

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

Mémoire de fin d'études

Présenté par :

Mlle BOUMAIZA Rym Kheira

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité : Protection des cultures

Thème

**Identification de *Pseudomonas syringae* dans les cultures  
de tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) de la région de  
Mostaganem et étude de la toxicité de quelques fongicides  
à l'égard du pathogène**

Devant le Jury

Présidente : Mme SAIAH F.

Examinatrice : Mme GALFOUT A.

Encadreur : M. MAHIOUT D.

MCB

MAA

b MCB

Université Mostaganem

ESA- Mostaganem

Université Mostaganem

# Remerciements

Je remercie ALLAH, le tout puissant, qui nous aide et nous donne patience et courage durant les moments difficiles.

J'adresse ainsi mes vifs remerciements à Mme SAIAH Farida pour avoir accepté de présider mon jury, malgré ses multiples occupations.

Je tiens d'abord à remercier infiniment mon directeur de mémoire, M. MAHIOUT Djamel pour ses constantes orientations durant mes travaux de laboratoire, sa méticuleuse attention, pour ses conseils, sa disponibilité et son extrême amabilité malgré sa grande charge de travail.

Je remercie également Mme GALFOUT Amina qui a bien voulu faire partie de mon jury et d'examiner ce mémoire.

Je n'oublierai pas le personnel du département d'agronomie, de l'exploitation agricole et le personnel du laboratoire, Adel et Houria qui m'ont facilité l'accès au laboratoire et veillé à la disponibilité des mes besoins en produits chimiques. Je remercie tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont collaboré à la réalisation de cette tâche.

Merci à mes professeurs qui m'ont donné le savoir durant ma formation universitaire.

Je tiens à remercier ma famille pour leurs soutien moral et leur patience tout au long de mon travail.

# Dédicace

## Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, Que je dédie ce travail de fin d'étude à mes chers parents, qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et qui m'ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux. j'espère qu'un jour, je pourrai leurs rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que Dieu leur prête bonheur et longue vie.

Je dédie aussi ce travail à mes frères Mohamed, Rayane, Ahmed et Taher, ma sœur Ibtissem et son epoux ainsi son fils Moundir, ma chère sœur Wafaa et toute la famille BOUMAIZA et OUELD Ahmed.

Je dédie ce travail à mes chers amis : Mohamed, Nacer, Mustapha, Ilyes et mes chères amies : Rihab, Linda, Marwa, Mimi, Khadidja, Halima, Houaria, Fatima, Rania, Saliha, Arwa et Khokha

A tous mes professeurs et aux étudiants de ma promo de la protection des cultures.

Et à tous qui nous sont chers je dédie le fruit de mon travail.

## Résumé

La campagne 2018-2019 a été particulièrement préjudiciable à la culture de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) d'arrière saison de la région de Mostaganem. En effet, des pertes de rendement considérables, atteignant 100 % dans certains champs sont enregistrées.

Au champs ou sous serre les symptômes se présentent sous forme de nécroses brun-noirâtre au niveau de toutes les parties aériennes de la plante. Sur feuilles, les nécroses sont entourées d'un halo jaune.

L'origine de la maladie est inconnue. L'étude symptomatologique laisse penser à *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, responsable d'une des dangereuses maladies ayant un impact économique sur la culture de tomate.

Les isolations effectuées à partir de la variété Suzana, pour le plein champs, et Kawa dans le cas de la culture sous serre. Les colonies obtenues présentent morphologiquement un aspect identique, à savoir de petites colonies de forme ronde et lisse, d'un aspect crémeux et d'une couleur crème. Quatre isolats représentatifs des sites échantillonnés sont caractérisés par des tests biochimiques et d'hypersensibilité sur tabac (LOPAT : L, Levane ; O, oxydase ; P, Pectinase ; A, Arginine deshydrolyase ; T, Tabac).

Le test d'hypersensibilité sur tabac donne une réaction positive, ce qui confirme la pathogénicité de la bactérie. Par ailleurs, des plantules de 3 à 4 feuilles de la variété Suzana inoculées avec la bactérie ( $10^8$  CFU/ml) montrent les mêmes symptômes que ceux observés en plein champs. Les colonies réisolées à partir des plantules inoculées présentent les mêmes caractéristiques que les colonies initiales. Le postulat de Koch est vérifié.

La coloration de Gram indique que la bactérie est Gram négatif, ayant la forme de bâtonnets. Les résultats des tests biochimiques révèlent que la bactérie est levane positif, catalase négatif, oxydase positif et ne possède ni Arginine deshydrolyase ni Nitrate réductase. Le test Hugh & Leifson révèle un métabolisme oxydatif. Sur la base de tous ces résultats la bactérie s'avère comme étant *Pseudomonas syringae*. Ce travail nécessite des analyses complémentaires, comme par exemple la confirmation de l'identité de la bactérie par des analyses moléculaires se basant sur le gène ARNr 16S amplifié par PCR utilisant des amorces universelles et l'identification du pathovar grâce à des amorces spécifiques.

Par ailleurs nous avons testé la phytotoxicité de certains fongicides, dont l'oxychlorure de cuivre connu pour sa toxicité à l'égard de la bactérie, vis-à-vis des isolats de *Pseudomonas syringae*.

Les résultats de ce test montrent une différence hautement significative entre les isolats. Parmi les fongicides testés, le phosethyl d'aluminium s'avère le plus toxique à la bactérie. L'oxychlorure de cuivre vient en deuxième position.

## **Abstract**

The campaign 2018-2019 has been particularly damaging to the late-season tomato crop in the mostaganem region. Indeed, considerable yield losses, reaching 100% in certain fields are recorded.

In the field or greenhouse, the symptoms are the same. Brown necrosis are visible in all aerial parts of the plant. On leaves, the necroses are surrounded by yellow halo.

The origin of the disease is unknown. The symptomatic study suggests *Pseudomonas syringae* pv. tomato, responsible of dangerous disease that have an economic impact on the tomato crop.

The colonies obtained presented morphologically an identical appearance, namely small round and smooth colonies, a creamy appearance and cream color. Four representative isolates of sampled sites are characterized by biochemical assays and hypersensitivity on tobacco (LOPAT : L, Levane ; O, oxydase ; P, Pectinase ; A, Arginine deshydrolyase ; T, Tabac).

The tobacco hypersensitivity test gives a positive reaction, which confirms the pathogenicity of the bacterium. In addition, seedling of 3 or 4 leaves of the Susana variety inoculated with the bacterium ( $10^8$  CFU/ml) show the same symptoms as those observed in open fields. The colonies reisolated from the seedlings have the same characteristics as the initial colonies. The postulate of Koch is verified.

Gram staining indicates that the bacteria is Gram negative, rod-shaped.

The results of the chemical tests show that bacterium is levan positive, catalase negative, oxidase positive and has neither Arginine deshydrolyase nor nitrate reductase. The Hugh & Leifson test reveals an oxidative metabolism. On the basis of all these results the bacterium turns out to *pseudomonas syringae*. This work requires complementary analyses, such as confirmation of the identity of the bacterium by molecular analyzes based on the PCR-amplified 16S rRNA gene using universal primers and identification of the pathovar using specific primers.

In addition, we have tested the phytotoxicity of certain fungicides, including copper oxychloride, which is known to be toxic to the bacterium, against *pseudomonas syringae* isolates.

The results of this test show a significant difference between the isolates. Among the fungicides tested, phosethyl aluminium is the most toxic to the bacterium. Copper oxychloride comes in second place.

## ملخص

كانت الحملة 2018-2019 مدمرة بشكل خاص لمحصول الطماطم المتأخر في منطقة مستغانم. في الواقع ، يتم تسجيل خسائر كبيرة في الغلة ، تصل إلى 100 ٪ في بعض المجالات. في الحقل أو الدفيئة ، الأعراض هي نفسها. نخر بني واضح في جميع الأجزاء الهوائية من النبات. على الأوراق ، تُحيط النخرات بهالة صفراء .

أصل المرض غير معروف. تشير دراسة الأعراض إلى البكتيريا المسؤولة عن الأمراض الخطيرة التي لها تأثير اقتصادي على محصول الطماطم. قدمت المستعمرات التي تم الحصول عليها مظهرًا متطابقًا من الناحية الشكلية ، وهي المستعمرات الصغيرة الرقيقة والملساء ، والمظهر الكريمي واللون الكريمي. تتميز أربع عزلات تمثيلية للمواقع التي تم أخذ عينات منها بفحوصات كيميائية حيوية وفرط الحساسية في التبغ.

يعطى اختبار فرط الحساسية للتبغ تفاعلًا إيجابيًا ، مما يؤكد إمرضية البكتيريا. بالإضافة إلى ذلك ، تظهر الشتلات المكونة من 3 أو 4 أوراق من مجموعة Susana الملقحة بالبكتيريا في نفس الأعراض التي تظهر في الحقول المفتوحة. المستعمرات المعاد تشكيلها من الشتلات لها نفس خصائص المستعمرات الأولية. يتم التحقق من افتراضات.

يشير تلطيخ الجرام إلى أن البكتيريا سالبة الجرام ، على شكل قضيب.

تظهر نتائج الاختبارات الكيميائية أن البكتيريا إيجابية ليفان ، سلبية الكاتالاز ، أكسيداز موجبة وليس لديها أرجينين ديهيدرولاز ولا اختزال نترات. يكشف عن عملية أيض مؤكسدة. على أساس كل هذه النتائج ، تنتقل البكتيريا إلى العصب الزائف. يتطلب هذا العمل تحليلات تكميلية ، مثل تأكيد هوية البكتيريا عن طريق التحليلات الجزيئية على أساس الجين RNAr تضخيم PCR باستخدام الأشعال محددة. بالإضافة إلى ذلك ، قمنا باختبار السمية النباتية لبعض مبيدات الفطريات ، بما في ذلك أوكسي كلوريد النحاس ، والذي يُعرف بأنه سام للبكتيريا ، ضد عزلات الحقن الزائفة.

تظهر نتائج هذا الاختبار اختلافًا كبيرًا بين العزلات. من بين مبيدات الفطريات التي تم اختبارها ، يعد الألومنيوم الفوسيثيل أكثر المواد السامة للبكتيريا. ويأتي أوكسي كلوريد النحاس في المرتبة الثانية.

## Liste des abréviations

μl : Micro litre

ADNr : Acide Désoxyribonucléique Ribosomique

AG : Auxin et Gibberelli

ARNr : Acide Ribosomique Nucléaire

BA : 6-benzylaminopurine

CFU : unité formant colonie

Ck : Cytokinine

CL : concentration liquide

Cm : centimètre

CPPU : N- (2-chloro-pyridin-4yl) -N'-phénylurée

EC : emulsion concentrée

F : Facteur

FS : gel

g : gramme

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peroxyde d'hydrogène

HR : Réponse d'hypersensibilité

Hrp : Réponse d'hypersensibilité et pathogenicité

KB : B de King

Kcal : kilo calorie

KJ : kilo joul

L : litre

LOPAT : Levane, Oxydase, Pectinase, Arginine déshydrolas, Test d'hypersensibilité de tabac.

ml : millilitre

mm : Millimètre

n.m : nanomètre

NR : Nitrate Réductase

O<sub>2</sub>: Oxygène

PS : *Pseudomonas syringae*

Pv : Pathovar

Qs : quinaux

T1 : Témoin 1

T2 : Témoin 2

T3 : Témoin 3

T4 : Témoin 4

TTSS : Type Three Secretion System

UV : Ultra violet

YDC : yeast dextrose agar

## Liste des figures

- Figure 01** : Diffusion de la tomate dans le monde.
- Figure 02** : Aspect d'un plant de tomate.
- Figure 03** : fleurs (A) et fruits (B) d'un plant de tomate.
- Figure 04** : Graines de tomate.
- Figure 05**: Cycle de vie d'un plant de tomate.
- Figure 06** : Les principaux pays producteurs de la tomate dans le monde.
- Figure 07** : Evolution de la production de tomate en Algérie entre 2000 et 2012.
- Figure 08** : Vue au microscope électronique de cellules bactériennes du genre *Pseudomonas*.
- Figure 09** : Feuille (A) et fruits (B) infectés par *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.
- Figure 10** : Croissance d'une colonie fluorescente (A) ou non fluorescente, crème blanche (B) de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* sur milieu de culture B de King.
- Figure 11** : Cycle de vie de la maladie de moucheture bactérienne.
- Figure 12**: Représentation schématique du système Hrp.
- Figure 13** : Spectrophotomètre JENWAY réglé à longueur d'onde 625 n.m
- Figure 14** : Vue du dispositif expérimental en blocs réalisé sous serre en verre
- Figure 15**: Dégâts de la maladie sur tomate d'arrière saison (variété Suzana, hybride F1), dans la région de mazagan, à Mostaganem, janvier 2019.
- Figure 16**: Nécroses dues à la maladie sur (A), feuille ; (B), tige et sépales ; (C), fruit de la variété Suzana.
- Figure 17** : Aspect des colonies jeunes de 24 heures sur milieu KB.
- Figure 18** : Colonies bactériennes fluorescentes sur milieu King B et sous lumière naturelle du laboratoire. Les isolats représentés sur la figure sont : I3, I6, I7 et I10 sous lumière UV.
- Figure 19** : Colonie bactérienne fluorescente sur milieu King B à 365 n.m.
- Figure 20**: Test d'hypersensibilité sur tabac.
- Figure 21** : Aspect des cellules bactériennes après coloration de Gram.
- Figure 22** : Strie saillante et luisante d'une colonie bactérienne sur milieu levane positif.
- Figure 23** : Réaction de la bactérie en test catalase positif.
- Figure 24** : Réaction de la bactérie sur papier wattman en test oxydase négatif.
- Figure 25** : Réaction de la bactérie en test Hugh et Leifson

**Figure 26 :** Réaction de la bactérie en test Arginine déshydrolase.

**Figure 27 :** Réaction de deux isolats de la bactérie dans le test Nitrate réductase.

**Figure 28 :** pathogénicité, (B) plant inoculé, (A) Témoin.

**Figure 29 :** Symptômes de la maladie sur feuilles (A) et tige (B).

**Figure 30:** Diamètre moyen des colonies bactériennes confrontées à l'oxychlorure de cuivre.

**Figure 31:** Diamètre moyen des colonies bactériennes confrontées au phosetyl d'aluminium.

**Figure 32:** Diamètre moyen des colonies bactériennes confrontées au mancozè

**Figure 33:** Diamètre moyen des colonies bactériennes confrontées au thiophanate methyl.

**Figure 34:** Diamètre moyen des colonies bactériennes confrontées **au** mélange de l'oxychlorure de cuivre + le mancozèbe.

**Figure 35:** Comparaison de la sensibilité des isolats à l'égard des 5 fongicides.

## Liste des tableaux

**Tableau 01 :** Production de la tomate dans la wilaya de Mostaganem.

**Tableau 02 :** Constituants chimiques du fruit de tomate (équivalent en % pour 100g).

**Tableau 03 :** les principales bactéries attaquant la culture de tomate.

**Tableau 04:** Nématodes et principaux ravageurs attaquant la culture de tomate.

**Tableau 05:** les composants du milieu B de King.

**Tableau 06:** Fiche technique de la variété SUZANA hybride F1.

**Tableau 07 :** Région d'échantillonnage, origine des isolats et leur codification.

**Tableau 08 :** Résultats des tests biochimiques et culturels pour distinguer les espèces de *Pseudomonas* fluorescents.

**Tableau 09 :** Choix des isolats bactériens.

**Tableau 10 :** Doses des produits commerciaux testées sur de PS.

**Tableau 11 :** Tableau d'analyse de variance

## Table de matière

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

### Etude bibliographique

#### Chapitre I : La plante hôte : *Lycopersicum esculentum* Mill.

I.1. Introduction.....	3
I.2. Origine et historique.....	3
I.3. Description botanique de la plante de tomate .....	4
I.4. Taxonomie et Classification.....	6
I.4.1. Classification systématique .....	7
I.4.2. Classification variétale .....	7
I.4.2.1. Variétés déterminées .....	7
I.4.2.2. Variétés indéterminées .....	7
I.5. Systèmes de culture .....	7
I.5.1. Culture sous abri .....	7
I.5.2. Culture en plein champs.....	7
I.6. Cycle biologique de la tomate .....	7
I.7. Importance de la tomate.....	8
I.7.1. Superficie et production de la culture de la tomate .....	9
I.7.1.1. La production de tomate dans le monde .....	9
I.7.1.2. La Production de tomate en Algérie .....	9
I.7.1.3. La production dans la wilaya de Mostaganem .....	10
I.8. Valeur nutritionnelle .....	11
I.9. Les exigences de la culture .....	11

I.10. Rôles des hormones végétales dans le développement de la tomate.....	
I.10.1. Mise à fruit et développement.....	12
I.11. Maladie et ravageurs de la tomate .....	13
I.11.1. Maladies fongiques .....	13
I.11.2. Maladies bactériennes .....	14
I.11.3. Nématodes et ravageurs .....	15

## Chapitre II. L'agent pathogène: *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*

II.1. Le genre <i>Pseudomonas</i> .....	16
II.2. La moucheture bactérienne .....	17
II.2.1. Symptomatologie.....	17
II.2.2. <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> .....	18
II.2.3. Taxonomie et classification .....	19
II.2.4. Cycle biologique de <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> .....	19
II.2.5. Source d'inoculum et conditions favorables à son développement.....	20
II.3. Différentes races de <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> .....	20
II.4. Système de sécrétion .....	20
II.4.1. Système de sécrétion de type III.....	21
II.5. Moyen de lutte .....	22

## Etude expérimentale

### Chapitre I : identification du pathogène

I.1. Matériels et méthodes.....	23
I.1.1. Objectif.....	23
I.1.2. Prospections et échantillonnage .....	23
I.1.3. Isolement des bactéries pathogènes.....	23
I.1.4. Purification et conservation d'isolat.....	24
I.1.5. Identification de la bactérie.....	24

I.1.5.1. Test d'hypersensibilité sur tabac.....	24
I.1.5.2. Les tests biochimiques.....	25
I.1.5.2.1. Coloration de Gram.....	26
I.1.5.2.2. Test levane.....	26
I.1.5.2.3. Test catalase .....	27
I.1.5.2.4. Test Oxydase .....	27
I.1.5.2.5. Test Hugh et Leifson.....	27
I.1.5.2.6. Test Arginine déshydrolase.....	28
I.1.5.2.7. Test Nitrate réductase .....	28
I.1.6. Vérification du postulat de Koch.....	29
I.1.6.1. Obtention des plantules .....	29
I.1.6.2. Transplantation des plantules.....	30
I.1.6.3. Préparation de l'inoculum.....	30
I.1.6.4. Entretien des plantules.....	30
I.1.6.5. Inoculation.....	31
I.1.6.6. Dispositif expérimental.....	31
I.2. Résultats.....	32
I.2.1. Prospections et symptômes de la maladie.....	32
I.2.2. Prélèvement des échantillons.....	33
I.2.3. Isolats de la bactérie obtenus après purification.....	33
I.2.4. Identification de l'agent causal.....	33
I.2.4.1. Aspect macroscopique.....	33
I.2.4.2. Test d'hypersensibilité sur tabac .....	35
I.2.4.3. Test biochimique.....	35
I.2.4.3.1. Observation microscopique.....	35
I.2.4.3.2. Test levane.....	36
I.2.4.3.3. Test de Catalase.....	36
I.2.4.3.4. Oxydase.....	37
I.2.4.3.5. Test de Hugh et Leifson.....	37

I.2.4.3.6. Le test Arginine deshydrolase.....	38
I.2.4.3.7. Recherche de Nitrate réductase .....	38
I.2.4.4. Récapitulatif des résultats des tests effectués sur les isolats bactériens	39
I.2.5. Test de pathogénicité .....	40
I.3. Discussion.....	41

**Chapitre II : Etude de la sensibilité du pathogène vis-à-vis de quelques  
fongicides.**

**II.1. Matériels et méthodes**

II.1.2. Objectif .....	43
II.1.3. Test de toxicité des bactéricides et fongicides sur les isolats de PS .....	43
II.1.4. Choix des isolats de PS.....	43
II.1.5. Réalisation de la technique .....	43
II.2. Résultat .....	45
II.2.1. Phytotoxicité des produits.....	45
II.2.2. Interprétation des résultats.....	49
II.2.3. Discussion .....	50

Conclusion générale.....	51
--------------------------	----

**Annexe**

**Références**

# Introduction

---

## Introduction

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) fait partie de la grande famille des solanacées, aux côtés de la pomme de terre, de l'aubergine, du poivron et du piment. Considérée comme deuxième ressource alimentaire mondiale après les céréales. Elle est adaptée à des conditions de culture très variées et destinée à la consommation en frais ou à la transformation industrielle (Causse et *al.*, 2000).

La superficie mondiale consacrée à cette culture est de 4 782 754 hectares, avec un rendement moyen par mètre carré de 3,7 kilos de tomates (FAO, 2018).

Compte tenu de son importance économique, l'espèce fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques et sert comme plante modèle en génétique. Elle a donné naissance à la première variété génétiquement transformée autorisée à la consommation et commercialisée aux États-Unis dans les années 1990 (Anonyme, 2010).

En Algérie, la tomate a pris une place importante dans l'économie du pays. Elle est considérée comme une espèce prioritaire et classée en troisième lieu après la pomme de terre et l'oignon (Snoussi, 2010; FAO, 2011). Les conditions climatiques des régions productrices de tomate sont très favorables pour l'obtention de bons rendements (Zidani, 2007).

