de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	38
3.7.1.3.1 Analyse électrophorétique des produits amplifiés	38
4. R E S U L T A T S E T D I S C U S S I O N.....	39
4.1 Résultat.....	39
4.1.1 Prospection et prélèvement des échantillons symptomatiques	39

4.1.1.1 Prospections de parcelles de brassicacées	39
4.1.2 Isolement à partir des échantillons symptomatiques	39
4.1.3 Caractérisation des colonies obtenues sur milieux LPGA et KB	39
4.1.4 Purification	40
4.1.5 Test de présélection	41
4.1.5.1 Test d'hypersensibilité sur tabac	41
4.1.6 Tests biochimiques d'identification	42
4.1.6.1 Test de Gram au KOH.....	42
4.1.6.2 Test de Catalase.....	43
4.1.6.3 Test d'oxydase.....	43
4.1.6.4 Test de l'activité pectinolytique	44
4.1.6.5 Test d'arginine dihydrolase	44
4.1.6.6 Test de production de la levane sucrase	45
4.1.6.7 Test de fluorescence sur le milieu King B	45
4.1.6.8 Mode d'utilisation du glucose	46
4.1.7 Test de pathogénicité sur la plante hôte	47
4.1.8 Identification moléculaire	48
4.1.8.1 Détection de <i>X. campestris</i> sur les lots de semences par la BIO- PCR.....	48
4.1.8.2 Identification des isolats obtenus par Polymerase Chain Reaction PCR	49
4.1.9 Identification des isolats.....	50
4.2 Discussion	54
5. CONCLUSION	56
6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	58
Résumé	

Résumé

Cette recherche se focalise sur l'isolement et l'identification des bactéries responsables des symptômes constatés sur les cultures de brassicacées (telles que le colza, le navet et le chou) en Algérie. 51 bactéries ont été caractérisés. Les différentes analyses physiologiques et biochimiques, y compris les test LOPAT, ont permis de distinguer des isolats pathogènes appartenant à trois genres principaux. Plus précisément, 14 isolats de *Pseudomonas cichorii*, 9 de *P. marginalis*, 15 de *P. syringae*, 5 d'*Pectobacterium carotovorum* et 8 de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ont été identifiés. La BIO PCR a confirmé les résultats obtenus en 2022 sur la présence notable de la nervation noire sur le colza en Algérie. Un test de pathogénicité a également été effectué afin de vérifier le potentiel pathogène de ces bactéries.

Mots clés : *Brassicaceae*, Identification, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Pseudomonas*, *Pectobacterium*, nervation noire, PCR.

Abstract

This research focuses on isolating and identifying the bacteria responsible for symptoms observed in brassica crops (such as rapeseed, turnip and cabbage) in Algeria. 51 bacteria were characterized. Various physiological and biochemical analyses, including LOPAT tests, helped distinguish phytopathogenic isolates belonging to three main genera. More specifically, 14 isolates of *Pseudomonas cichorii*, 9 of *P. marginalis*, 15 of *P. syringae*, 5 of *Pectobacterium carotovorum* and 8 of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* were identified. The BIO PCR confirmed the results obtained in 2022 on the notable presence of the black rot on rapeseed in Algeria. A pathogenicity test was also performed to confirm the pathogenic potential of these bacteria.

Key words : *Brassicaceae*, Identification, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Pseudomonas*, *Pectobacterium*, black rot, PCR.

ملخص

يركز هذا البحث على عزل وتحديد أهم البكتيريا المسئولة عن الأعراض الملاحظة على محاصيل الكرنبيات (مثل السلجم، اللفت، الملفوف) في الجزائر. تم توصيف 51 بكتيريا. مكنت مختلف التحاليل الكيميائية الحيوية بما في ذلك اختبارات LOPAT من التمييز بين عزلات مرضة للنبات تتنتمي إلى ثلاثة أنواع رئيسية. بشكل أدق 14 عزلة من *Pectobacterium*، 9 من *P. syringae*، 15 من *P. marginalis*، *Pseudomonas cichorii* و 8 من *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* و 5 من *Pectobacterium carotovorum*. أكد BIO PCR النتائج التي تم الحصول عليها في عام 2022 حول الوجود الملحوظ للعصب الأسود على السلجم في الجزائر. كما تم إجراء اختبار سريري لتأكيد الإمكانيات المرضية لهذه البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: الكرنبيات، تعرف، *Pseudomonas* ، *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* .PCR ، التعرق الأسود ، *Pectobacterium*