La culture est sujette cependant aux attaques de nombreux ravageurs et maladies qui impactent directement ses rendements et engendrant des conséquences économiques non négligeables. Si les ravageurs et les maladies d'origine fongique peuvent être gérés grâce aux méthodes de lutte culturale et de lutte chimique- à l'exclusion peut être des produits cupriques- la dernière est inopérante dans le cas des maladies bactériennes. En effet la résistance des bactéries par rapport aux produits cupriques est connue depuis fort longtemps.

Durant la campagne 2018-2019, les cultures de tomate d'arrière saison de la région de Mostaganem ont subi d'importantes attaques d'une maladie jusque là inconnue. Les pertes de rendement sont considérables, ils ont atteint 100 % dans certaines zones de la région comme au niveau de la commune de Mazagran et de Stidia. Les primeurs sont atteintes mais avec des incidences et des sévérités moindres.

Les symptômes relevés durant le mois janvier dans les champs infectés par la maladie se caractérisent par de larges nécroses de couleur brun noirâtre, touchant tous les organes aériens de la plante, y compris les sépales et les fruits. Au niveau des tiges, ces nécroses sont huileuses. Une maladie d'origine bactérienne est soupçonnée, un diagnostic fiable est nécessaire.

# Introduction

---

Les objectifs de ce travail sont doubles :

1. Identifier l'agent pathogène,
2. Etudier la sensibilité du pathogène vis-à-vis de certains fongicides

Notre travail est subdivisé en deux grandes parties:

- La première partie concerne l'étude bibliographique, elle comporte deux chapitres :
  - Chapitre 1 : La plante hôte (*Lycopersicon esculentum* Mill.),
  - Chapitre 2 : L'agent pathogène : *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.
- La deuxième partie, consacrée à l'étude expérimentale, comporte aussi deux chapitres :
  - Chapitre 1 : Identification du pathogène
  - Chapitre 2 : Etude de la sensibilité du pathogène vis-à-vis de quelques fongicides.
- Conclusion générale

# Partie bibliographique

## I. La plante hôte : *Lycopersicum esculentum* Mill.

### I.1. Introduction

La tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) est une plante de la famille des solanacées. Elle occupe une place importante dans le secteur maraîcher en Algérie. Elle est considérée comme une espèce prioritaire comme la pomme de terre, l'ail et l'oignon (Djellal et Khennaoui, 2016).

La production mondiale de tomate a battu des records au cours de l'année 2016 avec une production de 4671.81 millions de kilos. Le volume a progressé de 29,08% en 10 ans. La superficie consacrée à cette culture était de 4 782 754 hectares, ce qui représente un rendement moyen par mètre carré de 3,7 kilos de tomate (FAO, 2016).

En Algérie, la production de la tomate s'est établie à 13.72 millions de quintaux durant la campagne 2017- 2018, le rendement a été de 428 qx/hectare pour la tomate plein champ et 1.225 qx/hectare pour la tomate sous serre. Les plus grandes wilayas productrices de la tomate sont Biskra avec une production de 2.33 millions de qx, Mostaganem avec une production de 1.33 millions de qx, Tipaza avec 1.04 million de qx et Ain Defla avec 728.250 qx.

<http://www.algerie-dz.com/forums/showthread.php?t=431307> consultez le site 2018.

### I.2. Origine et historique

La tomate est originaire des Andes d'Amérique du Sud. Elle fut domestiquée au Mexique, puis introduite en Europe en 1544 au 16<sup>ème</sup> siècle via l'Espagne (Grasselley et al., 2000). Les indigènes l'appelaient « Tomati », ce nom provient d'un nom Aztèque « Zitomate » où l'ont trouvé les Conquistadors Espagnols lors de la conquête de Tenochtitlan (Mexico) par Hernan Cortés en 1519 (Boutoumou et Boumaza, 2016). Sa culture s'est propagée en Asie du Sud et en Asie de l'Est, en Afrique et au Moyen Orient (Shankara et al., 2005), par la suite, la tomate a été introduite dans d'autres régions d'Amérique du Nord (Naika et al., 2005) (Figure 01).

En Algérie, la tomate a été introduite par les cultivateurs du Sud de l'Espagne. Sa culture a commencé dans la région d'Oran en 1905 puis, elle s'étendit vers le centre, notamment au littoral Algérois (Latigui, 1984).

Les botanistes ont attribué plusieurs dénominations à la tomate, à savoir «*Solanum esculentum*, *Solanum lycopersicum* L., ou *Lycopersicon lycopersicum* » (Blancard et al., 2009). Le genre *Lycopersicon* comprend neuf espèces dont une seule (*L. esculentum*) sous sa forme sauvage cérasiforme qui pourrait être à l'origine des variétés cultivées actuellement (Gallais et Bannerot, 1992).



**Figure 01** : Diffusion de la tomate dans le monde (Gallais et Bannerot, 1992).

- (1) Pérou : Centre de diversification, (2) Mexique : Premier centre de domestication, (3) Europe : Deuxième centre de domestication, (4) Etats Unis : Troisième centre de domestication.

### I.3. Description botanique de la plante de tomate

La tomate est une plante maraichère, herbacée, annuelle et aromatique appartenant à la famille des Solanaceae. Sa taille varie entre 40 cm à plus de 5 mètres selon les variétés et le mode de culture (Bernard *et al.*, 2009).

- ✚ **Le système racinaire**: Il est constitué par une racine pivotante qui pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm et même plus. En sol profond, on peut trouver des racines jusqu'à 1 mètre de profondeur (Chaux et Foury, 1994). La racine principale produit une haute densité de racines latérales et adventices (Shankara, 2005) (Figure 02).
- ✚ **La tige** : elle est anguleuse, épaisse aux entre-nœuds, pubescent, de consistance herbacée en début de croissance. (Chaux et Foury, 1995) (Figure 02).
- ✚ **Les feuilles** : elles sont disposées en spirale et ont 15 à 50 cm de largeur. Elles sont alternées sur la tige (Raemaekers, 2001) (Figure 02). Les folioles sont ovales à oblongues, couvertes de poils glandulaires. Le pétiole mesure entre 3 et 6 cm (Rey, 2005).

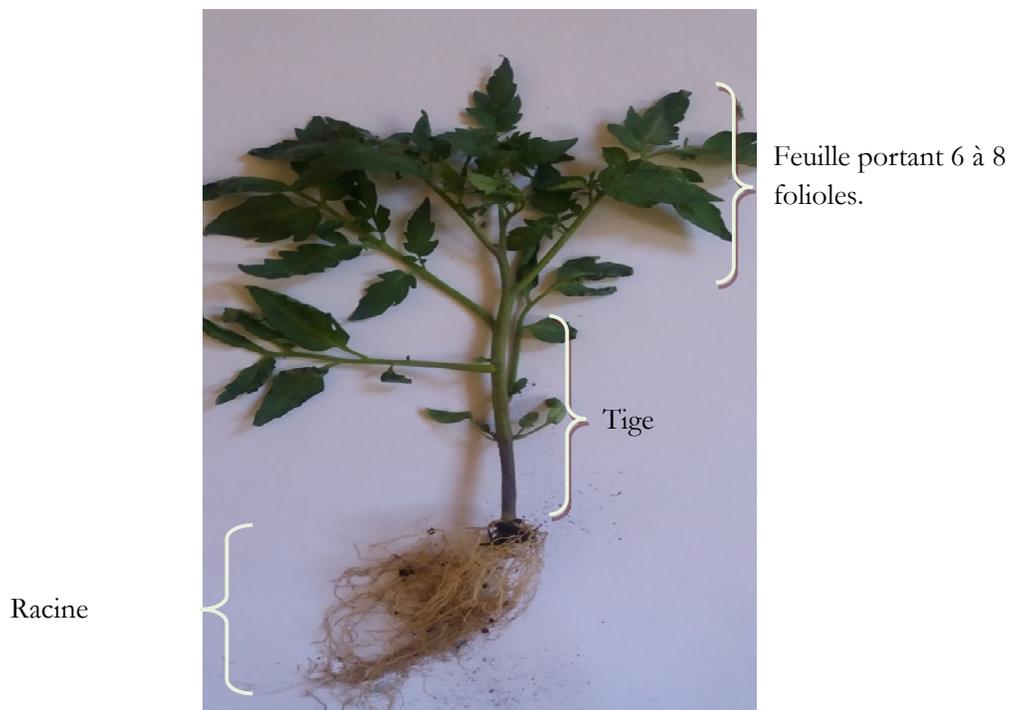


Figure 02 : Aspect d'un plant de tomate (Original, 2019)

- ✚ **Les fleurs** : Elles sont petites, jaunes, en formes d'étoile (Polese, 2007). Elles sont groupées en inflorescences simples ou ramifiées, leur nombre est variable allant de 5 à 12 (Bernard et *al.*, 2009) (Figure 03).
- ✚ **Les fruits** : Ce sont des baies charnues, au placenta très développé, d'une forme globulaire avec un diamètre variant entre 2 à 15 cm. A maturité, leur couleur vire du jaune au rouge en passant par l'orange (Alaoui, 2009). Ils peuvent être ronds et réguliers ou côtelés (Shankara et *al.*, 2005) (Figure 03).



Figure 03 : fleurs (A) et fruits (B) d'un plant de tomate (Original, 2019).

- ✚ **Les graines** : aplaties, petites de forme plus ou moins lenticulaire, grisâtres ou beiges et velues. Les graines correspondent aux semences microbiotiques c'est-à-dire ayant une longévité de quatre à cinq ans. Un gramme de graines comprend de 300 à 400 graines (Toussaint et Baudoins, 2010). L'embryon est enroulé dans l'albumen (Shankara et *al.*, 2005) (Figure 04).



Figure 04 : Graines de tomate (Original, 2019).

#### I.4. Taxonomie et Classification

La tomate a été classée par Linné en 1753, comme *Solanum lycopersicon*, puis, Philip Miller lui attribua en 1754 le nom de *Lycopersicon esculentum* qui a été retenu jusqu'à présent (Munroe et Small, 1997).

##### I.4.1. Classification systématique

<b>Règne</b>	: <i>Plantae</i>
<b>Sous-Règne</b>	: <i>Tracheobionia</i>
<b>Division</b>	: <i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	: <i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	: <i>Asteridae</i>
<b>Ordre</b>	: <i>Solanales</i>
<b>Famille</b>	: <i>Solanacées</i>
<b>Genre</b>	: <i>Lycopersicum</i>
<b>Espèce</b>	: <i>Lycopersicum esculentum</i>

Benton (2008).

## **I.4.2. Classification variétale**

### **I.4.2.1. Variétés déterminées**

Les variétés à croissance déterminée se supportent elles-mêmes et n'ont généralement pas besoin de tuteur. Lorsque les conditions météorologiques sont rigoureuses, il est conseillé de protéger les plantes. Les variétés à croissance déterminée arrêtent leur croissance après la floraison (Shankara et *al.*, 2005). Elles sont utilisées généralement lors de la culture en plein champs, en Algérie on trouve des variétés fixées et des variétés hybrides (Snoussi, 2010).

### **I.4.2.2. Variétés indéterminées**

Ces variétés présentent une tige principale poussant avec régularité et formant un bouquet à fleurs toutes les trois feuilles généralement. Ce groupe se caractérise par un rendement important qui s'étale sur une longue période (Laumonnier, 1979).

## **I.5. Systèmes de culture**

La tomate est cultivée selon deux systèmes, réalisée en général sous abris ou en plein champs (Chaux et Foury, 1994).

### **I.5.1. la culture sous abri**

C'est un système de production intensive. Les abris en verre, très équipés (chauffés et aérés) et relativement durables, sont utilisés dans les pays froids, alors que les serres en plastique sont répandues notamment dans la région méditerranéenne (Zella et Smadhi, 2009). La production en serre se fait selon deux types de culture, soit en plein sol ou en hors-sol (Gravel, 2007).

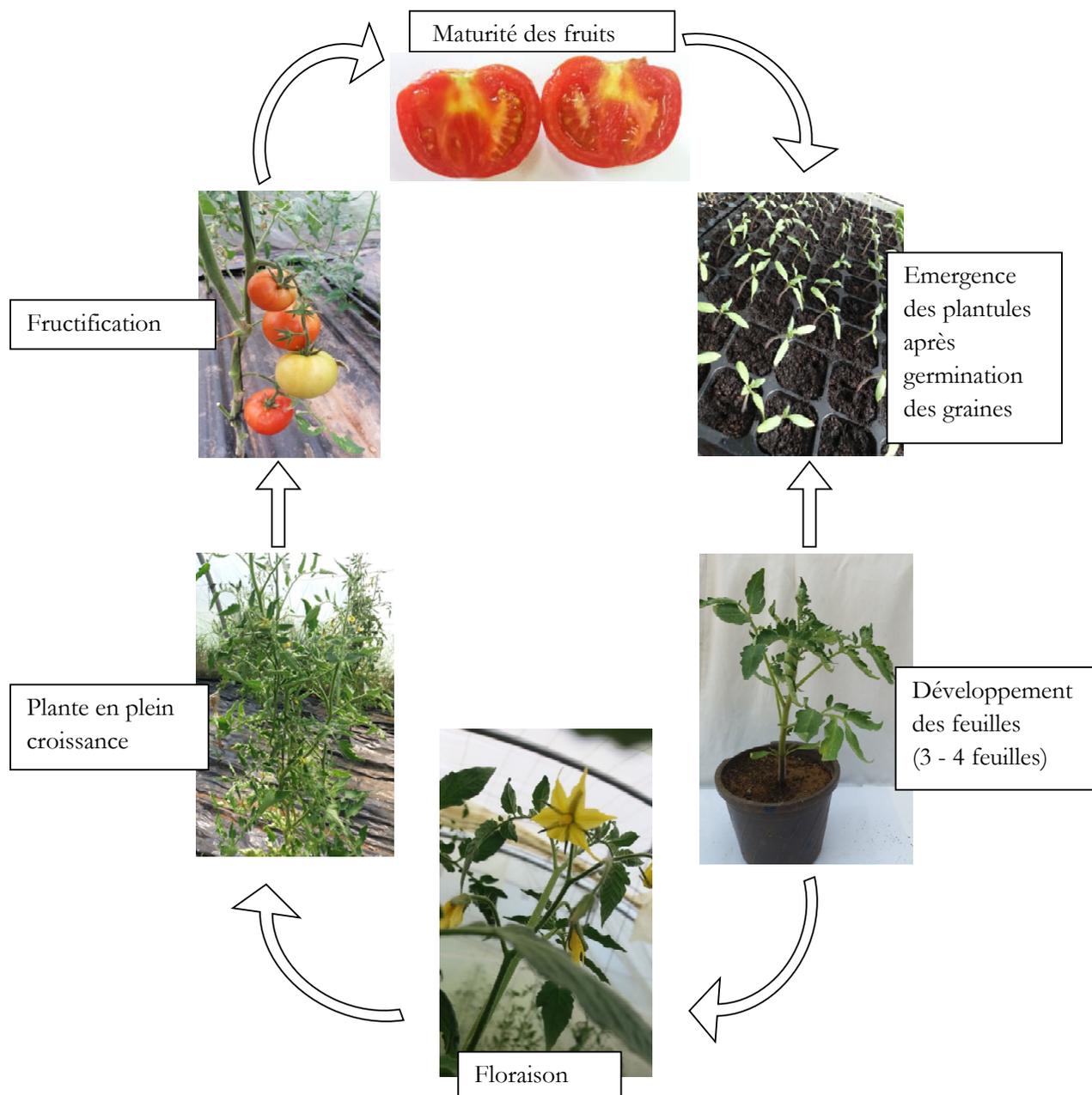
### **I.5.2. la culture de plein champs**

Les semis de tomate de plein champ sont réalisés au cours de deux périodes de l'année, en Février-mars pour la culture de saison et en juin-juillet pour la culture d'arrière-saison. La première surtout permet à la plante d'arriver au stade de récolte sans utilisation d'artifices de culture car les plantes sont soumises aux conditions climatiques modérées, alors que la seconde dont la floraison coïncide avec les températures élevées de l'été (mois d'Août) connaît de nombreux problèmes tels que l'avortement des fleurs, des attaques d'acariens et de maladies.

## **I.6. Cycle biologique de la tomate**

D'après Gallais et Bannerot (1992), le cycle végétatif complet de graine à graine de tomate varie selon les variétés, l'époque et les conditions de culture ; mais il s'étend généralement en moyenne de 3,5 à 4 mois du semis jusqu'à la dernière récolte (7 à 8 semaines de graine à fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit).

Le cycle de vie d'un plant comprend six phases (Figure 05).



**Figure 05:** Cycle de vie d'un plant de tomate (Original, 2019).

### I.7. Importance économique de la tomate

La tomate occupe une place très importante dans l'agriculture mondiale. Elle est cultivée dans presque tous les pays du monde (Desmas, 2005). La tomate est la deuxième culture légumière après la pomme de terre par sa production au niveau mondial. Sa production atteint de 34 millions de tonnes sur 4,98 millions hectares annuellement (FAO, 2015).

### I.7.1. Superficie et production de la culture de tomate

#### I.7.1.1. Production de la tomate dans le monde

En tête de classement nous retrouvons la Chine avec un volume de tomate produit de 56 308 910 tonnes soit 36 % du total mondial, vient ensuite l'Inde avec 18 399 000 tonnes mais avec un rendement très bas (2,42 kg/m<sup>2</sup>). Puis les Etats-Unis avec 13 038 410 tonnes et un rendement de 9,03 kg/m<sup>2</sup>, la Turquie avec 12 600 000 tonnes est en 5<sup>e</sup> position et l'Egypte avec 7 943 000 tonnes (FAO, 2016) (Figure 06).

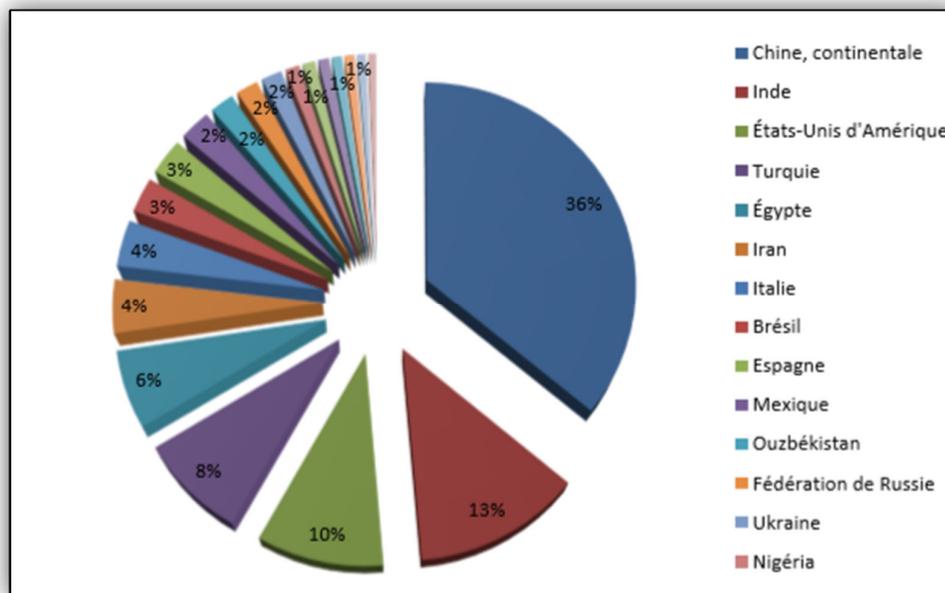


Figure 06 : Principaux pays producteurs de tomate dans le monde (FAO stat, 2016).

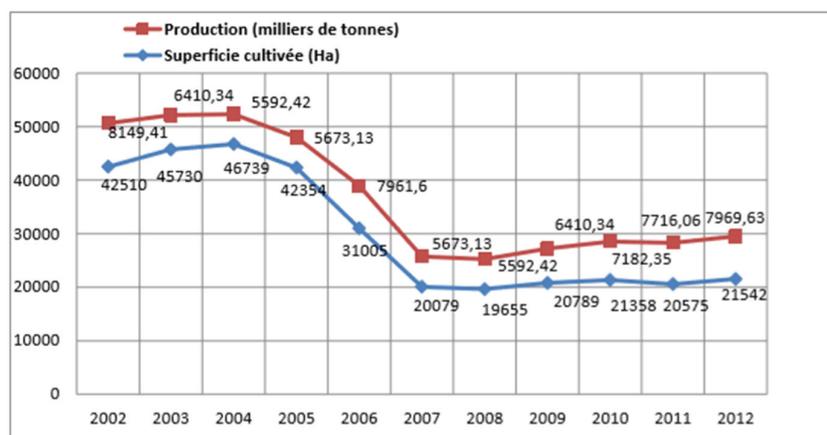
#### I.7.1.2. Importance économique de la tomate en Algérie

En Algérie la tomate peut prendre une place importante dans l'économie du pays. Elle est considérée comme une espèce prioritaire et classée en troisième lieu après la pomme de terre et l'oignon (Snoussi, 2010; FAO, 2011). En effet, les conditions climatiques des régions productrices de tomate sont très favorables pour l'obtention de bons rendements (Zidani, 2007).

Les zones réservées à la culture de tomates sont concentrées au niveau :

- Des plaines du littoral à climat tempéré : Alger, Tipaza, Bejaia, Oran, Mostaganem, Annaba, Skikda.
- Du centre : Blida, Ain Defla, Chlef.
- Du Sud à climat aride : Biskra

Dans ces régions, les investissements sont très importants, du fait du climat qui permet d'avoir des récoltes entre décembre et avril, avec des rendements qui peuvent atteindre jusqu'à 750 Qx / ha (Snoussi, 2010) (Figure 07).



**Figure 07 :** Evolution de la production de tomate en Algérie entre 2000 et 2012 (FAO, 2014).

### I.7.1.3. La production dans la wilaya de Mostaganem

La production de la tomate a présenté pendant les années (2003-2005) une stabilité des superficies cultivées de l'ordre de 2123 à 2340 ha. Cette production a diminué durant l'année 2006 où il a été enregistré 426260 qx pour une superficie de 2011 ha, pour reprendre en expansion jusqu'à l'année 2016. Une diminution considérable de la production de tomate durant les années 2017-2018 (D.S.A. Mostaganem, 2018) (tableau 01).

**Tableau 01 :** Production de la tomate dans la wilaya de Mostaganem (DSA, 2018).

Année	Superficie (ha)	Production (qx)
2010	2 336	680 143
2011	2 298	662 643
2012	2 512	779 695
2013	2 427	813 313
2014	2 541	926 996
2015	2 611	939 128
2016	1 716	1 031 064
2017	1 669	962 415
2018	1 856	963 160

### I.8. Valeur nutritionnelle

La tomate est très prisée pour son intérêt alimentaire et sa valeur nutritive. Le fruit est très riche en vitamine C, en sucres et en acides organiques. Ses teneurs en potassium, en vitamine A, B carotène en font un légume à propriétés anticancéreuses (Blancard et *al.*, 2009). De ce fait, elle est pauvre en calories (15 Kcal pour 100 g, soit 63 KJ) (Favier et *al.*, 2003) (Tableau 02).

Dans les dernières décennies, la consommation de tomate a été associée à la prévention de plusieurs maladies comme le cancer ou les maladies cardiovasculaires (Sharoni et Levi, 2006; Wilcox et *al.*, 2003). Cet effet protecteur a été principalement attribué à ses précieux composants bioactifs avec propriétés antioxydantes (Borguini et Torres, 2009).

**Tableau 02 :** Constituants chimiques du fruit de tomate (équivalent en % pour 100g) (Davies et *al.*1981, Blancard et *al.*, 2009).

Eau		95%
Matières sèches	Sucre (glucose et fructose)	55%
	Acide organique	12%
	Minéraux	7%
	Pigment caroténoïdes, Composés volatiles et vitamine (A,B,C,K,E)	5%
	Cellulose et matières pectiques	21%
		5%

### I.9. Les exigences de la culture

- **La température :** La tomate est exigeante en ce qui concerne les températures dont l'optimum se situe entre 13 et 20 °C pendant la nuit et entre 20 et 27° C pendant le jour (Nyabyenda, 2007). En dessous de 10°C et au dessus de 38°C, les tissus végétaux sont endommagés (Chaux et Foury, 1994 ; Naika et *al.*, 2005) et les fleurs avortent.
- **La lumière :** la tomate exige une grande quantité de lumière pour assurer la germination des grains de pollen (Puel, 2000). L'intensité de la lumière affecte la couleur des feuilles (photosynthèse) et aussi la mise à fruits et leurs couleurs (Naika et *al.*, 2005).
- **L'humidité :** Elle joue un rôle important pour la bonne végétation de la tomate. Une humidité très élevée favorise la pourriture des fruits, les moisissures au niveau des bourgeons et fruits (Naika et *al.*, 2005). Alors qu'un taux d'humidité faible constitue

une source de stress pour la plante (Baptista et *al.*, 2012). L'humidité optimale de l'air est de 50 à 60%.

- **Le sol :** La tomate préfère les sols riches en matière organique, meubles et profonds, à forte capacité de rétention en eau, mais bien aérés (Chaux et Foury, 1994). Dans les sols d'argile lourde, un labour profond permettra une meilleure pénétration des racines (Naika et *al.*, 2005).
- **L'eau :** La tomate est très exigeante en eau (Chaux et Foury, 1994 notamment pendant la floraison et à la fin du développement des fruits (Naika et *al.*, 2005).
- **Les éléments fertilisants :** La quantité d'engrais à fournir varie en fonction notamment de la richesse du sol, du climat et de la technique d'irrigation (FAO, 1988). En général la tomate réagit bien avec les engrais organiques combinés aux engrais minéraux. Trop d'engrais azotés retarde la maturité des fruits (Naika et *al.*, 2005).

## I.10. Rôles des hormones végétales dans le développement de la tomate

### I.10.1. Mise à fruit et développement

En raison de son importance agronomique, la mise et le développement des fruits ont été largement étudiés. Dans le cas de la tomate, le développement précoce des fruits peut être divisé en trois phases (Gillaspy et *al.*, 1993).

- La phase I comprend le développement des ovaires, la pollinisation, la fertilisation et la mise des fruits.
- La phase II comprend une division cellulaire qui dure de 7 à 14 jours après la pollinisation.
- La phase III comprend l'expansion des cellules qui est responsable de la détermination de la taille finale du fruit.

Les hormones végétales jouent un rôle important dans le développement des fruits de la tomate (Srivastava et Handa, 2005).

#### ➤ **Auxin et Gibberelline**

L'application d'Auxines et de Gibberellines aux ovaires non pollués peut induire la mise à fruits chez la tomate de même que l'application d'auxines synthétiques (Serrani et *al.*, 2007). Les hormones peuvent induire des gènes de biosynthèse de l'IAA, induisent également le développement des fruits (Ficcadenti et *al.*, 1999).

#### ➤ **Cytokinine (CK)**

On pense que les CK jouent un rôle important dans le développement du fruit, car l'application exogène de CK synthétiques, telles que la 6-benzylaminopurine (BA) et le N- (2-

chloro-pyridin-4yl) -N'-phénylurée (CPPU) peut induire des fruits. Les tomates parthénocarpiques induites par la CPPU sont plus petites que les fruits pollinisées, en raison de la réduction de la taille des cellules du péricarpe plutôt que du nombre de cellules.

#### ➤ ABA

Les concentrations d'ABA sont relativement élevées dans les ovaires matures non pollinisés et ont diminué immédiatement après la pollinisation. Le niveau de transcription du gène biosynthétique ABA SINCED1 diminue immédiatement après la pollinisation, alors que le niveau de transcription du gène lié à la dégradation de l'ABA, SICYP707A1, augmente (Nitsch et al., 2009). Ces résultats suggèrent que la fonction de l'ABA dans la nouaison pourrait être l'empêchement du développement des fruits avant la pollinisation et le maintien de l'ovaire à l'état de dormance (Nitsch et al., 2009).

#### ➤ Éthylène

L'expression des gènes liés à l'éthylène est modifiée dans les ovaires de la tomate pendant la nouaison (Vriezen et al., 2008). La production d'éthylène et les taux de transcription des gènes biosynthétiques de l'éthylène sont diminués pendant la nouaison (Shinozaki et al., 2015).

### I.11. Maladie et ravageurs de la tomate

La culture de tomate est sujette à de nombreuses attaques de maladies. Les pertes qu'elles provoquent sont parfois sévères (Shankara et al., 2005).

#### I.11.1. Maladies fongiques

- **Mildiou** : c'est l'une des maladies les plus dévastatrices trouvée dans la culture de tomate à travers le monde (Céspedes, 2013). Elle est causée par un oomycète- *Phytophthora infestans*- qui s'attaque à toutes les parties aériennes de la plante provoquant ainsi de larges plages huileuses à la face supérieure des feuilles avec un duvet blanc à la face inférieure (Agrios, 2005). L'accumulation rapide de l'inoculum se produit généralement dans les champs ou sous abris pendant la saison favorable, à une température moyenne de 20 à 22°C et une humidité relativement élevée (Junior, 2006).
- **Pourriture grise de la tomate** : C'est l'une des maladies les plus répandues sur les cultures de tomates sous abri (Baptista et al., 2012). Elle est causée par *Botrytis cinerea*, un champignon polyphage, nécrotrophe attaquant principalement les parties aériennes des plantes hôtes lorsque le taux d'humidité est élevée (Williamson et al., 2007). La maladie se manifeste sous forme de taches beiges en anneaux centriques parfois en forme de flamme en plus des chancre de couleurs gris beige légèrement déprimés avec un duvet grisâtre

constitué des fructifications conidiennes du champignon (El akel et *al.*, 2001). Les fleurs sont également attaquées.

- **Oïdium** : causée par *Leveillula taurica*, les symptômes se résument à l'apparition de taches jaunes sur la face supérieure des feuilles et un duvet blanc à la face inférieure. Après jaunissement, les feuilles se dessèchent et tombent (Ryckmans, 2008). Le développement de la maladie est favorisé par une humidité relative supérieure à 90%, des températures comprises entre 17 et 23°C et une mauvaise aération des serres (Alice et christine, 2009).
- **Fusariose** : La fusariose peut être causée par deux champignons telluriques, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici*. C'est parmi les maladies les plus dévastatrices. Au début, les symptômes ne sont visibles que sur une seule moitié de la surface des feuilles, des branches ou des plantes (Ruocco, 2001). Le jaunissement des feuilles et le flétrissement se propagent à partir de la base de la tige (Mohamed, 2003 ; Sudhamoy, 2009).
- **Alternariose** : Cette maladie est provoquée par plusieurs espèces d'*Alternaria*, dont les plus connues sont *A. tomatophila* (ex-*Alternaria solani*) et *A. alternata* f. sp. *lycopersici*. Ces deux pathogènes sont à l'origine de taches rondes et brunes sur les feuilles qui peuvent atteindre un diamètre de 1,5 cm (Kumar et *al.*, 2008). La maladie se propage par le biais des graines, le vent, les pluies ainsi que des restes de cultures infectées (Trottin-Caudal et *al.*, 2011).

### I.11.2. Maladies bactériennes

Les caractéristiques des principales maladies bactériennes sont résumées dans le tableau 03.

**Tableau 03** : les principales bactéries attaquant la culture de tomate

maladie	Agent causal	Symptômes	Auteurs
Chancre bactérien	<i>Clavibacter michiganensis</i> sub. sp. <i>michiganensis</i>	-flétrissement unilatéral des feuilles - En coupes longitudinales tige et pétioles montrent des stries brunâtres	Pyron (2006) et Gilli, (2007)
Moucheture de la tomate	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	-Tâches noires sur feuilles -Tâches brunes nécrotiques sur fruit	Cazelles (1992) Naika et <i>al.</i> , (2005)
Gale bactérienne	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i> .	-Apparition de taches brunâtres entourées d'un halo jaune sur feuilles	AL-Saleh (2011)

### I.11.3. Nématodes et ravageurs

Les principaux nématodes et ravageurs touchant la culture de tomate sont présentés dans le tableau 04.

**Tableau 04:** Nématodes et principaux ravageurs attaquant la culture de tomate.

Maladie	Agent causal	Symptômes	Auteurs
<b>Nématodes</b>	<i>Meloïdogyne icognita</i> <i>Meloïdogyne arenaria</i>	-Nodosités sur racines. -Réduction de la croissance -Flétrissement de la plante	Naika et al. (2005)
<b>Acariens</b>	<i>Tetranychus urticae</i>	-Coloration bronzée ou brun roux des feuilles. - Dessèchement des partie aérienne - Dépérissement des plantes les plus atteintes.	Sereno et Djian (2011)
<b>Pucerons</b>	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> , <i>Myzus persicae</i> , <i>Aulacorthum solani</i> <i>Aphis gossypii</i>	-Développement de la fumagine sur les feuilles et les fruits. - Croissance limitée et déformation des feuilles et des fruits.	Ruocco et al. (2011)
<b>Papillons et Noctuelles</b>	<i>Helicovera armigera</i> , <i>Chrysodeixii chalcites</i> <i>Autographa gamma</i>	-Lésions et perforation du feuillage. -Galerics remplies d'excréments	Trottin Caudal et al. (2011)
<b>Thrips</b>	<i>Frankliniella occidentalis</i>	-Lésions sur le limbe qui se nécrose pour prendre une teinte beige.	Desneux, (2010).
<b>Aleurodes</b>	<i>Bemisia tabaci</i> <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	-Développement de la fumagine -Coloration irrégulière des fruits	Blancard (2009)
<b>Mineuse de la tomate</b>	<i>Tuta absoluta</i>	-Mines remplies d'excréments dans les feuilles, les bourgeons et les fruits. -Les semis endommagés peuvent cesser de pousser et mourir.	Naika et al., (2005)

## II. L'agent pathogène: *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*

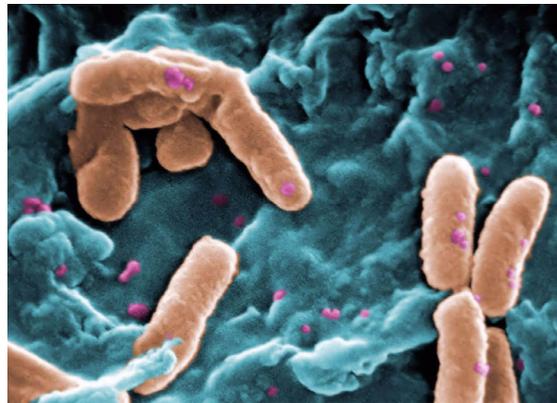
### II.1. Le genre *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* est un groupe bactérien particulièrement important qui appartient à la sous-classe des  $\gamma$  *protéobactéries* et comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires (Bossis et al., 2000 ; Palleroni et Moore, 2004). Ce genre bactérien est capable de coloniser le sol, la rhizosphère, la phyllosphère, les tissus végétaux et animaux en décomposition, l'eau douce et l'eau de mer (Gaignard et Luisetti, 1993; Peix et al., 2009).

Par définition, les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires, à métabolisme respiratoire strictement aérobie et chimio-organotrophes. Mais cette définition ne permet pas de les différencier des autres bactéries à Gram négatif, et doit être complétée par d'autres caractéristiques phénotypiques (Palleroni, 2008) (Figure 08).

Dans la première décennie du nouveau millénaire, la révision taxonomique la plus détaillée du genre *Pseudomonas* est basée sur le séquençage du gène codant l'ARNr 16S (Anzai et al. 2000 ; Svetlana et al., 2009).

Les *Pseudomonas* pathogènes sont classés en deux groupes en fonction de l'ADNr (acide désoxyribonucléique ribosomique). Le premier rassemble les bactéries qui n'accumulent pas le poly- $\beta$ -hydroxybutyrate (réserve de carbone et d'énergie) et produisent un pigment fluorescent. On retrouve notamment dans ce groupe *P. fluorescens*, *P. syringae* (dépérissement de l'abricotier, du marronnier) et *P. cichorii* (maladie des tâches noires du tabac, de la salade ...etc). Le second groupe rassemble des bactéries phytopathogènes accumulant le poly- $\beta$ -hydroxybutyrate et ne produisant pas de pigment fluorescent comme par exemple *P. gladioli* (agent de la pourriture molle des champignons, de l'oignon) (Lepoivre, 2003, Kersters et al., 1996; Peix et al., 2009; Young, 2010).



**Figure 08** : Vue au microscope électronique de cellules bactériennes du genre *Pseudomonas* (G x 20 000).

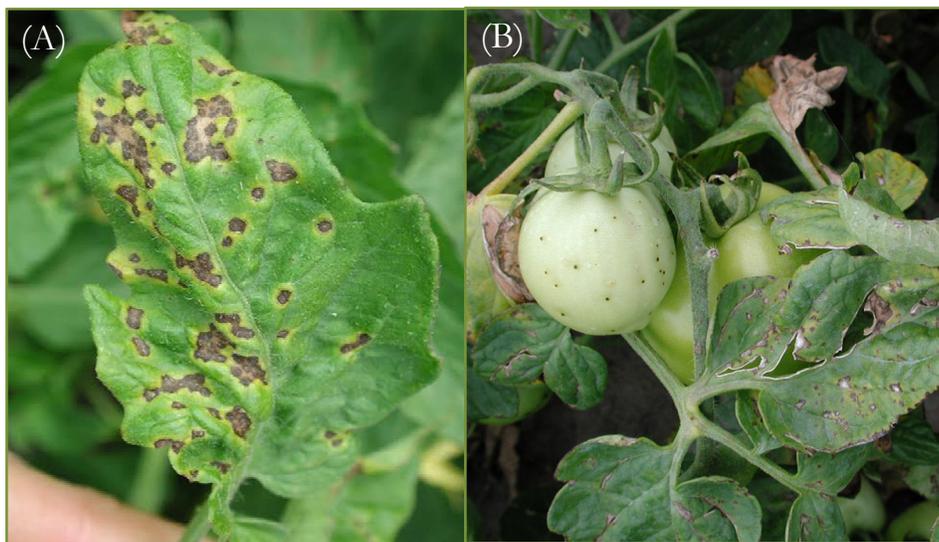
## II.2. La moucheture bactérienne

Cette maladie est causée par *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Dye et al., 1980) ou « Speck bacterial tomato » en anglais. Elle est aujourd'hui largement répandue dans les zones de production de la tomate. Elle est très destructive dans le monde entier (Bazzi et al., 1979; Yunis et al., 1980; Tamietti et Cugudda, 1987, Mensi et al., 2018).

La maladie peut entraîner de graves pertes économiques, en particulier sur les génotypes sensibles, à la fois pour l'industrie des conserves de tomates pelées et pour le marché du frais (Zaccardelli et al., 2002 ; Wilson et al., 2002).

### II.2.1. Symptomatologie

- **Sur feuilles :** présence de petites taches circulaires à légèrement angulaires, brun foncé à noires, de 2 à 3 mm de diamètre et localisées à la surface des feuilles. Un halo jaune entourant chaque nécrose est visible ensuite à la surface supérieure des feuilles. Les nécroses sont distribuées au hasard sur les folioles ou à la marge de celles-ci. Les taches jaunes s'étendent puis se regroupent pour former un jaunissement important puis un dessèchement. Les feuilles sont déformées et recroquevillées puis tombent. Le pétiole montre des taches ovales à allongées, brunes à noires (Richard et Boivin, 1994 ; Gail, 2000). Les infections graves peuvent entraîner une défoliation des plants (\*CIP, 2004) (Figure 09).
- **Sur fruits :** De petites ponctuations noires, légèrement en relief, souvent entourées d'une fine auréole verte ou jaune sont présentes sur les fruits. Ces lésions sont d'ordinaire superficielles et se détachent par un simple coup d'ongle. (Figure 09).



**Figure 09 :** Feuille (A) et fruits (B) infectés par *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Blancard, 2009).

\*CIP : centre internationale de pomme de terre.

En présence d'humidité, les taches peuvent s'étendre et confluer altérant de larges secteurs du limbe qui finit par se nécroser et se dessécher. Ces taches peuvent également se développer sur les tiges et les sépales floraux (Blancard, 2009).

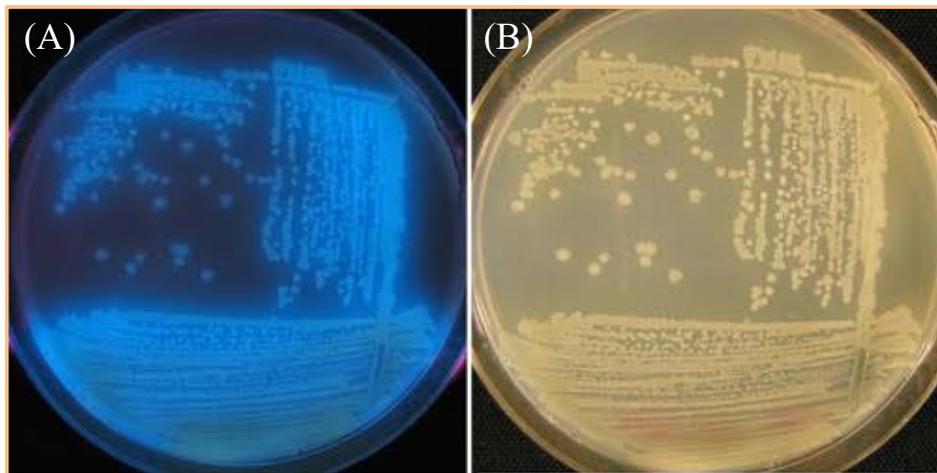
### II.2.2. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

C'est en 1902 que l'espèce *syringae* a été nommée pour la première fois. La bactérie a été isolée à partir de lésions sur lilas (*Syringa vulgaris*) et identifiée comme appartenant au genre *Pseudomonas* d'où son nom : *Pseudomonas syringae* (Van Hall, 1902).

L'agent pathogène *Pseudomonas syringae* appartient au groupe des *Pseudomonas* fluorescents phytopathogènes. Il est caractérisé par une grande variabilité génétique, physiologique et biologique qui s'exprime au travers 52 pathovars qui la composent (S. Miller, 2013).

La cellule de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* est un bâtonnet droit de taille moyenne de 0.7-3  $\mu\text{m}$  de longueur et de 0.7-1  $\mu\text{m}$  de largeur. Gram négative, isolé, en paires ou en chaînes, mobile par un à trois flagelles. C'est une bactérie aérobic stricte, chimiohétérotrophe, ne possédant pas de cytochrome C. Elle est oxydase négatif et arginine déshydrolase négative (Gaignard et Luisetti, 1993 ; Svetlana et al., 2009).

La plupart des souches des différents pathovars cultivées sur milieu B de King produisent un pigment jaune verdâtre et fluorescent sous UV: il s'agit d'un pigment hydrosoluble (Gaignard et Luisetti, 1993 ; Svetlana et al., 2009) (Figure 10).



**Figure 10** : Croissance d'une colonie fluorescente (A) ou non fluorescente, crème blanche (B) de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* sur milieu de culture B de King.

<http://extensionpublications.unl.edu/assets/html/g1957/build/g1957.htm>

### II.2.3. Taxonomie et classification

La classification actuelle de *Pseudomonas syringae* est la suivante :

<b>Phylum</b>	: <i>Bacteria</i> ,
<b>Règne</b>	: <i>Proteobacteria</i> ,
<b>Classe</b>	: <i>Gammaproteobacteria</i>
<b>Ordre</b>	: <i>Pseudomonadales</i>
<b>Famille</b>	: <i>Pseudomonadaceae</i>
<b>Genre</b>	: <i>Pseudomonas</i>
<b>Espèce</b>	: <i>Pseudomonas syringae</i>
<b>Pathovar</b>	: <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>

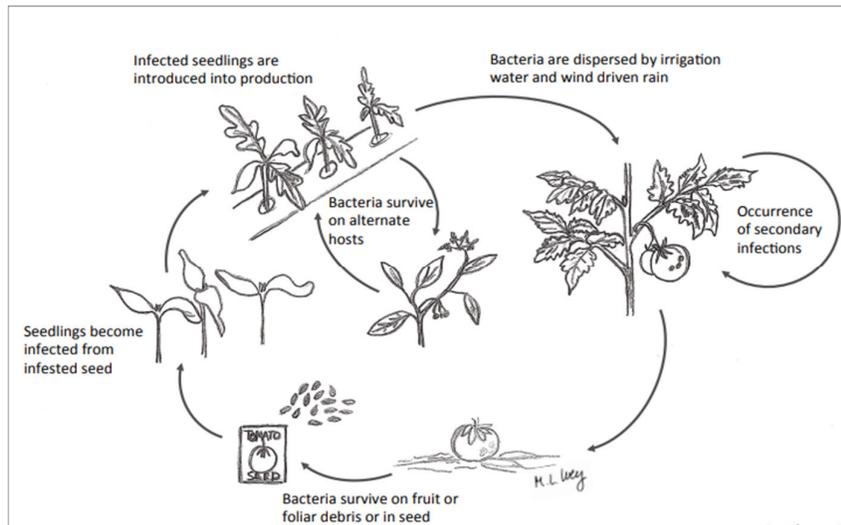
(Gail, 2000 ; Buell et *al.*, 2003).

### II.2.4. Cycle biologique de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

Le cycle est caractérisé par une phase épiphyte pouvant encadrer des périodes d'infection. Ainsi, une phase épiphyte peut succéder à une phase pathogène et réciproquement (Cross, 1959 ; Gail M., 2000). Les populations épiphytes constituent donc une source d'infection pour les plantes, dont la réussite dépend en grande partie de la qualité et de la quantité de l'inoculum (Gaignard, and Luisetti, 1993; Hirano et Upper, 2000) (Figure 11).

C'est au printemps et à l'automne que les populations bactériennes sont les plus importantes : jusqu'à 470 000 bactéries/feuille. En été, leur nombre a tendance à diminuer : 10 000 bactéries/feuille (Bordjiba et Prunier, 1991 ; venkatesh, 2002).

Les changements de température et d'humidité influent sur la multiplication des bactéries, expliquant les variations dans l'importance des populations (Hirano et Upper, 2000).



**Figure 11** : Cycle de vie de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* .

<http://u.osu.edu/vegetablediseasefacts/tomato-diseases/bacterial-speck/advanced/>

### II.2.5. Source d'inoculum et conditions favorables à son développement

*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* peut se conserver dans le sol, en association dans la rhizosphère des plants et en épiphyte sur de nombreux plants cultivés et sauvages (Bashan et al., 1986). Les bactéries peuvent se conserver durant 20 ans dans la semence sans perdre leur pouvoir pathogène (Bashan et al., 1986). Des températures relativement basses comprises entre 13 et 28 °C et la présence d'humidité (85-90%) sont des conditions très propices aux épidémies de la maladie. Sous ces conditions favorables du milieu, le potentiel d'inoculum initie l'épidémie et causant ainsi des pertes économiques considérables après réduction de la qualité et de la quantité de la production (Blancard, 2009).

### II.3. Les races de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

Les races de *P. syringae* pv. *tomato* sont identifiées sur la base de la présence ou de l'absence de symptômes typiques de la maladie sur la variété Ontario 7710 qui porte le gène (Pto) contre la race 0 de l'agent pathogène. La survenue de symptômes de taches bactériennes dans ce cultivar différentiel de tomate représente une réaction compatible entre l'hôte et l'agent pathogène et indique donc la présence de la race 1 de l'agent pathogène (Svetlana et al., 2009).

### II.4. Système de sécrétion

Les systèmes de sécrétion protéiques chez les bactéries Gram négatif sont nécessaires à la sécrétion ou l'export dans le milieu extracellulaire des facteurs de virulence au travers de la double membrane cellulaire, constituée d'une membrane externe et d'une membrane interne, ou cytoplasmique (Salmond, 1994). Jusqu'à ce jour, quatre systèmes de sécrétion protéiques majeurs

et deux systèmes de sécrétion potentiellement impliqués dans la virulence des bactéries Gram négatif ont été décrits.

#### II.4.1. Système de sécrétion de type III

Ce système de sécrétion est impliqué dans la réponse d'hypersensibilité exprimée par les plantes lors de l'infection par l'agent pathogène dans le cas d'une interaction incompatible (Salmond, 1994). Il permet l'injection directe dans la cellule de la plante hôte de nombreux facteurs de virulence, encore appelés effecteurs, via un pilus rattaché à la membrane externe de la bactérie. Les protéines du T3SS (type three secretion system) sont codées par un ensemble de gènes, les gènes *hrp* (réponse d'hypersensibilité et pathogénicité) et *hrc* (*hrp* conservé), qui sont organisés en groupements de gènes dans le génome de la plupart des bactéries pathogènes (Salmond, 1994). Les protéines *hrc* sont les protéines qui forment le corps basal du T3SS et sont très conservées. Le corps basal se prolonge par un pilus extracellulaire creux reliant la bactérie et la cellule hôte, appelé pilus Hrp. Il est composé d'une protéine, la piline, comme Hrp A chez *P. syringae* (Guttman et al., 2006). Son diamètre mesure environ 6 à 8 nm (Roine et al., 1997) et peut atteindre plusieurs  $\mu\text{m}$  de long chez les bactéries phytopathogènes, leur permettant de traverser la paroi végétale et d'atteindre la membrane plasmique. Le pilus Hrp est terminé par un translocon formant un pore dans la membrane plasmique végétale permettant le passage des effecteurs de type III du pilus vers le cytosole de la cellule eucaryote (Figure 10).

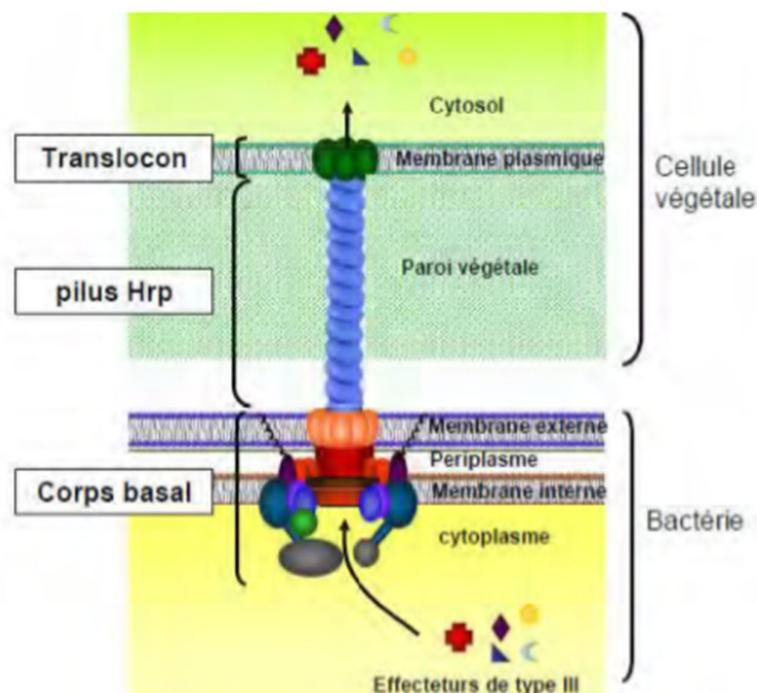


Figure 12: Représentation schématique du système Hrp (Boulangier, 2009).

## II.5. Moyen de lutte

Il est difficile d'enrayer les bactéries une fois qu'elles ont infecté une culture, la prévention constitue la première ligne de défense. Il n'existe à l'heure actuelle aucune mesure qui permette de confirmer à peu de frais que des plants sont exempts des agents pathogènes, les producteurs doivent adopter un programme préventif dès les premiers stades de croissance (Janice et *al.*, 2009). La lutte chimique grâce à l'utilisation répétée de fongicides peut ralentir le développement de la maladie lorsque les attaques ne sont pas importantes.

- **Lutte préventive** : L'utilisation de semences saines par les producteurs est un moyen de prévention efficace. S'il n'est pas possible d'en obtenir, on doit traiter les semences.

On extrait les graines qui proviennent de plantes malades en faisant fermenter la pulpe écrasée, mais non diluée, pendant 96 à 120 heures, on obtient ainsi des semences pratiquement exemptes d'infections bactériennes, on peut aussi faire tremper les graines dans de l'acide acétique (une solution de 0,6 à 0,8 %) pendant 24 heures à 21°C.

- Les graines doivent toujours être semées dans un substrat pasteurisé, dans des caissettes, des pots ou autres contenants neufs ou stérilisés (Miller, 2013).
  - Débarrasser la serre de toutes les matières végétales avant le départ d'une nouvelle culture
  - Utiliser des plateaux stériles ou désinfectés.
  - Utiliser des buses à basse pression pour arroser afin de réduire au minimum les dommages causés aux plants.
  - Utiliser des systèmes d'irrigation par aspersion.
- **Lutte chimique** : appliqués tôt et souvent sur le terrain, les fongicides à base de cuivre ralentissent le développement des taches bactériennes sur les fruits. Les pulvérisations de cuivre ne sont pas nécessaires lorsque les températures sont au dessus de 80 °F car le pathogène est inhibé à haute températures (Lewis et Miller, 2013).

Partie expérimental

**Chapitre 1 :**  
**Identification de l'agent**  
**pathogène**

## Chapitre I : identification du pathogène

### I.1. Matériels et méthodes

#### I.1.1. Objectif

L'objectif de ce travail porte sur l'identification de l'agent causal d'une maladie qui sévit sur la culture de tomate d'arrière-saison et de primeurs.

#### I.1.2. Prospections et échantillonnage

Les prospections ont concerné les zones potentielles de la culture de tomate d'arrière-saison et de primeur de la région de Mostaganem.

L'échantillonnage est réalisé durant la période du mois de janvier. Quatre sites d'une superficie de 1 ha environ sont choisis au hasard. Trois sites sont situés dans la commune de Mazagran, pour la tomate d'arrière-saison et un seul site dans le cas de la tomate primeur pour la commune de Ain Nouissy.

Dans chaque site 3 plants présentant des symptômes de la maladie sont prélevés. Les plants sont distants au minimum de 30 mètres l'un de l'autre. Ils sont transportés en laboratoire dans des sachets en papier et conservés pendant 24 heures à 4°C avant de procéder à l'isolement de l'agent causal.

#### I.1.3. Isolement des bactéries pathogènes

L'isolement de l'agent pathogène a été réalisé sur milieu de culture sélectif B de King qui favorise la croissance bactérienne et la production de la pyoverdine qui jaunit le milieu (Shaad, 1980) (Tableau 05).

**Tableau 05:** Composants du milieu B de King (Ph = 7.2).

Ingrédients	Quantités par litre
Peptone	20 g
Phosphate de K dibasique	1.145 g
Sulfate de magnésium	1.5 g
Glycérol	15 ml
Agar-agar	15 g
Qsp eau distillée	1L

La technique d'isolement est réalisée comme suit : L'échantillon est lavé à l'eau de robinet afin de le débarrasser des poussières et autres impuretés pouvant s'y trouver à la surface des plantes. Les tissus contenant les nécroses sont désinfectés à l'aide d'un coton contenant de l'éthanol à 96%. Des explants de 3 millimètres sont alors découpés à l'aide d'un scalpel stérile, à la limite du front d'attaque de la maladie. Ils sont mis dans de l'eau physiologique stérile (NaCl 0.85%) pendant 30 minutes.

A l'aide d'une anse de platine stérile, une goutte de la suspension bactérienne est ensemencée en zig zag à la surface d'une boîte de Pétri (90 mm de diamètre) contenant le milieu King B. Les boîtes de Pétri sont incubées à 26°C pendant 24 heures.

#### **I.1.4. Purification et conservation des isolats**

Les colonies obtenues après 24 heures d'incubation sont purifiées en réalisant des ensemencements successifs jusqu'à obtention de colonies pures répondant aux caractéristiques de la bactérie recherchée.

Les bactéries sont conservées dans des tubes eppendorfs contenant à volume égal le milieu YDC liquide et une solution de glycérol (60%). Les eppendorfs contenant les cellules bactériennes de chaque isolat sont conservés à -18°C.

La préparation du milieu YDC est réalisée selon la méthode de Ouedraogo et *al.*, (2003) suivante :

- 1) Extrait de levure 10,0 g ; carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) 20,0 g ; Eau distillée 950 ml ;
- 2) Dextrose (L-glucose) 20 g ; eau distillée 50,0 ml

On autoclave les 2 milieux séparément et on les mélange à la température de 40 à 50°C.

#### **I.1.5. Identification de la bactérie**

##### **I.1.5.1. Test d'hypersensibilité sur tabac**

La réponse hypersensibilité (HR) chez le tabac est utile pour déterminer si une bactérie peut être un phytopathogène. En bref, les agents pathogènes des plantes (autres que le tabac) provoquent la HR du tabac, tandis que les agents pathogènes du tabac provoquent des symptômes de maladie. Les saprophytes ou les agents non pathogènes des plantes ne provoquent aucun symptôme de maladie et ne provoquent pas de réponse. Le test HR tire parti du mécanisme de résistance induite spécifique déterminé génétiquement par les plantes. Le test d'hypersensibilité est particulièrement utile pour dépister rapidement les éventuels agents pathogènes avant d'effectuer les tests de pathogénicité exigeant beaucoup de temps et de main-d'œuvre. Bien que les tests HR soient extrêmement utiles pour un grand nombre d'agents

pathogènes responsables de la pourriture et du feuillage des feuilles (*Erwinia*, *Pseudomonas*, *Ralstonia* et *Xanthomonas*, par exemple), il est possible que d'autres tests ne permettent pas d'identifier facilement d'autres agents pathogènes, tels que les bactéries responsables de pourriture (*Pectobacterium*) et *Agrobacterium*. Pour ces agents pathogènes, des essais de pouvoir pathogène sont nécessaires (Robert et al., 2006).

Les étapes de réalisation du test d'hypersensibilité sont les suivantes :

- Dans un tube à essai contenant 2 ml d'eau physiologique stérile (NaCl 0.85%), faire une suspension bactérienne à  $10^8$  CFU/ml de la bactérie à identifier.
- Utiliser un plant de tabac ayant 5 à 6 feuilles et inoculer une feuille par la bactérie à identifier.
- A l'aide d'une seringue de 1 ml, injecter la suspension bactérienne dans l'espace intercellulaire le long de la nervure centrale ou d'une nervure secondaire. L'inoculation se fait à la face inférieure de la feuille.
- Laisser le plant inoculé à température de la pièce pour une période de 24 à 48 heures.

Deux situations peuvent se présenter :

Si la zone foliaire inoculée avec la bactérie devient légèrement translucide et à un aspect humide, par la suite, les tissus s'assèchent et prennent la couleur brun-clair à beige : la réaction est positive

En revanche si la réaction est négative ; aucun changement n'est effectué dans la couleur et l'aspect du tissu.

### **I.1.5.2. Les tests biochimiques**

Les tests biochimiques sont réalisés selon la méthode de Shaad (1988). Tous les tests sont effectués sur des colonies jeunes de 24 heures issues de cultures maintenues à 26°C sur milieu de culture B de King.

Si les colonies bactériennes fluorescentes sur le milieu B de King, caractéristiques d'un *Pseudomonas* sont présentes, les tests à réaliser, connus sous le nom de LOPAT, pour distinguer les espèces, sont indiqués dans la légende suivante :

**Légende :**

<b>Levane</b>	Polymérisation du fructose en polyfructose.
<b>Catalase</b>	Décomposition du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) par la catalase.
<b>Oxydase</b>	Détermination de la présence de l'enzyme cytochrome C oxydase.
<b>Hugh et Leifson</b>	détermination la voie métabolique des bactéries.
<b>Arginine deshydrolase</b>	Transformation de l'arginine (acide aminé) par l'arginine deshydrolase.
<b>Nitrate réductase</b>	Réduction de nitrate en nitrite.

**I.1.5.2.1. Coloration de Gram**

La coloration de Gram permet de différencier des bactéries dites Gram (+) de bactéries dites Gram (-), la coloration nécessite les étapes suivantes (Singleton, 2005):

- A l'aide d'une anse de platine, une colonie bien isolée est prélevée et déposée sur une lame propre comprenant une goutte d'eau distillée stérile réalisant un frottis.
- Le séchage du frottis est effectué à température ambiante du laboratoire.
- Coloration primaire : la lame est recouverte par le violet de gentiane pendant une minute, puis rincée à l'eau distillée.
- Mordantage : la lame est plongée dans Lugol pendant une minute. Elle est ensuite rincée à l'eau distillée.
- Décoloration : la lame est inclinée dans l'alcool pendant 30 secondes et elle se lave après à l'eau distillée.
- Coloration secondaire : la solution de Fuch sine recouvre la lame durant une minute et on rince la lame.
- Séchage de la lame.

L'observation de la morphologie des bactéries est établie sur un microscope (OLYMPUS) à des grossissements 40 x, 100 x.

**I.1.5.2.2. Test levane**

Le test levane nous permet de vérifier la polymérisation du fructose en polyfructose par la bactérie. Le test est réalisé sur le milieu levane dont la composition est la suivante :

- Agar nutritif.....23 g/l
- D- glucose .....2.5 g/l
- Sucre de table.....50 g/l

Dissoudre les produits dans 800 ml d'eau distillée, puis en compléter à un litre. Stérilisez le milieu pendant 15 minutes à 121°C et à 15 psi.

Le milieu est coulé dans en boites de Pétri. L'ensemencement de la bactérie est réalisé 24 heures après, à l'aide d'une anse de platine stérile, en réalisant des stries sur le milieu. Les boites ainsi ensemencées sont maintenues pendant 48 h à 26°C.

La lecture est basée sur le type des stries obtenues ; si les stries sont partiellement saillantes et lissantes, la réaction est positive. En revanche, lorsque la réaction est négative les stries sont prostrées.

#### **I.1.5.2.3. Test catalase**

Ce test nous permet de connaître le métabolisme respiratoire qui détruit les peroxydes et libère de l'oxygène par la bactérie. Il suffit de déposer une goutte d'eau oxygénée sur une lame en verre stérile. La crème bactérienne est prélevée à l'aide d'un cure-dent stérile que l'on mélange avec la goutte d'eau oxygénée. La lecture du résultat est faite après 1 minute. Elle se base sur la présence de bulles révélant le dégagement d'oxygène ou l'absence de celles-ci. La réaction est positive dans le premier cas et négative dans le second.

#### **I.1.5.2.4. Test Oxydase**

Le test oxydase est basé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire en présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C.

Deux gouttes de réactif d'oxydase composé de phénylènediamine et d'acide ascorbique sont déposées sur un disque de papier Wattman stérile. On prélève un peu de crème bactérienne à l'aide d'un cure-dent que l'on frotte sur le disque en papier imprégné du produit. L'observation de la réaction s'effectue dans les 30 secondes suivantes.

La coloration violette traduit un résultat positif (oxydase positive). Par contre l'absence de la coloration indique un résultat négatif.

#### **I.1.5.2.5. Test Hugh et Leifson**

Le milieu Hugh et Leifson appartient aux milieux MEVAG (milieux d'études de la voie d'attaque des glucides), contenant un indicateur de pH et permettant de déterminer la voie métabolique des bactéries (la voie oxydative ou fermentaire) (Guiraud, 1998).

Deux tubes à essai contenant environ 5 ml de milieu de culture sont ensemencés par une culture jeune (18-48 heures), par pique centrale à l'aide d'une anse en platine en forme d'aiguille. L'un des deux tubes est recouvert d'une couche d'huile de vaseline stérile, c'est le tube dit « fermé », l'autre est le tube dit « ouvert ». Les tubes sont incubés pendant 24 heures à 37°C.

L'observation du résultat est consistée à observer le virage de la couleur du milieu, trois catégories de bactéries sont distinguées :

- les bactéries fermentatives donnent une acidification rapide et égale dans les deux milieux qui deviennent jaune.
- Les bactéries oxydatives révèlent dans les deux tubes. La couleur vire au jaune dans le milieu en présence d'oxygène (milieu ouvert), ainsi dans le milieu couvert la couleur reste verte.
- les bactéries inactives, une alcalinisation plus ou moins forte en surface, la couleur du milieu vire au bleu en présence d'oxygène.

#### **I.1.5.2.6. Test Arginine déshydrolase**

Ce test sert à déterminer si la bactérie transforme l'arginine en présence de l'enzyme arginine déshydrolase.

A l'aide d'une anse à inoculer stérile, inoculer un tube à essai contenant le milieu de culture Arginine avec la bactérie à identifier (culture de 24 heures). La surface du milieu est ensuite recouverte d'une fine couche d'huile de vaseline stérile. La bactérie est incubée pendant 48 à 72 heures à 26°C.

Si le milieu demeure rose cela indique une réaction positive, il y a eu transformation de l'arginine par l'enzyme arginine déshydrolase. En revanche, si la couleur devient jaune orangé la réaction est négative.

#### **I.1.5.2.7. Test Nitrate réductase**

Ce test détecte si un organisme est capable de réduire le nitrate. La recherche du nitrate réductase (NR) est réalisée sur un bouillon nitraté par les réactifs de Griess (Annexe 01), qui permet de détecter le nitrite.

Le test consiste à cultiver l'organisme dans un bouillon nitraté, à 28°C pendant 48h à 72h. Après incubation, le milieu est examiné pour détecter la présence des nitrites par l'addition de 0.5 ml de réactif 1 et 0.5 ml du réactif 2 de Griess dans le milieu (annexe 01). Ces réactifs se combinent à tout nitrite présent pour former un colorant rouge azoïque soluble.

La présence du couleur rouge signifie que le nitrate est réduit au nitrite, la réaction est positive. Ainsi l'absence de la coloration rouge peut signifier, soit que le nitrate n'a pas été réduit, soit que le nitrite s'est formé mais a été ensuite réduit en azote ou en ammoniac.

Pour distinguer entre ces deux possibilités, une trace de poudre de zinc permettant de réduire le nitrate en nitrite est ajoutée. Si du nitrate existe encore, un virage de couleur vers le rouge sera observé. La réaction est donc négative (Singleton, 2005).

### I.1.6. Vérification du postulat de Koch

Il est important de pouvoir prouver qu'un agent pathogène est à l'origine d'une maladie particulière. Pour ce faire, nous utilisons une série de règles ou de postulats rigides connus sous le nom de postulats de Koch. Les postulats de Koch sont les suivants:

1. L'agent pathogène doit être associé à toutes les plantes symptomatiques.
2. Le pathogène doit être isolé et cultivé en culture pure et ses caractéristiques décrites. Si l'agent pathogène est un biotrophe, il doit être cultivé sur une autre plante hôte et présenter les symptômes et les signes décrits.
3. L'agent pathogène de culture pure ou de la plante à tester doit être inoculé sur la même espèce ou variété que celle décrite précédemment et il doit produire les mêmes symptômes que ceux observés sur les plantes initialement malades.
4. L'agent pathogène doit être à nouveau isolé en culture pure et ses caractéristiques décrites exactement comme celles observées à l'étape 2 (Robert et *al.*, 2006).

Nous avons utilisé la variété de tomate hybride F1 dénommée Suzana (Tableau 06) et inoculé les mêmes organes touchés au niveau de l'hôte initial prélevé sur champs (les feuilles et les tiges dans notre cas).

**Tableau 06** : Fiche technique de la variété SUZANA, hybride F1.

<b>Classification variétale</b>	Tomate déterminée
<b>Type de conduite</b>	Tuteurée
<b>Poids de fruit</b>	250 – 300 g
<b>Couleur</b>	Rouge brillante
<b>Aspect du fruit</b>	Ferme
<b>Résistance aux maladies</b>	FOL 0 et 1, TylcV, Vd 0
<b>Période de plantation</b>	Saison : février – mars Arrière-saison : juin - juillet

#### I.1.6.1. Obtention des plantules

Le semis sont réalisés dans des plateaux de 72 alvéoles (3 x 3 x 3 cm), dans un terreau horticole, à raison d'une graine par alvéole. Les plateaux sont exposés devant une fenêtre éclairée, à

température ambiante de laboratoire (20 à 25 °C). L'arrosage du terreau est effectué un jour sur deux.

### I.1.6.2. Transplantation des plantules

Lorsque les plantules sont suffisamment développées (5 cm), à deux feuilles vraies, elles sont repiquées, à raison d'une plante par pot en plastique de 15 cm de diamètre et 10 cm de profondeur. Les pots contiennent un mélange de sable (1/3), stérilisé préalablement par la méthode Bergerrac et de tourbe (2/3).

### I.1.6.3. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé comme suit:  
La bactérie à identifier estensemencée dans des tubes à essais contenant 5ml de bouillons nutritif (Annexe 02). Les tubes sont incubés à 26°C pendant 24 heures. La concentration est ajustée à  $10^8$  CFU / ml à l'aide d'un spectrophotomètre JENWAY réglé à 625 n.m (Figure 13) selon l'échelle de McFarland (Svetlana et *al.*, 2009).



Figure 13 : Spectrophotomètre JENWAY réglé à longueur d'onde 625 n.m

### I.1.6.4. Entretien des plantules

Afin de protéger les plantes contre des attaques éventuelles d'insectes et/ou d'acariens qui pouvaient affecter l'état sanitaire des plantes de tomate, nous avons procédé à 3 traitements phytosanitaires espacés d'une semaine. Les traitements sont suivants : Abamectine 18 g/l (EC) ; Chlorothalonil 500 g/l + metalaxyl 37.5 g/l (FS) ; Chlorantraniliprole + Lamda-cyhalothrin 16g/l (CL) dans l'ordre chronologique indiqué.

### I.1.6.5. Inoculation

Les bactéries ont besoin d'eau libre pour leur croissance, elles sont fragiles lorsqu'elles sont soumises à des températures extrêmes, à un assèchement ou à une forte intensité lumineuse. Par conséquent, les essais de pathogénicité se font lorsque ces conditions pour la croissance des plantes hôtes sont réunies. La température est généralement maintenue entre 16 et 25 ° C et l'éclairage est modéré. L'humidité doit être maintenue de sorte que la surface des plantes inoculées ne se sèche pas pendant 48 à 96 heures après l'inoculation. A l'aide d'un petit pulvérisateur à piston, nous avons apporté quotidiennement trois pulvérisations d'eau distillée stérile sur les plantes qui sont maintenues sous une bâche en plastique transparente pour assurer une atmosphère saturante.

L'inoculation est faite sur des plantules présentant 4 à 5 feuilles. Nous avons utilisé deux isolats. Chaque isolat est inoculé sur trois plantules. Chacune a reçu environ 10 ml de la suspension bactérienne ( $10^8$  CFU/ml).

Les plantules témoins sont inoculées en utilisant 10 ml de bouillon nutritif dilué sans la bactérie.

### I.1.6.6. Dispositif expérimental

Nous avons utilisé un dispositif complètement aléatoire (Figure 14).



**Figure 14** : Vue du dispositif expérimental en blocs réalisé sous serre en verre

## I.2. Résultats

### I.2.1. Prospections et symptômes de la maladie

Les champs de tomate atteints de la maladie présentent des dégâts considérables (Figure 15). Nous avons estimé l'incidence de la maladie à 100%. La récolte est sérieusement compromise. Les symptômes concernent toutes les parties de la plante (fruits feuilles et tiges). Des nécroses angulaires de couleur noire entourées d'un halo jaunâtre sont présentes à la surface des organes atteints. Elles sont punctiformes en début d'infection, s'élargissant ensuite pour devenir coalescentes, ce qui fait que les tâches ont plusieurs centimètres de largeur aggravant les dégâts sur les plantes (Figure 16).



**Figure 15:** Dégâts de la maladie sur tomate d'arrière saison (variété Suzana hybride F1), dans la région de mazagran, à Mostaganem, janvier 2019.



**Figure 16:** Nécroses dues à la maladie sur (A), feuille ; (B), tige et sépales ; (C), fruit de la variété Suzana.

### I.2.2. Prélèvement des échantillons

Trois plants présentant les symptômes décrits précédemment sont prélevés au niveau de chaque site où la maladie est présente. Chaque plante représente un échantillon.

Lors de l'échantillonnage, nous avons prélevé des plants éloignés l'un de l'autre d'environ 50 mètres pour favoriser la diversité génétique des isolats récoltés.

### I.2.3. Isolats de la bactérie obtenus après purification

Le tableau 07 illustre les isolats bactériens obtenus à partir des différents sites prospectés et échantillonnés.

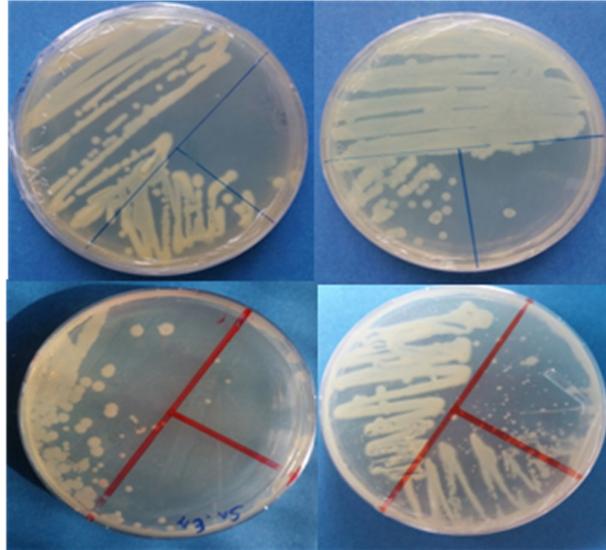
**Tableau 07** : Région d'échantillonnage, origine des isolats et leur codification.

	Site d'échantillon	Région	Nombre d'isolats	Codification	Variété	Nature d'échantillon
Variété d'arrière saison	Site 1	Mazagran (Mostaganem)	3	I <sub>1</sub>	<i>Suzana</i> , déterminée (Hybride F1)	Tige
				I <sub>2</sub>		Tige + feuille
				I <sub>3</sub>		Feuille
	Site 2	Mazagran (Mostaganem)	3	I <sub>4</sub>	<i>Suzana</i> , déterminée (Hybride F1)	Feuille
				I <sub>5</sub>		Tige
				I <sub>6</sub>		Feuille
	Site 3	Mazagran (Mostaganem)	3	I <sub>7</sub>	<i>Suzana</i> , déterminée (Hybride F1)	Tige + feuille
				I <sub>8</sub>		Tige
				I <sub>9</sub>		Feuille
Variété de Primeur	Site 4	Ain Nouissy (Mostaganem)	3	I <sub>10</sub>	<i>Kava</i> , indéterminée (Hybride F1)	Tige
				I <sub>11</sub>		Feuille
				I <sub>12</sub>		Tige + feuille

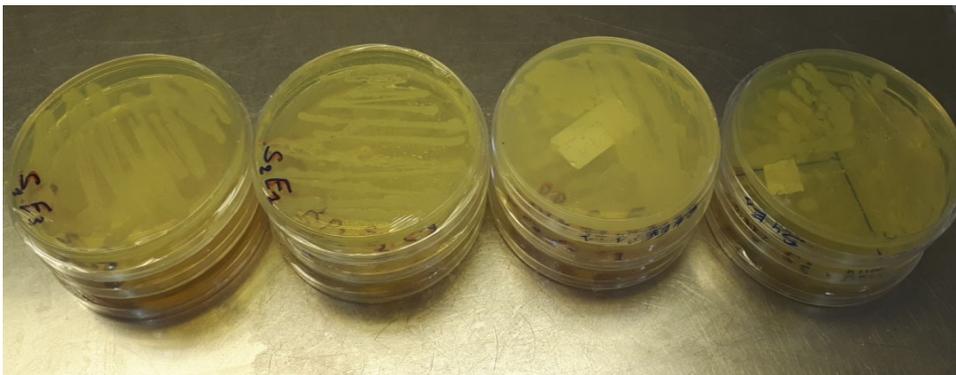
### I.2.4. Identification de l'agent causal

#### I.2.4.1. Aspect macroscopique

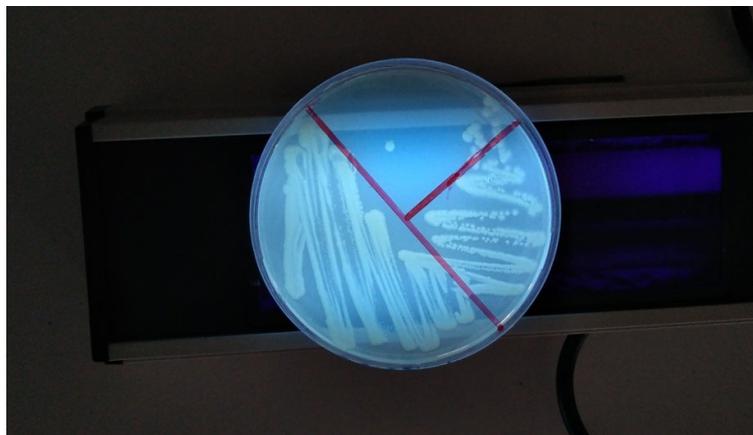
Les colonies obtenues présentent les mêmes caractéristiques culturales sur le milieu KB. Elles sont petites, rondes, lisses et de couleur crème (Figure 17). Elles deviennent fluorescentes à l'œil nu après 2 ou 3 repiquages (Figure 18). Cette fluorescence est intense à 365 n.m, sous la lumière Ultra-Violet (Figure 19).



**Figure 17** : Aspect des colonies jeunes de 24 heures sur milieu KB.



**Figure 18** : Colonies bactériennes fluorescentes sur milieu King B et sous lumière naturelle du laboratoire. Les isolats représentés sur la figure sont : I3, I6, I7 et I10.



**Figure 19** : Colonie bactérienne fluorescente sur milieu King B à 365 n.m sous lumière UV.

### I.2.4.2. Test d'hypersensibilité sur tabac

La zone foliaire du tabac inoculée avec les suspensions bactériennes de l'isolat à tester devient, 24 heures après l'inoculation, légèrement translucide avec un aspect humide. Par la suite, l'endroit du tissu inoculé devient brun clair à beige (Figure 20). Cette réaction de la plante est considérée comme une réaction d'hypersensibilité positive.

Les isolats testés (I<sub>3</sub>, I<sub>6</sub>, I<sub>7</sub>, I<sub>10</sub>) sont considérés comme des bactéries phytopathogènes car ils provoquent une hypersensibilité sur le plant de tabac.



Figure 20: Test d'hypersensibilité sur tabac

### I.2.4.3. Test biochimique

#### I.2.4.3.1. Observation microscopique

Sous microscope les cellules bactériennes sont des bacilles gram négatifs fins droit et très mobile grâce à un flagelle polaire. Elles apparaissent isolés ou en diplobacilles. Elles sont de formes bâtonnets allongés et parfois légèrement incurvés au sommet (Figure 21).

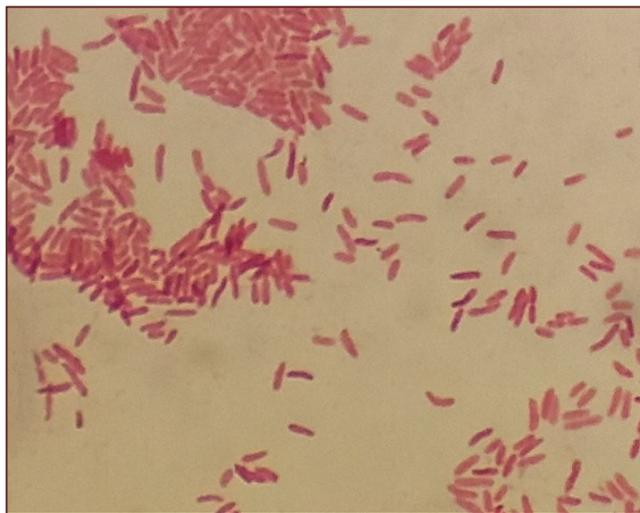
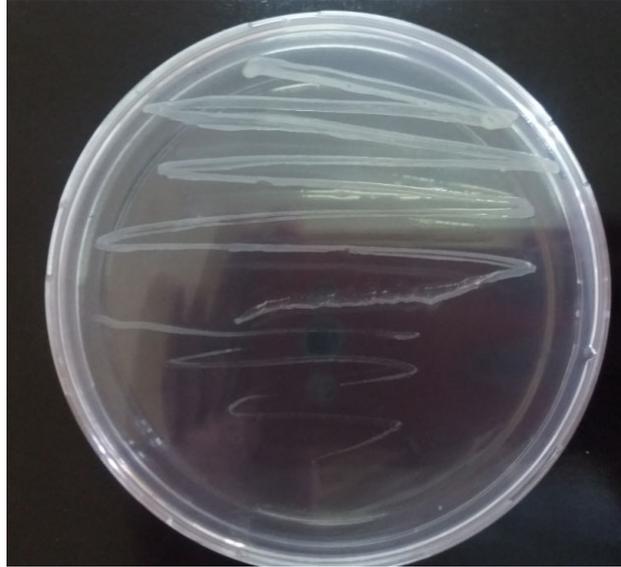


Figure 21 : Aspect des cellules bactériennes après coloration de Gram.

#### I.2.4.3.2. Test levane

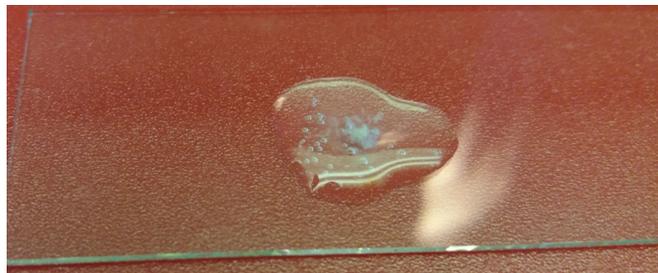
Les colonies montrent des stries saillantes et luisantes, cela indique que le résultat est positif, les bactéries étudiées possèdent donc l'enzyme levane sucrase car elles peuvent polymériser le fructose en poly-fructose (Figure 22).



**Figure 22** : Strie saillante et luisante d'une colonie bactérienne sur milieu levane positif.

#### I.2.4.3.3. Test de Catalase

Le dégagement des bulles d'oxygène après le frottis de la bactérie avec l'eau oxygénée a montré que le test catalase est positif. La bactérie contient l'enzyme qui active la dégradation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en  $O_2$  (Figure 23).



**Figure 23** : Réaction de la bactérie dans le test catalase positif.

#### I.2.4.3.4. Oxydase

Le papier wattman imbibé par le réactif est resté incolore, ce qui signifie que le test oxydase est négatif pour la bactérie. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, la production de l'enzyme oxydase intercellulaire est absente chez les bactéries testées (Figure 24).

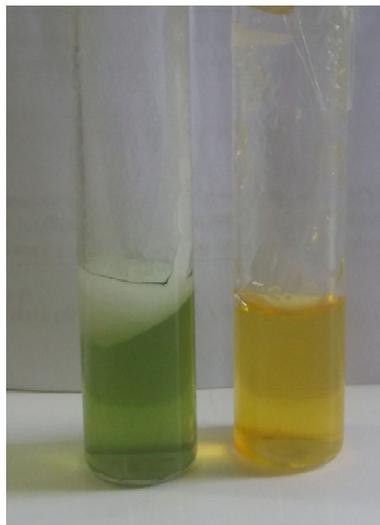


**Figure 24** : Réaction de la bactérie obtenu sur papier wattman ; Test oxydase négatif.

#### I.2.4.3.5. Test de Hugh et Leifson

Le test du métabolisme des glucides a révélé que la bactérie possède un métabolisme oxydatif qui est représentée une acidification à la surface du milieu ouvert provoquant son jaunissement. Par contre le milieu couvert par l'huile de vaseline reste vert (Figure 25).

Le type oxydatif est lié avec le type respiratoire de la bactérie, donc la bactérie testée a besoin d'oxygène pour dégrader le glucose.



**Figure 25** : Réaction de la bactérie en test Hugh et Leifson.

#### I.2.4.3.6. Le test Arginine deshydrolase

Le test ADH révèle une réaction négative. Le résultat est justifié par le virage de la couleur du milieu au jaune. Les bactéries testées ne possèdent donc pas l'enzyme deshydrolase (Figure 26).



**Figure 26 :** Réaction de la bactérie en test Arginine déshydratase.

#### I.2.4.3.7. Recherche de Nitrate réductase

Le résultat de ce test est négatif puisque la couleur rouge est développée après avoir rajouté dans le tube à essai une pincée de poudre de Zinc. Celle-ci signifie que La bactérie ne possède pas l'enzyme de nitrate réductase (Figure 27).



**Figure 27 :** Réaction de deux isolats de la bactérie en test Nitrate réductase.

#### I.2.4.4. Récapitulatif des résultats des tests effectués sur les isolats bactériens

Les tests biochimiques, permettant de vérifier certaines caractéristiques du métabolisme de la bactérie, le test d'hypersensibilité sur tabac et le postulat de Koch constituent une approche classique pour l'identification des bactéries du genre *Pseudomonas*.

Les résultats obtenus confirment que nous sommes en présence de *Pseudomonas syringae* (tableau 08).

**Tableau 08 :** Résultats des tests biochimiques et culturaux pour distinguer les espèces de *Pseudomonas* fluorescents.

Les tests	Réaction sur <i>Pseudomonas syringae</i>
Gram	-
Levane	+
Catalase	-
Oxydase	+
Hugh et Leifson	Oxydatif
Arginine deshydrolyase	-
Nitrate réductase	-
Hypersensibilité du tabac	+

### I.2.5. Test de pathogénicité

Après 7 jours d'inoculation, Les plantes inoculées par les isolats de la bactérie montrent sur feuilles et tiges des symptômes typiques de la maladie. Les plantes témoins maintenues dans les mêmes conditions sont restées indemnes de la maladie. Les bactéries isolées à partir des plants de tomate variété Susana et variété Kawa prélevés sur champs et réinoculés expérimentalement en laboratoire sur les mêmes variétés ont reproduits les mêmes symptômes que ceux observés sur terrain (Figure 28, 29). Les colonies bactériennes réisolées à partir plants malades montrent les mêmes caractéristiques culturales que les bactéries d'origine. L'agent causal de la maladie est donc bien une bactérie.



Figure 28 : pathogénicité , (B) plant inoculé, (A) Témoin.



Figure 29 : Nécroses provoquées à la bactérie sur feuilles (A) et tige (B).

### I.3. Discussion

À partir des symptômes observés sur les plants de tomate au champ, en se basant sur les descriptions symptomatologiques de Blancard (2009) et Mensi et *al.*, (2018), nous avons soupçonné la moucheture bactérienne appelée « bacterial speck, en anglais ». Selon Pernezny et Shouan (1994), cette maladie, causée par *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, provoque d'importants dégâts sur tous les organes aériens de la plante (feuilles, tiges et fruits), elle se manifeste par des taches brunes-noirâtres entourés d'un halo jaune.

Une analyse plus approfondie est indispensable pour l'identification de l'agent causal de la maladie observée. Ainsi, l'isolement de l'agent pathogène sur le milieu B de King a abouti à l'apparition d'un seul type de colonies bactériennes. Celles-ci apparaissent sous forme des colonies crémeuses, rondes et lisses de couleur crème. Les mêmes caractères ont été notés par Svetlana et *al.*, (2009). Les souches isolées ont produit un pigments jaune-verdâtre sur milieu KB et sous lumière UV, confirmant ainsi les observations de Gaignard et Luisetti (1993).

Pour pouvoir identifier l'espèce *Pseudomonas syringae*, un certain nombre de tests sont nécessaires (Schaad et *al.*, 2001).

Les tests que nous avons effectués indiquent que nous sommes en présence d'une bactérie Gram négatif, mobile de forme bâtonnet. Les tests biochimiques ont montré que la bactérie est levane positif, catalase négatif, oxydase positive, elle ne possède ni Arginine deshydrolase ni Nitrate réductase et possède un métabolisme oxydatif.

La bactérie isolée présente une réponse d'hypersensibilité positive sur tabac, la bactérie est donc phytopathogène. Les isolats étudiés présentent un degré élevé de pathogénicité, ils induisent des symptômes sur plants similaires à ceux de l'infection naturelle aux champs au septième jour après inoculation.

Sur la base de tests de pathogénicité et des résultats des tests biochimiques réalisés, la bactérie s'avère appartenant à l'espèce *P. syringae*.

Récemment les études moléculaires sont devenues indispensables pour confirmer l'identité des pathogènes. Dans le cas de PS, l'identification moléculaire de l'espèce se base sur le gène ARNr 16S de la bactérie qui est amplifié par PCR en utilisant des amorces universelles. L'identification du pathovar se fait grâce à des amorces spécifiques du pathovar (MM5F et MM5R) (Mensi, 2018 ; Guilbaud et *al.*, 2016).

Quoique l'identification du pathovar n'est pas confirmée par analyse moléculaire, nous pensons qu'il s'agit du pathovar tomato. Cette maladie est récemment signalée en Serbie (Svetlana et *al.*, (2009), en Portugal (Cruz et Cruz, 2010) et en Tunisie (Mensi, 2018).

L'Algérie étant importatrice de semences maraichères, les semences de tomate infectées seraient une source probable d'introduction de cet agent pathogène en Algérie car selon Bashan et *al.* (1986), la graine peut héberger le pathogène. A notre connaissance, ceci est la première signalisation de la mouçeture bactérienne de la tomate en Algérie. Une enquête à grande échelle devrait être entreprise pour déterminer la répartition géographique de cette maladie et déterminer les races présentes de *P. syringae* pv. *tomato*.

Chapitre 2 :  
Toxicité des fongicides à  
*Pseudomonas syringae*

## Chapitre II : la sensibilité du pathogène vis-à-vis de certains fongicides.

### II.1. Matériels et méthodes

#### II.1.2. Objectif :

L'objectif de ce travail consiste une étude pour déterminer la sensibilité de *Pseudomonas syringae* aux composés chimiques.

#### II.1.3. Test de toxicité des fongicides sur les isolats de PS

#### II.1.4. Choix des isolats de *Pseudomonas syringae* (PS)

Quatre isolats de PS représentatifs des quatre parcelles d'étude sont testés pour leur

**Tableau 9 :** Choix des isolats de PS

Codification de l'isolat	Région d'isolement	Date d'isolement	Organe de la plante
I <sub>3</sub>	Mazagran	22/01/2019	Feuille
I <sub>6</sub>	Mazagran	22/01/2019	Feuille
I <sub>7</sub>	Mazagran	22/01/2019	Tige
I <sub>10</sub>	Ain- Nouissy	30/01/2019	Tige

comportement aux fongicides (Tableau 9).

#### II.1.5. Réalisation de la technique

La sensibilité de pathogène aux produits chimiques est réalisée sur milieu KB selon la méthode de Karen et *al.*, (1983).

Les produits chimiques sont incorporés dans le milieu KB avant autoclavage. Dans chaque boîte de Pétri on coule 20 ml de milieu de culture. Les boîtes témoins contiennent le milieu KB sans adjonction de matière active. Les doses testées sont reportées sur le tableau 10.

Quatre disques en papier Wattman sont déposés à la surface du milieu de culture contenant la dose du produit à tester. A l'aide d'une micropipette stérile, on dépose 20 µl de la suspension bactérienne (10<sup>8</sup> CFU/ml) de l'isolat à tester sur chaque disque en papier. Les boîtes témoins sont traitées de la même façon, sans ajout de produit chimique. Chaque traitement est répété 4 fois.

Toutes les boîtes sont incubées à 26°C pendant 48 heures. Les notations sont réalisées en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires de la colonie bactérienne.

**Tableau 10** : Doses des produits commerciaux testées sur de PS.

<b>Dose</b>	<b>Oxychlorure de cuivre (Comac) g/l</b>	<b>Phosetyl d'aluminium (Aliette Flash) g/l</b>	<b>Mancozèbe g/l</b>	<b>Thiophanate methyl (Pelthio) g/l</b>	<b>Mancozèbe + oxychlorure de cuivre g/l</b>
D0	0	0	0	0	0
D1	1.2	0.8	0.6	0.1	0.9
D2	2.4	1.4	1.2	0.3	1.8
D3	4.8	2	2.4	0.6	3.6
D4	6	2.6	4.8	1	5.4
D5	7.2	3.2	6	1.3	6.6

**II.2. Résultat**

**II.2.1. Phytotoxicité des produits**

La majorité des fongicides testés ont montré une toxicité sur les isolats de PS. Les figures 30 à 35 représentent l'effet de chaque produit.

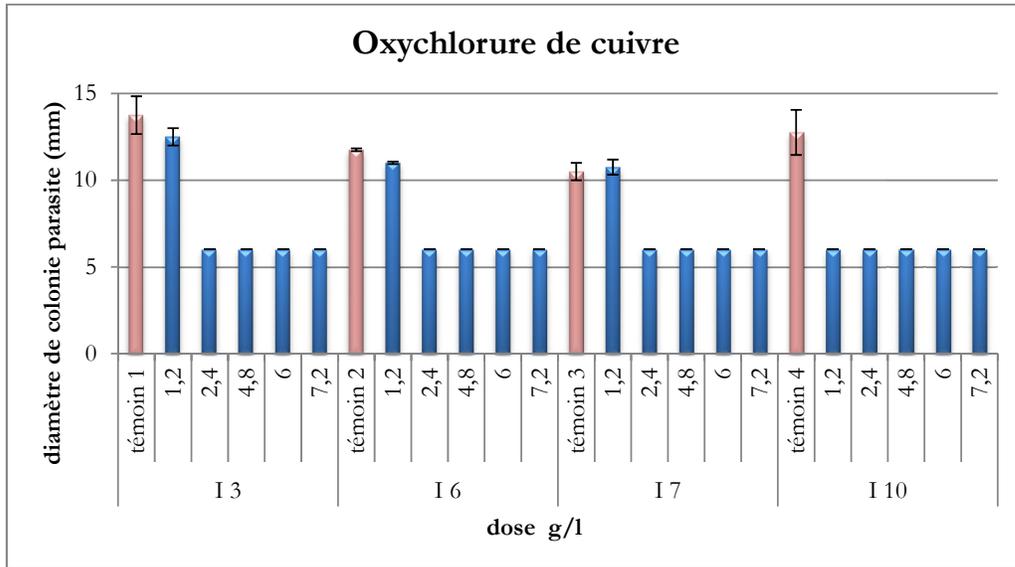


Figure 30: Diamètre moyen des colonies bactériennes confrontées à l’oxychlorure de cuivre.

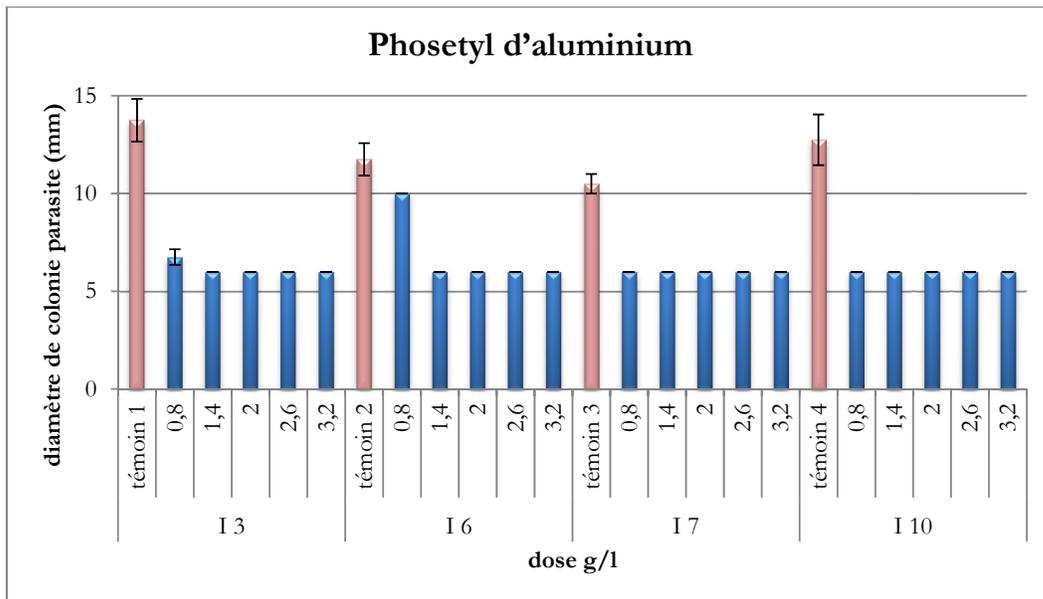


Figure 31: Diamètre moyen des colonies bactériennes confrontées au phosetyl d'aluminium.

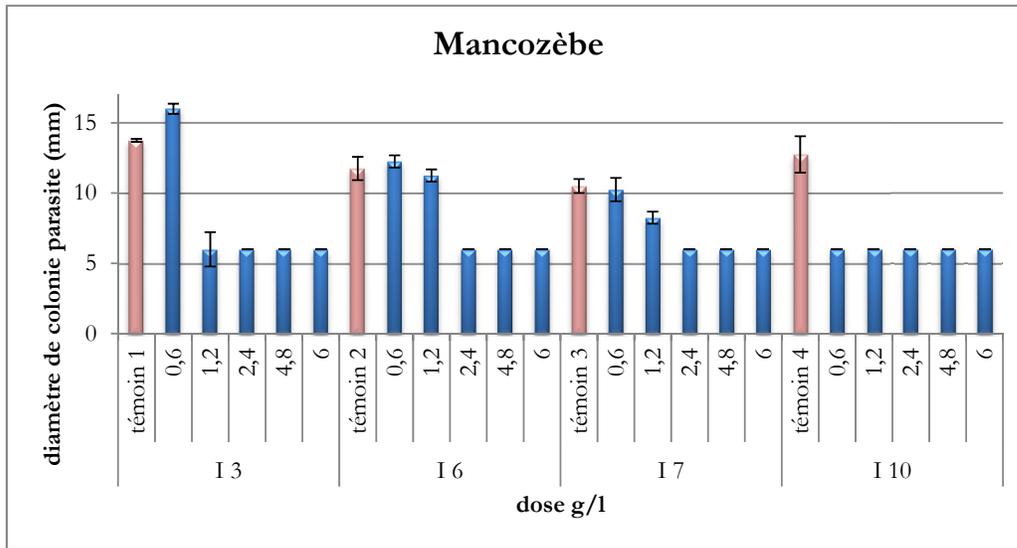


Figure 32: Diamètre moyen des colonies bactériennes confrontées au mancozèbe.

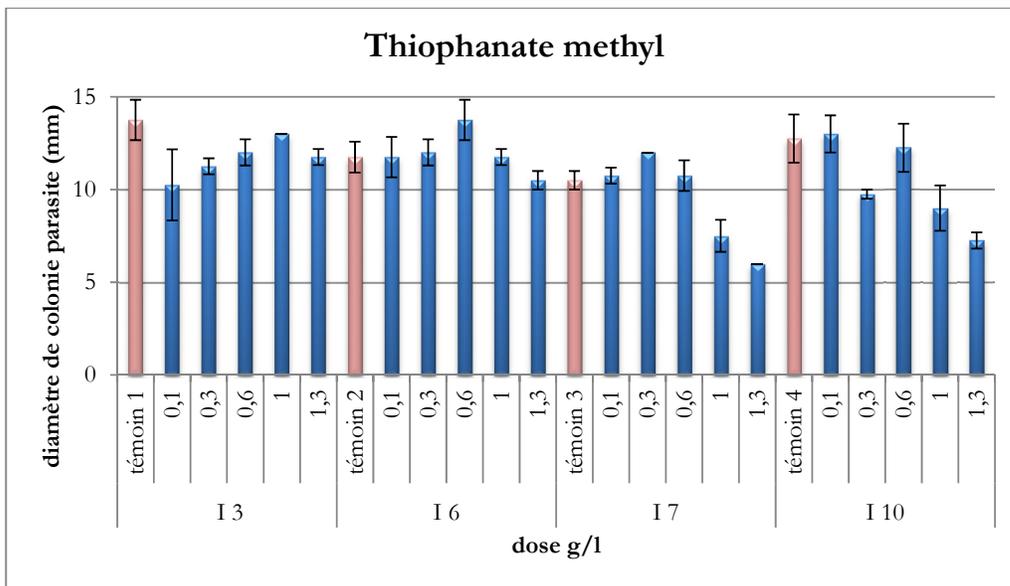
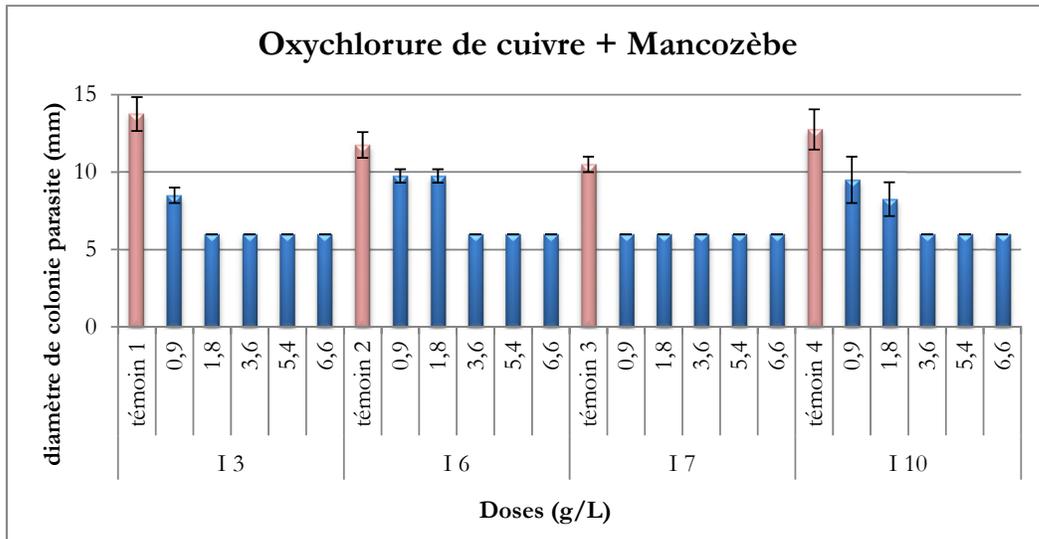
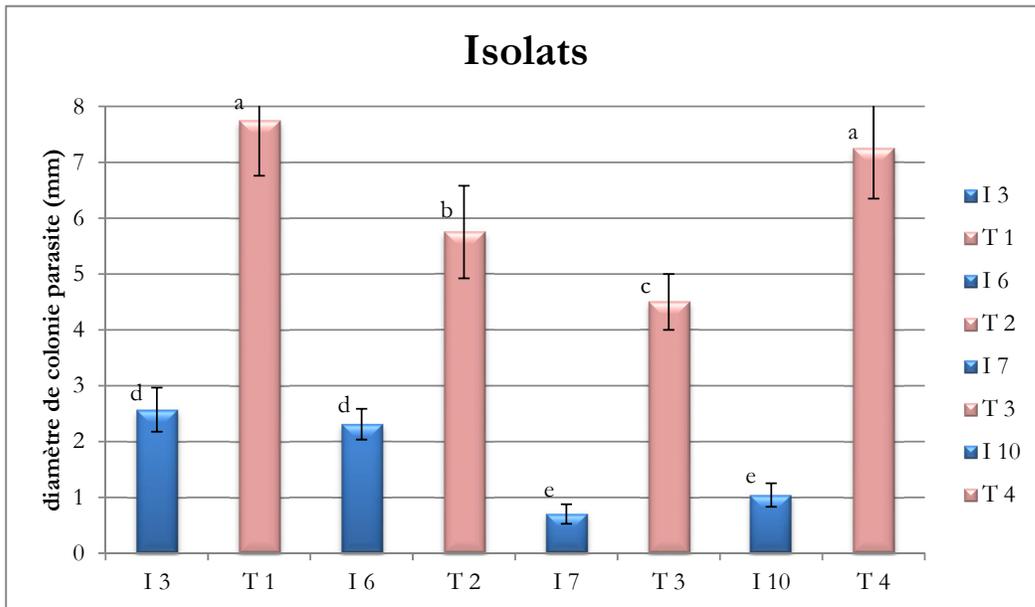


Figure 33: Diamètre moyen des colonies bactériennes confrontées au thiophanate methyl.



**Figure 34:** Diamètre moyen des colonies bactériennes confrontées au mélange de l’oxychlorure de cuivre + le mancozèbe.



**Figure 35:** Comparaison de la sensibilité des isolats à l’égard des 5 fongicides.

## Analyse de variance

**Tableau 11 :** Tableau d'analyse de variance

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.	OBSERV.
Var. Totale	87,548	799	0,11					
Var. Facteur 1	52,488	7	7,498	169,386	0			HS
Var. Résiduelle 1	35,06	792	0,044			0,21	52,81%	

### Test de Newman et Keuls au seuil 5%.

Facteur : isolats=I<sub>3</sub>, I<sub>6</sub>, I<sub>7</sub>, I<sub>10</sub>

F	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES				
2.0	T1	7,75	A				
8.0	T4	7,25	A				
4.0	T2	5,75		B			
6.0	T3	4,5			C		
1.0	I <sub>3</sub>	2,75				D	
3.0	I <sub>6</sub>	2,31				D	
7.0	I <sub>7</sub>	1,04					E
5.0	I <sub>10</sub>	0,7					E

## II.2.2. Interprétation des résultats

L'observation visuelle des boîtes de Pétri expérimentées nous a montré que les fongicides testés ont induit une action efficace sur le développement de la bactérie (annexe 03).

Concernant l'oxychlorure de cuivre, ce dernier s'est montré efficace pour des doses supérieures à 1,2 g/L. A partir de cette dose le diamètre de la colonie reste stationnaire, quelque soit la dose testée le diamètre est égal à celui de l'explant initial (6 mm) (Figure 31).

Pour le Phosetyl d'aluminium, en dehors de la dose 1 (0,8 g/L) où le diamètre de la colonie est légèrement inférieur au témoin dans le cas de I<sub>6</sub>, toutes les doses ont induit une efficacité totale sur la croissance des colonies des isolats car aucune évolution du diamètre des colonies n'a été constaté (Figure 32).

Dans le cas de l'oxychlorure de cuivre et du mancozèbe, les produits ont montré une grande efficacité vis-à-vis de l'isolat 4 dont les colonies sont restées stationnaires avec un diamètre égal à l'explant initial. Cet isolat montre une grande sensibilité à l'égard de ces fongicides (Figure 35).

Vis-à-vis de l'oxychlorure de cuivre, la dose 1 (1,2 g/L) ne donne aucune efficacité sur les isolats I<sub>3</sub>, I<sub>6</sub> et I<sub>7</sub>, le diamètre de la colonie confrontée au produit est égal au diamètre de la colonie témoin. Le même résultat est obtenu dans le cas du mancozèbe. A la différence que pour ce dernier, la dose 2 (1,2 g/L) aussi n'est pas efficace (Figure 33).

Le mélange de l'oxychlorure de cuivre avec le mancozèbe stoppe complètement les colonies de I<sub>7</sub> et cela quelque soit la dose testée (Figure 35).

Concernant Thiophanate methyl, ce dernier n'a pas eu d'efficacité sur la bactérie en dehors de la dose 5 (1,3g/L) qui a inhibé complètement le développement de la colonie de I<sub>7</sub> (Figure 34).

Vis-à-vis de tous les produits chimiques, le test d'analyse de variance montre une différence hautement significative entre les isolats (Figure 36, Tableau 13).

Le classement des isolats par ordre croissant de sensibilité est le suivant :

I<sub>3</sub> et I<sub>6</sub> > I<sub>7</sub> et I<sub>10</sub>.

### II.2.3. Discussion

Dans le cas des fongicides les résultats de l'expérience montrent que le thiophanate methyl ne possède aucune toxicité à l'égard des 4 isolats de PS testés. La dose 1,3 g/l inhibe par contre le développement de l'isolat I<sub>7</sub>.

Le phosethyl d'aluminium et l'oxychlorure de cuivre se sont avérés efficaces. En effet, les doses respectivement supérieures à 0,8 g/l et 1,2 g/l inhibent le développement de tous les isolats. Il serait donc intéressant de tester ces produits en plein champs, en tenant compte des résultats obtenus en laboratoire.

Bultreys et al., (2018) ont aussi noté une forte inhibition de la bactérie *in vitro* avec le phosétyl d'aluminium, selon ces auteurs cela suggère un effet super toxique sur *Pseudomonas syringae*. Les travaux de Matteo et al., (2015) montrent que l'oxychlorure de cuivre permet de réduire de manière significative les symptômes foliaires.

L'effet de l'oxychlorure de cuivre et du mancozèbe est identique, les mêmes doses ont donné les mêmes valeurs d'inhibition. Le mélange des deux produits a été également efficace *in vitro*. Karen et al., (1983) ont noté *in vitro* une toxicité aigüe du mancozèbe et des produits cupriques sur la croissance de *P. syringae* pv. *tomato*. Ces produits pourront donner un contrôle suffisant de la maladie, des tests cependant devront être réalisés au champ. Ils pourront être inclus dans un programme de traitement des tomates dès transplantation. Dans notre étude, le mélange de cuivre et de Mancozèbe a fortement inhibé la croissance de l'agent pathogène, ce mélange doit donc être intégré dans ces programmes.

Nos résultats montrent que le thiophanate methyl ne possède aucun effet toxique sur la bactérie. En effet, aucune étude ne décrit la toxicité de ce produit à l'égard de *Pseudomonas syringae*. Le thiophanate methyl est un fongicide curatif et systémique qui fournit un excellent effet protecteur contre un large éventail d'agents pathogènes fongiques.

La moucheture bactérienne est très difficile à éradiquer. Son contrôle dépendra des mesures mises en place pour limiter son développement. Des expériences ont montré que si l'on parvient à repousser le déclenchement d'une maladie bactérienne après la nouaison, la culture sera très peu affectée. Une fois que les parties aériennes sont entièrement développées, une faible incidence d'une maladie bactérienne sur le feuillage est tolérée. Les lésions touchant les fruits ne peuvent apparaître que sur de jeunes fruits, les mesures de lutte déployées avant la fructification sont très utiles.

Conclusion

## Conclusion et perspectives

L'identification pour la première fois de *Pseudomonas syringae* fait peser des menaces sur l'avenir de la culture de la tomate à Mostaganem. Cette espèce isolée de tomate et la nature des symptômes sur champs laisse supposer qu'il s'agit du pathovar tomato. Le pathovar de l'espèce (entité montrant une spécificité parasitaire vis-à-vis d'une espèce-hôte particulière est l'équivalent de la formae speciales chez les champignons. La moucheture bactérienne n'a jamais été signalée jusqu'à aujourd'hui en Algérie.

Des analyses moléculaires utilisant des amorces spécifiques doivent être réalisées dans un futur proche en vue de confirmer la nature du pathovar.

En tomate de plein champ, la variété Suzana s'est montrée très sensible et en tomate sous serre, la variété Kawa. Des variétés résistantes doivent être recherchées pour éviter les dégâts et donc les baisses de rendement de la tomate.

Des mesures urgentes doivent être prises en vue de limiter l'impact de cette maladie. Les méthodes de lutte prophylactiques contre l'agent pathogène doivent être vulgarisées auprès des agriculteurs.

Par ailleurs, des résultats encourageants sont obtenus *in vitro* avec le phosetyl d'aluminium et l'oxychlorure de cuivre. Le premier produit est connu pour la stimulation des mécanismes de défense chez les plantes, il se pourrait que son effet soit encore meilleur sur champ. La lutte biologique utilisant des microorganismes antagonistes peut être un autre axe de recherche étant donné qu'il n'existe pas de travaux à ce sujet réalisés en Algérie.

Ce travail mériterait d'être poursuivi afin d'identifier le pathovar et les races du pathogène existantes sur terrain. Tout comme il serait intéressant d'entamer une étude plus approfondie sur la caractérisation de la diversité génétique des populations de la bactérie avec des marqueurs moléculaires tels que les microsatellites, RLFP...etc.

## Les annexes

---

### Annexe 01 : Réactif de Griess

Le réactif de Griess est un réactif utilisé pour déterminer les micro-organismes possédant une enzyme nitrate réductase. Il réagit avec l'ion nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) pour former un colorant rouge.

Le réactif de Griess est composé de deux réactifs 1 et 2. L'ion nitrite forme avec l'acide sulfanilique (réactif 1) un sel de diazonium. Ce sel est révélé par une coloration rouge par adjonction d' $\alpha$ -naphtylamine (réactif 2).



## Les annexes

---

### Annexe 02 : bouillon nutritif

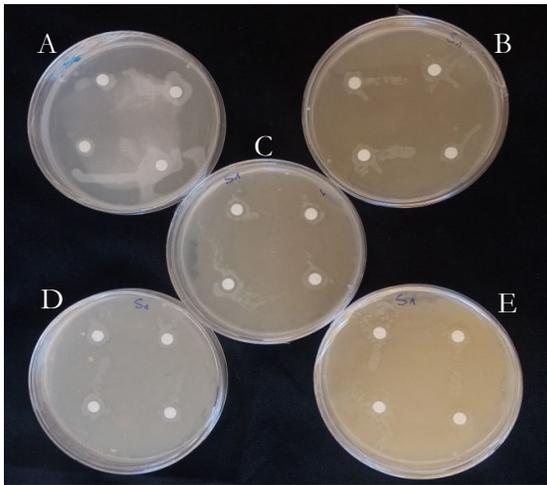
Les compositions du bouillon nutritif sont mentionnées au tableau suivant :

<b>Ingrédients</b>	<b>Quantité</b>
Extrait de viande	1 g /L
Extrait de levure	2.5 g /L
Peptone	5 g /L
NaCl	5 g /L
Eau distillée	1 litre

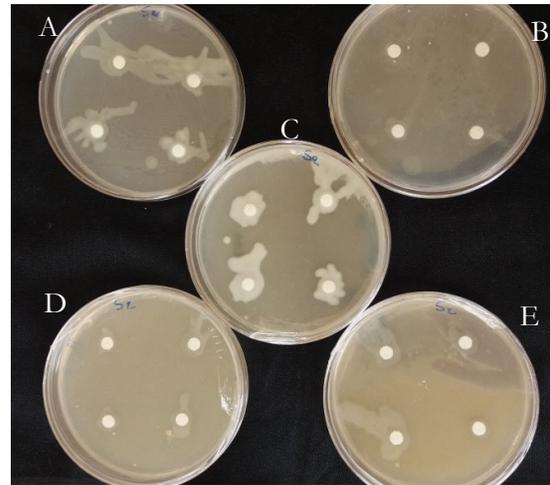
## Les annexes

---

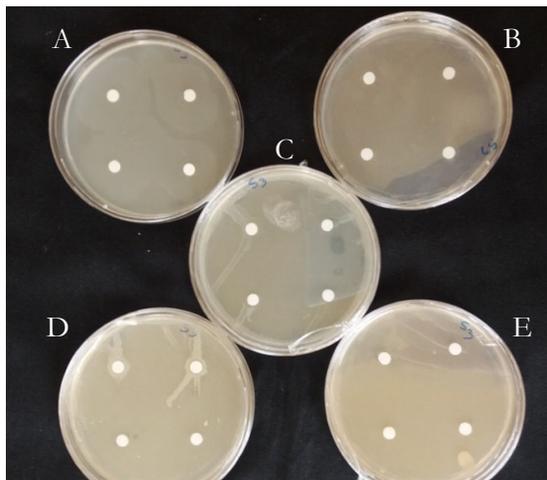
### Annexe 03 :



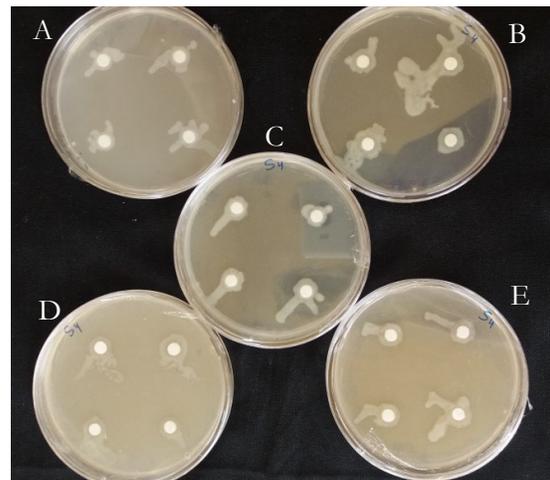
Isolat : I<sub>3</sub>



Isolat : I<sub>6</sub>



Isolat : I<sub>7</sub>



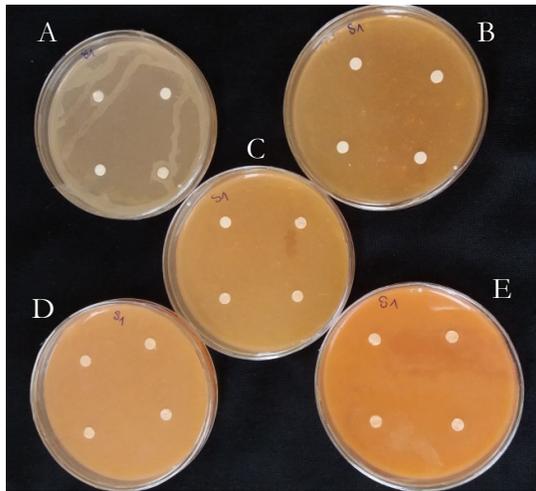
Isolat : I<sub>10</sub>

Comportement des isolats de *Pseudomonas syringae* vis-à-vis Thiophanate methyl

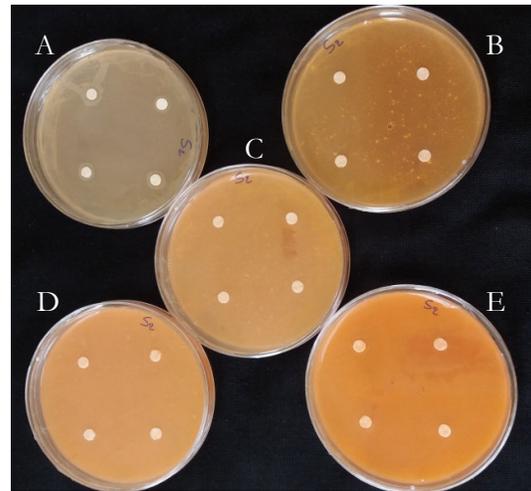
A : dose 1 (0.1 g/L) ; B : dose 2 (0.3 g/L) ; C : dose 3 (0.6 g/L) ; D : dose 4 (1 g/L) ; E : dose 5 (1.3 g/L)

## Les annexes

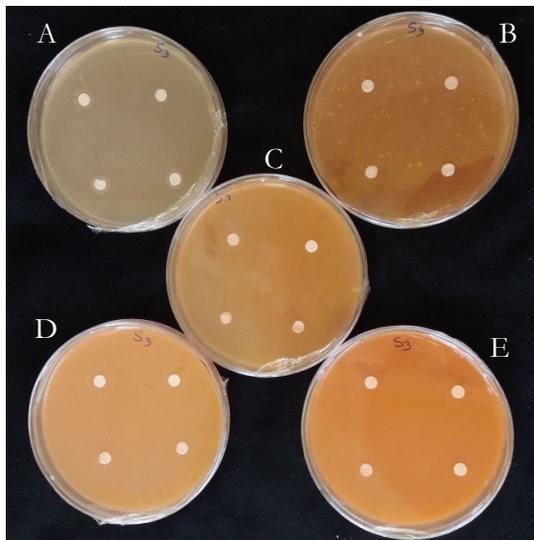
---



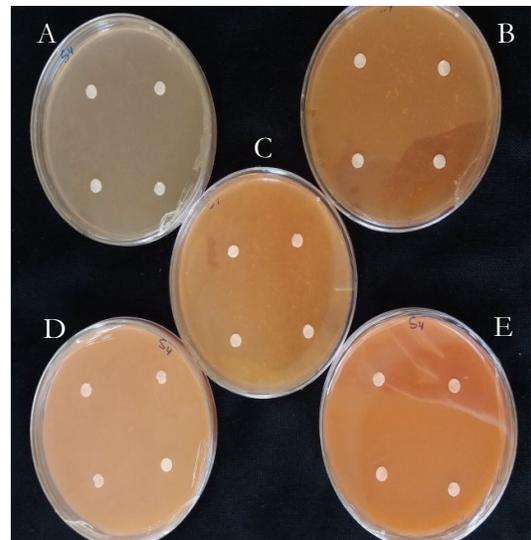
Isolat : I<sub>3</sub>



Isolat : I<sub>6</sub>



Isolat : I<sub>7</sub>



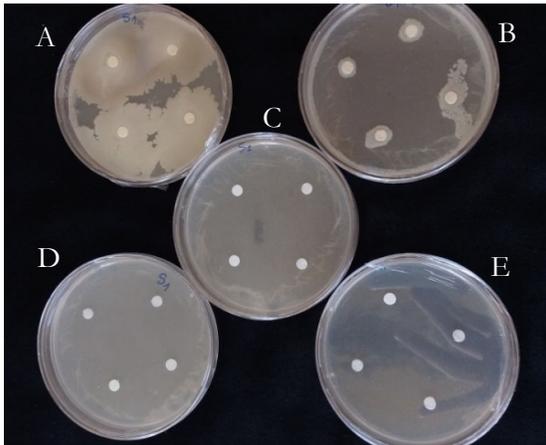
Isolat : I<sub>10</sub>

Comportement des isolats de *Pseudomonas syringae* vis-à-vis Mancozèbe

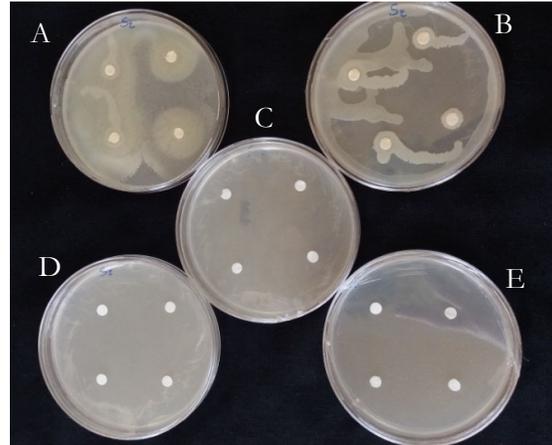
A : dose 1 (0.6 g/L) ; B : dose 2 (1.2 g/L) ; C : dose 3 (2.4 g/L) ; D : dose 4 (4.8 g/L) ; E : dose 5 (6 g/L)

## Les annexes

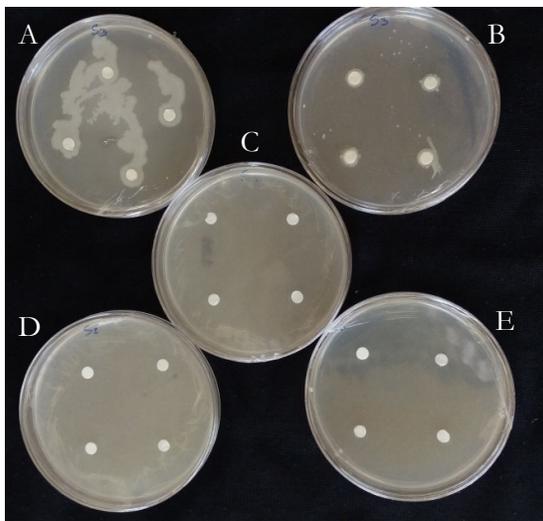
---



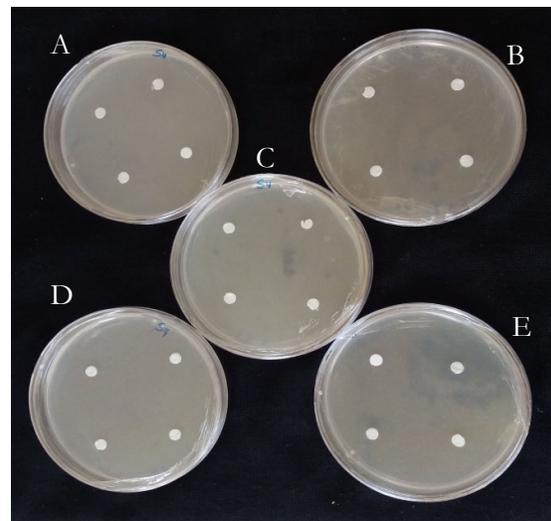
Isolat : I<sub>3</sub>



Isolat : I<sub>6</sub>



Isolat : I<sub>7</sub>



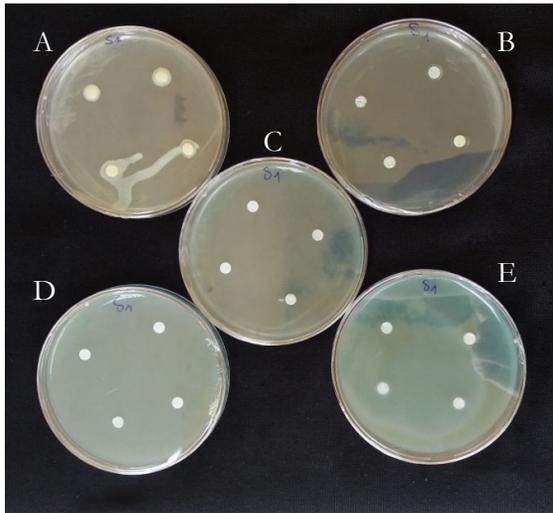
Isolat : I<sub>10</sub>

Comportement des isolats vis-à-vis l'Oxychlorure de cuivre.

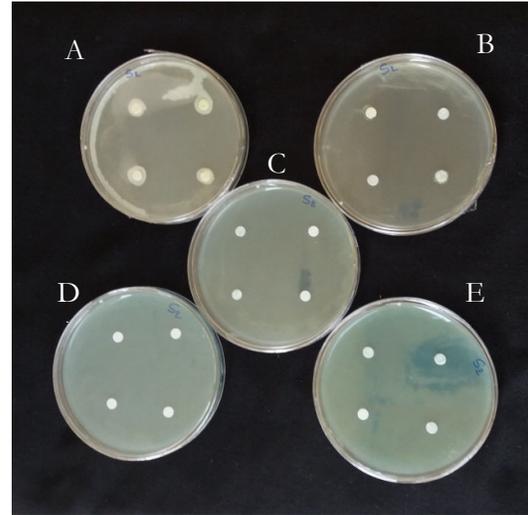
A : dose 1 (1.2 g/L) ; B : dose 2 (2.4 g/L) ; C : dose 3 (4.8 g/L) ; D : dose 4 (6 g/L) ; E : dose 5 (7.2 g/L)

## Les annexes

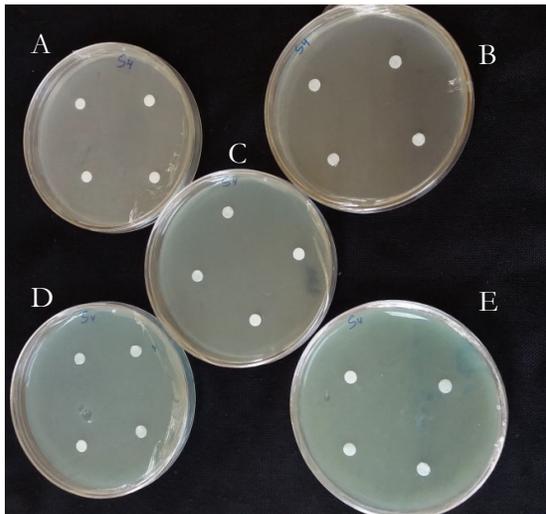
---



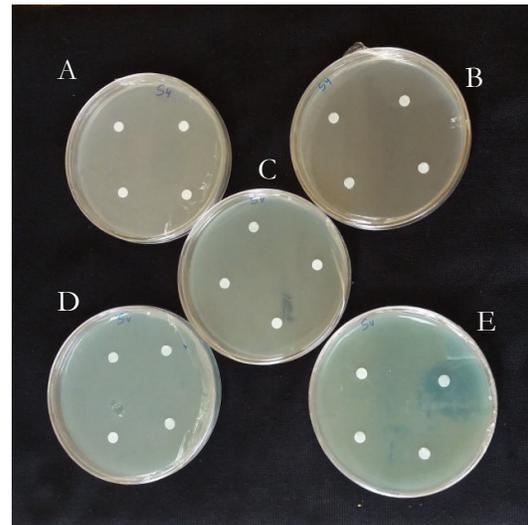
Isolat : I<sub>3</sub>



Isolat : I<sub>6</sub>



Isolat : I<sub>7</sub>



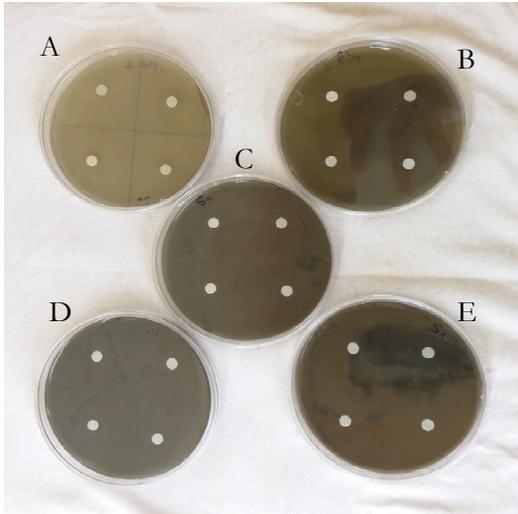
Isolat : I<sub>10</sub>

Comportement des isolats vis-à-vis Phosetyl d'aluminium.

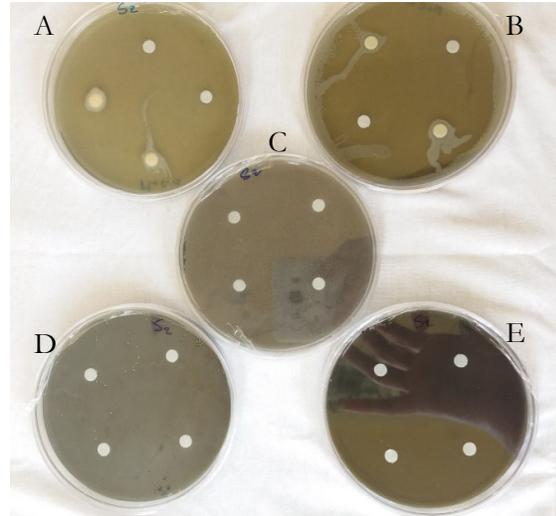
A : dose 1 (0.8 g/L) ; B : dose 2 (1.4 g/L) ; C : dose 3 (2 g/L) ; D : dose 4 (2.4 g/L) ; E : dose 5 (4.8 g/L)

## Les annexes

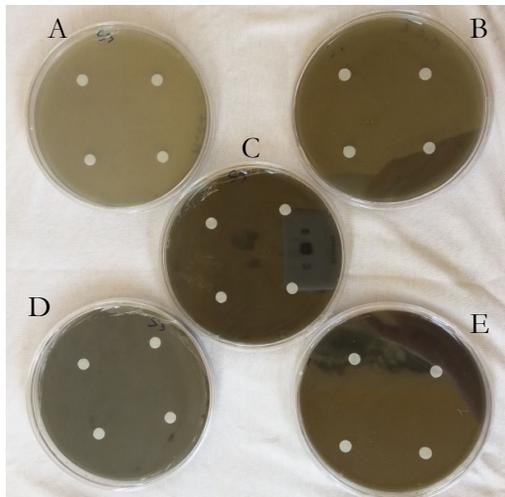
---



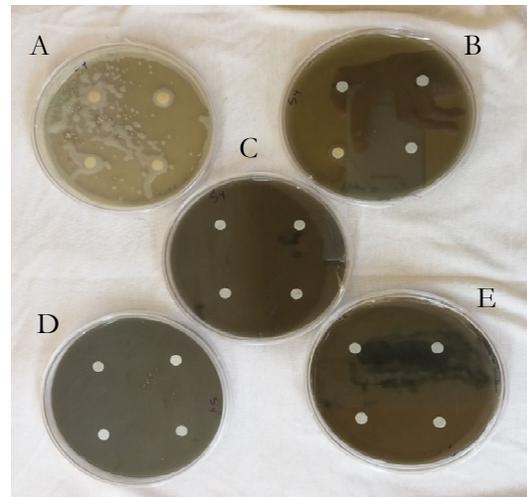
Isolat : I<sub>3</sub>



Isolat : I<sub>6</sub>



Isolat : I<sub>7</sub>



Isolat : I<sub>10</sub>

Comportement des isolats vis-à-vis le mélange du Mancozèbe + Oxylchlorure de cuivre.

A : dose 1 (0.9 g/L) ; B : dose 2 (1.8 g/L) ; C : dose 3 (3.6 g/L) ; D : dose 4 (5.4 g/L) ; E : dose 5 (6.6 g/L)

## Référence bibliographique

---

### Référence bibliographique

- Agrios, G N. 2005. Plant pathology Ed.5thEd. Elsevier, London. 922 :455
- Anzai, Y., Kim, H., Park, J-Y., Wakabayashi, H. and Oyaizu, H., 2000. Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 1563–1589
- Baptista F J., Bailey B J.et Meneses JF. (2012). Effect of nocturnal ventilation on the occurrence of Botrytis cinerea in Mediterranean unheated tomato greenhouses.Crop Protection. 32 : 144-149
- Baptista F. J., Bailey B. J., et Meneses J. F. (2012). Effect of nocturnal ventilation on the occurrence of Botrytis cinerea in Mediterranean unheated tomato greenhouses. Crop Protection, 32 : 144-149.
- Bashan Y., Okon Y. et Henis Y. (1986). Log- term survival of Pseudomonas syringae pv. tomato and Xanthomonas campestris pv. vesicatoria in tomato and pepper seeds. Phytopathology. 72:1143-1144.
- bacteria » del pomodoro in Emilia. Inf. Tore. Agrario. 7: 4657-4658.
- Bazzi C., Fantini Pucci M. G. et Martini M. (1979). Gravittachi di « macciettatura
- Benton J. (2008). Tomato plant culture: In the field, Greenhouse, and home garden, deusièmeédition. Edition: Taylor et Francis Group. New York. 399p.
- Bernard C. (2009). Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de cultures sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Université-Nancy, Nancy, 261p.
- Billault, A., Brottier, P., Camus, J.C., Cattolico, L., Chandler, M., Choisine, N.,
- Blancard D. (2009).Les maladies de la tomate, identifier, connaitre, maitriser. Edition : Quæ. Paris. 691p.
- Blancard D., Laterrot H., Marchoux G. et Candresse T. (2009). Les maladies de la tomate. ed. INRA.
- Blancard D., Laterrot H., Marchoux G. et Candresse T. (2009). Les maladies de la tomate. ed. INRA.
- Bonn W. G., Gitaitis R. D., et Niell B. H. Mc. (1985). Epiphytic survival of Pseudomonas syringae pv. tomato on tomato transplant shipped from Georgia . Plant disease. 69 :58-60.
- Bordjiba, A., and Prunier, J.P. (1991). Establishment of an epiphytic phase by three species of Pseudomonas on apricot trees. Acta Horticulturae 293, 487-494

## Référence bibliographique

---

- Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. and Gardan, L., 2000. The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie* .20:51-63
- Boulanger A. (2009). Analyse d'un nouveau système CUT impliqué dans l'acquisition et l'utilisation du N-acétylglucosamine par *Xanthomonas campestris pathovar campestris*. Thèse Doctorat.Université de toulouse. pp 54.
- Boutoumou H, Boumaza M, 2016. Etude de l'activité de *trichoderma* sp. Contre l'alternariose de la tomate. Mémoire master. Université des Frères Mentouri Constantine.
- Buell, C.R., Joardar, V., Lindeberg, M., Selengut, J., Paulsen, I.T., Gwinn, M.L., Dodson, R.J., Deboy, R.T., Durkin, A.S., Kolonay, J.F., Madupu, R., Daugherty, S., Brinkac, L., Beanan, M.J., Haft, D.H., Nelson, W.C., Davidsen, T., Zafar, N., Zhou, L., Liu, J., Yuan, Q., Khouri, H., Fedorova, N., Tran, B., Russell, D., Berry, K., Utterback, T., Van Aken, S.E., Feldblyum, T.V., D'Ascenzo, M., Deng, W.L., Ramos, A.R., Alfano, J.R., Cartinhour, S., Chatterjee, A.K., Delaney, T.P., Lazarowitz, S.G., Martin, G.B., Schneider, D.J., Tang, X., Bender, C.L., White, O., Fraser, C.M., and Collmer, A. "The complete genome sequence of the Arabidopsis and tomato pathogen *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2003)
- Castagnone-Sereno P. et Djian-Caporalino C. (2011). Lutte contre les nématodes à galles en cultures maraîchères : des recherches pour promouvoir la durabilité des résistances variétales. *Innovations Agronomiques*, 15 : 55-64.
- Cazelles O. (1992). La prévention des bactérioses de la tomate. *Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 24 (1) : 13-15
- Chaux C. et Fourry C. 1994 : production légumières, tome3 : légumineuse potagère, légumes fruits. Ed. Tec & Doc –lavoisier, paris, 563p.
- CIP, Principales maladies : Insectes et Nématodes des solanacées. Centre International de la Pomme de terre. Ed. Apartado. Lima-Pérou. 2004. 75-124p.
- Claudel-Renard, C., Cunnac, S., Demange, N., Gaspin, C., Lavie, M., Moisan, A., Robert, C., Saurin, W., Schiex, T., Siguier, P., Thebault, P., Whalen, M., Wincker, P., Levy, M., Weissenbach, J., and Boucher, C.A. (2002). Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Nature*. 415:497-502.
- Crosse (1956). Bacterial canker of stone fruits. II. Leaf scar infection of cherry. *The journal of horticultural science and biotechnology* 31, 212–224.

## Référence bibliographique

---

- Davies JN. et Hobson GE. (1981). The constituent of tomato fruit-the influence of environment, nutrition, and genotype. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15: 205-280
- Desmas S., 2005 : Analyse comparative de compétitivité, le cas de la filière tomate dans le contexte euro-méditerranéen. thèse D.A.A., institut agronomique méditerranéen de montpellier, 68p.
- Desneux N., Wajnberg E., Wyckhuys K.A.G., Cabello C.P.T., Urbanej A.A. (2010) : Biological invasion of european tomato crops by *tuta absoluta* : ecology , geographic expansion and prospects for biological control. I N R A (French national institute for agricultural research) , *J Pest Sci* (2010) 83: pp 197-215.
- Dhanvantari, B.N. 1989. Effect of seed extraction methods and seed treatments in control of tomato bacterial canker. *Cano J. Plant Pathol.* II :400- 408.
- DSA : direction des services agricoles de la wilaya de Mostaganem. service de statistique.
- Dye D.W., Bradbury J.F., Goto M., Hayward A. C., Lelliott R. A. et Schorth M. N. (1980a). International standards for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names and pathotype strains. *Rev. Plant disease.* 66 :993-994.
- Gaignard, J.L., and Luisetti, J. (1993). *Pseudomonas syringae*, bactérie épiphyte, glaçogène et pathogène. *Agronomie* 13, 333–370.
- Gaignard, J.L., and Luisetti, J. (1993). *Pseudomonas syringae*, bactérie épiphyte, glaçogène et pathogène. *Agronomie* 13, 333–370.
- Gail M. 2000. Blackwell Science, Ltd Pathogen Profile *Pseudomonas syringae* pv. tomato : the right pathogen, of the right plant, at the right time. Department of Plant Sciences, University of Oxford, South Parks Road, Oxford, OX1 3RB, UK
- Gallais A. et Bannerot H., 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées : objectifs et critères de sélection, INRA édition, p. 382.
- Gilli C. (2007). Le chancre bactérien de la tomate. *Viticulture Arboriculture Horticulture*, 39 (2): 141 - 142.
- GRASSELLEY D., NAVEZ B. Et LETARD M. ,2000- tomate : pour un produit de qualité. Ed. Ctifl. , paris, 222p.
- Gravel, V., Antoun, H. and Tweddell, R.J., 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of Indole Acetic Acid (IAA). *Soil Biol. Biochem.* 39: 1968-1977.

## Référence bibliographique

---

- Guiraud J. P. (1998). Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. Paris.
- Guttman, D.S., Gropp S.J., Morgan R.L. et Wang, P.W. (2006) Diversifying selection drives the evolution of the type III secretion system pilus of *Pseudomonas syringae*. *Mol. Biol. Evol.* 23: 2342-2354.
- Hirano, S.S., and Upper, C.D. (1990). Population biology and epidemiology of *Pseudomonas syringae*. *Annual Review of Phytopathology* 28, 55–77.
- Hirano, S.S., and Upper, C.D. (2000). Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae* - a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64, 624–653.
- Janice LeBœuf - MAAARO; Diane Cuppels - Agriculture et Agroalimentaire Canada; Jim Dick - Tomato Solutions; Ron Pitblado - Collège de Ridgetown; Steve Løwen - Collège de Ridgetown; Michael Celetti – MAAARO, 2009. Maladies bactériennes de la tomate : Tache bactérienne, moucheture bactérienne, chancre bactérien, pp. 257/625
- Jean- Noel J. et Guy L. (2001). Microbiologie technique. Tome 1. Dictionnaire des techniques CNDP. France.
- JuniurVL.,Maffia LA., Romeiro RD.et Mizubutti ESG.(2006).Biocontrol of tomato late blight with the combination of epiphytic antagonists and rhizobacteria. *Biological control*.38 :331-340
- Karen c. online former graduate assistant and S.M , professeur departement of plant pathology université of georgia athens 30602. 1983
- Kersters, K., Ludwig, W., Vancanneyt, M., De Vos, P., Gillis, M., and Schleifer, K.H. (1996). Recent changes in the classification of the Pseudomonads: an overview. *Systematic and Applied Microbiology* 19, 465–477.
- KOPPERT (2016) in ELOUISSI M. "Tuta absoluta." Koppert Biological Systems. Consulté le 21 Mai 2016, depuis <http://www.koppert.fr/ravageurs/chenillespapillonslepidopteres/tuta-absoluta>.
- Kumar V., Haldar S., Pandey K. K., Singh R.P., Singh A. K., et Singh P.C. (2008). Cultural, morphological, pathogenic and molecular variability amongst tomato isolates of *Alternaria solani* in India. *World Journal Microbiol Biotechnology*, 24 : 1003-1009.
- Latigui A., 1984. Effet des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivé en hiver sous serre non rechauffée. INA el harrach.
- Laumonier R., 1979 : cultures légumineuse et maraichère. Ed Baillere er fil, paris, Tom II : 276p.

## Référence bibliographique

---

- M.L. Lewis & S.A. Miller, 2013. Tomato Disease Fact Sheets. Department of Plant Pathology. The Ohio State University.
- Mensi et *al.*, 2018. First report of tomato bacterial speck caused by *Pseudomonas syringae* pv. tomato in Tunisia. 1 Department of Plant Protection, Higher Agronomic Institute, Chott-Mariem, IRESA-University of Sousse, Tunisia; 2 UR13AGR09-Integrated Horticultural Production in the Tunisian Centre-East, Regional Research Centre on Horticulture and Organic Agriculture, University of Sousse, Chott-Mariem, Tunisia; 3 IRHS, INRA, AGROCAMPUS-Ouest, Université d'Angers, SFR4207 QUASAV, 42, Rue Georges Morel, 49071, Beaucauzé, France.
- Mohamed H A A. et Haggag WH.(2003).Biocontrolpotentiel of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against wild of tomato .colloque international tomate sous abris .Avignon, 17,18et 19 septembre 2003.
- Munron B. Small E.,1997. Les légumes du canada.Ed.Val.Morin,Québec, Canada.436p.
- Naïka A., 2005. Production de la tomate, production, transformation et commercialisation Ed fonction agromisa et CTA.105p.
- Nyabyenda P. (2007). Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique : Culture industrielles et d'exportation, culture fruitières, culture maraichères. Edition : Presses Agronomique de Gembloux. Wageningen. Pays-Bas . 241p.
- Palleroni, N.J. and Moore, E.R.B., 2004. Taxonomy of pseudomonads: experimental approaches. In "Pseudomonas", vol. 1. Ramos, J. L. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, Etats-Unis, pp. 3-44.
- Palleroni, N.J., 2005. Genus I. *Pseudomonas*. In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Part B: The Proteobacteria*. Springer, New York, pp. 323–379
- Palleroni, N.J., 2008. The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In: Cornelis, P.(Ed.), *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology*. Caister Academic Press, Belgium, pp. 1–18.
- Peix, A., Ramirez-Bahena, M.H., and Velazquez, E. (2009). Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. *Infection, Genetics and Evolution* 9, 1132–1147.
- Peron J.Y., 2006. Référence production légumière, Ed lavoisier, 2<sup>ème</sup> édition, 613p.
- Polese J.M., 2007 la culture de tomate. Ed Artémis. 94p.

## Référence bibliographique

---

- RAEMAEEKERS R. (2001). Agriculture en Afrique tropical. Direction générale de la coopération internationale. Quae, France. 679 p.
- Raykmans D., 2008 : l'anthracnose, le point sur la question, fiche technique- maladies et ravageurs de la tomate. N° 28, 6 p.
- REY et COSTES, 2005 Physiologie de la tomate. Edition I.N.R.A. Versailles PARIS 2005.
- Richard C. & Boivin G. (1994). Moucheture bactérienne de la tomate. Dans *Maladies et Ravageurs des Cultures Légumières au Canada*. La Société Canadienne de Phytopathologie et la Société d'Entomologie du Canada, Canada. p. 299.
- Ruocco M. Giorgini M., Alomar O., Blum B., Kohl J., et Nicot P. (2011). Lutte Biologique : Numéro 2: Tomate.CNR Italie. 10p.
- Salanoubat M., Genin, S., Artiguenave, F., Gouzy, J., Mangenot, S., Arlat, M.,
- Shankara N. , Josep Van Lido de J., Marja G., Martin H., Barbara Van Dama., 2005 : la culture de tomate production, transformation et commercialisation, Ed Prota, p.105.
- Sherf, A.F. et MacNab A.A. (1986). Vegetable Diseases and Their Control. Wiley, New York. Singleton P. (2005). Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6th ed. DUNOD. Paris.
- Smitley D. R. et Carter S. M. Mc. (1982). Spread of *Pseudomonas syringae* pv. tomato and the role of epiphytic populations and environmental conditions in disease development. *Plant disease*. 66:713-717.
- Snoussi S.(2010).Rapport de mission étude de base sur la tomate. Edition : GTFS/REM/070/ITA. Algérie.52p
- Stead\*, N. Parkinson, J. Bew, J. Hennessy, J. K. Wilson and J. G. Elphinstone, 2010. The first record of *Dickeya zeae* in the UKD. E.
- Sudhamoy M., Nirupama M.et Adinpunya M. (2009).Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*.47 :642649.
- Svetlana et *al.*, 2009. Races and hosts of *Pseudomonas syringae* pv. tomato in seRbia.
- Tamietti G. et Cugudda L. (1987). Note sur les épidémies causées en Italie par deux bactéries phytopathogènes dans les cultures de tomates sous abri. *Bulletin OEPP/EPPO*. 27: 295-297.
- Toussaint A., et Baudoin J.P., 2010 : la biodiversité chez la tomate, stratégie de conservation et valorisation de la collection « Luc Fichot », gembloux agro tech. 105p.

## Référence bibliographique

---

- Trottin-Caudal Y. (2011). Maitrise de la protection intégrée Tomate sous serre et abris. Edition : Ctifl. Paris. 282
- VanHall, C.J.J. (1902). Beschrijving van *Pseudomonas Syringae* nov. spec. In Bijdragen Tot de Kennis Der Bakteriele Plantenziekten, 191–198.
- Williams, L. & Roane, T.M. 2007. National ecology of parasitic wasp : food source affects gustatory response, metabolic utilization and survivorship. *Journal of insect physiology* doi : 10.1016/j.jinsphys.2007.
- Young, J.M. (2010). Taxonomy of *Pseudomonas syringae*. *Journal of Plant Pathology* 92, S1.5–S1.14.
- Yunis, H., Bashan, Y. and Okon, Y. 1980. Weather dependence, yield losses and control of bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas tomato*. *Plant Dis.* 64:937–939.
- Zaccardelli, M., Parisi, M. and Giordano, I. 2002. Susceptibility of tomato genotypes to *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in the field conditions. *J. Plant Pathol.* 84:200.
- Zella L. et Smadhi D. (2009). Micro-irrigation de la tomate sous serre. *Courrier du Savoir* N°09, Université Mohamed Khider – Biskra, Algérie, pp.119-126.
- Zidani S. (2009). Valorisation des pelures de la tomate séchée en vue de leur incorporation dans la margarine. Mémoire de Magister. Université M'hamedBougaraBoumerdes, Faculté des sciences de l'ingénieur.114p.